

Aptima® HIV-1 Quant Dx Assay

Gebruiksaanwijzing
Voor *in-vitro*diagnostiek
Uitsluitend voor export vanuit de VS

Algemene informatie	3
Beoogd gebruik	3
Samenvatting en uitleg van de test	3
Uitgangspunten van de procedure	4
Samenvatting van veiligheid en prestaties	5
Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen	5
Eisen voor opslag en verwerking van reagentia	9
Monsterafname en -opslag	10
Monsters in het Panther System	13
Vervoer van specimens	13
Panther System	14
Geleverde reagentia en materialen	14
Benodigde maar apart geleverde materialen	16
Optionele materialen	17
Testprocedure voor het Panther System	17
Procedurele opmerkingen	22
Kwaliteitscontrole	23
Assaykalibratie	23
Negatieve en positieve controles	23
Interne kalibrator/interne controle	23
Interpretatie van resultaten	24
Beperkingen	26
Analytische prestaties	27
Detectielimiet (Limit of Detection, LoD) op basis van de 3e internationale WHO-standaard voor hiv-1	27
Detectielimiet voor hiv-1-subtypen en -groepen	28
Lineair bereik	29
Lineariteit tussen hiv-1-subtypen en groepen	30
Bepaling van de ondergrens voor kwantificering met behulp van de 3 ^e internationale WHO-standaard voor hiv-1	31
Verificatie van LLoQ over subtypen en groepen van hiv-1 heen	32
Nauwkeurigheid	33
Potentieel interfererende endogene en exogene stoffen	34
Prestaties met hiv-1-negatieve specimens	36
Potentieel interfererende microbiële verontreinigingen	36
Herhaalbaarheid van klinische specimens	38
Monsterverdunning met behulp van een specimenverdunningsmiddel	39
Vermenging	39
Seroconversiepanel	40
Serum, plasma-equivalentieonderzoek	41
Reproduceerbaarheidsonderzoeken	41

Klinische prestaties	44
Validatie van kwantificering van de virale belasting	44
Studies naar klinische specificiteit	45
Studies naar klinische gevoeligheid	45
Positiviteit in serodiscordante monsters	46
Bibliografie	47
Contactgegevens en overzicht van wijzigingen	49

Algemene informatie

Beoogd gebruik

De Aptima® HIV-1 Quant Dx-assay is een in-vitro nucleïnezuuramplificatietest voor de detectie en kwantificering van RNA-groepen M, N en O van het humaan immunodeficiëntievirus type 1 (hiv-1) op het volledig geautomatiseerde Panther™ System. De assay is bedoeld voor gebruik als hulpmiddel bij het diagnosticeren van een hiv-1-infectie, ter bevestiging van een hiv-1-infectie en als hulpmiddel bij de klinische behandeling van met hiv-1 geïnfecteerde patiënten.

De Aptima HIV-1 Quant Dx-assay kan gebruikt worden als hulpmiddel bij het diagnosticeren van een acute of primaire hiv-1-infectie. Aanwezigheid van hiv-1-RNA in het plasma of het serum van patiënten zonder hiv-1-antilichamen is een indicatie voor een acute of primaire hiv-1-infectie.

De Aptima HIV-1 Quant Dx-assay kan worden gebruikt als een aanvullende test voor monsters met herhaaldelijk reactieve resultaten met bewezen hiv-immunoassays. Als het monster reactief is in de Aptima HIV-1 Quant Dx-assay, wordt de hiv-1-infectie bevestigd.

De Aptima HIV-1 Quant Dx-assay kan ook worden gebruikt in combinatie met klinische presentatie en andere laboratoriummarkers voor de ziekteprognose bij met hiv-1 geïnfecteerde personen.

De Aptima HIV-1 Quant Dx-assay kan gebruikt worden als hulpmiddel bij het monitoren van het effect van antiretrovirale therapie door middel van het meten van veranderingen in de concentratie van hiv-1-RNA in plasma.

Wanneer de Aptima HIV-1 Quant Dx-assay wordt gebruikt als hulpmiddel bij het diagnosticeren van een hiv-1-infectie, worden de prestaties voor kwalitatieve resultaten vastgesteld met zowel plasma- als serumspecimens.* Wanneer deze assay wordt gebruikt als hulpmiddel bij het monitoren van het effect van antiretrovirale therapie, worden de prestaties voor kwantitatieve resultaten vastgesteld met alleen plasmaspecimens. Serummonsters mogen niet voor kwantitatieve resultaten worden gebruikt.

Deze assay is niet bedoeld voor het screenen van bloed- of plasmadonoren.

**Dried blood spot'-specimens kunnen ook worden gebruikt met de Aptima HIV-1 Quant Dx-assay. Raadpleeg de bijlage betreffende 'Dried Blood Spot' bij de bijsluiter van de Aptima HIV-1 Quant Dx-assay voor informatie en een volledige beschrijving van het beoogde gebruik van 'dried blood spot'-specimens.*

Samenvatting en uitleg van de test

Epidemiologische onderzoeken identificeerden humaan immunodeficiëntievirus type 1 (hiv-1) als de etiologische oorzaak van het verworven immunodeficiëntiesyndroom (aids) (1-7). Hiv kan worden overgedragen via seksueel contact, blootstelling aan geïnfecteerd(e) bloed of bloedproducten, of via overdracht van moeder op kind (8). Binnen 3 tot 6 weken na blootstelling aan hiv ontwikkelen geïnfecteerde personen doorgaans een kort acuut syndroom dat wordt gekenmerkt door griepachtige symptomen die gepaard gaan met hoge niveaus van viremie in het perifere bloed (9-12). Bij de meeste geïnfecteerde personen wordt deze vroege fase gevolgd door een hiv-specifieke immuunrespons en een afname van de plasmaviremie, meestal binnen 4 tot 6 weken na aanvang van de symptomen (13-14). Na seroconversie komen geïnfecteerde personen meestal in een klinisch stabiele, asymptomatische fase die jaren kan duren (15-17).

De asymptomatische periode wordt gekenmerkt door aanhoudende plasmaviremie op een laag niveau (18) en een geleidelijke depletie van CD4+ T-lymfocyten. Deze depletie leidt tot ernstige immunodeficiëntie, meerdere opportunistische infecties, maligniteiten en de dood (19). Hoewel de virusniveaus in het perifere bloed tijdens de asymptomatische fase van de infectie relatief laag zijn, blijken virusreproductie en -verwijdering dynamische processen te zijn waarbij hoge niveaus van virusproductie en infectie van CD4+-cellen in evenwicht worden gehouden door even hoge niveaus van virusverwijdering, sterfte van geïnfecteerde cellen en aanvulling van CD4+-cellen, wat resulteert in relatief stabiele niveaus van zowel plasmaviremie als CD4+-cellen (20-22).

Kwantitatieve metingen van hiv in het perifere bloed hebben aangetoond dat hogere virusspiegels gecorreleerd kunnen zijn met een verhoogd risico op klinische progressie van hiv-geassocieerde ziekte, en hebben aangetoond dat verlaging van de plasmavirusspiegels geassocieerd kan zijn met een verlaagd risico op klinische progressie (23-25). Virusniveaus in het perifere bloed kunnen worden gekwantificeerd door meting van het hiv p24-antigeen in serum, door kwantitatieve kweek van hiv uit plasma, of door directe meting van viraal RNA in plasma met behulp van nucleïnezuuramplificatietechnologieën of signaalamplificatietechnologieën (26-30).

Moleculaire technieken zoals transcriptiegemedieerde amplificatie (TMA) zijn veel gebruikt om nucleïnezuren te amplificeren (31). TMA maakt gebruik van specifieke targetcapture en isotherme amplificatie om nucleïnezuren te detecteren in meerdere infectieziekten, waaronder CT, NG, HPV, TV en hiv/HCV/HBV voor het testen van bloeddonors (32).

De Aptima HIV-1 Quant Dx-assay, via TMA, maakt gebruik van meerdere, lange primers die gericht zijn op verschillende regio's van het hiv-1-genoom om de hoge mutatiesnelheid van hiv-1 te compenseren. De assay bevat dual-target amplificatie- en detectiesystemen, die zich onafhankelijk richten op twee regio's van het hiv-1-genoom (pol en LTR). De assay-software berekent geen gemiddelde van de signalen die de twee systemen geven.

Het Aptima-dual-targetsysteem is ontworpen om de kans op het nauwkeurig detecteren en kwantificeren van monsters te vergroten.

Uitgangspunten van de procedure

De Aptima HIV-1 Quant Dx-assay bestaat uit drie hoofdstappen die allemaal in één buis op het Panther-systeem plaatsvinden: targetcapture, target-amplificatie door transcriptiegemedieerde amplificatie (TMA) en detectie van de amplificatieproducten (amplicon) door de fluorescent gelabelde sondes (torches).

Tijdens targetcapture worden virale nucleïnezuren uit de specimens geïsoleerd. Het specimen wordt behandeld met een detergent om de virusenvelop oplosbaar te maken, de eiwitten te denatureren en viraal genomisch RNA af te geven. Capture-oligonucleotiden hybridiseren met uiterst geconserveerde gebieden van het hiv-1-genoom (indien aanwezig) in het testspecimen. De gehybridiseerde target wordt dan gevangen op magnetische microdeeltjes die in een magnetisch veld van het specimen worden gescheiden. Tijdens wasstappen worden vreemde componenten uit de reageerbuis verwijderd.

Targetamplificatie treedt op via TMA, een via transcriptie gemedieerde nucleïnezuuramplificatiemethode waarbij twee enzymen, MMLV (Moloney-muizenleukemievirus)-reverse-transcriptase en T7 RNA-polymerase, worden gebruikt. De reverse-transcriptase wordt gebruikt voor het maken van een DNA-kopie (met een promotorsequentie voor T7 RNA-polymerase) van de targetsequentie. Via T7 RNA-polymerase worden meerdere kopieën van RNA-amplicon aangemaakt op basis van het DNA-kopiesjabloon. De Aptima HIV-1 Quant Dx-assay maakt gebruik van de TMA-methode om twee regio's van hiv-1 RNA (pol en LTR) te amplificeren. Een onafhankelijk signaal wordt gegenereerd door amplificatie van elke regio met behulp van specifieke primers die ontworpen zijn om hiv-1-groepen M, N en O te amplificeren.

Detectie wordt bereikt door enkelstrengs fluorescerende sondes met nucleïnezuur te gebruiken die tijdens de amplificatie van elke target aanwezig zijn en in real time specifiek hybridiseren met de amplicons. Elke fluorescerende sonde is uitgerust met een fluorofor en een quencher (uitdover). Wanneer geen hybridisatie met het amplicon plaatsvindt, bevindt de quencher zich in de buurt van de fluorofor en onderdrukt het fluorescentie. Wanneer de fluorescerende sonde bindt aan het amplicon, raakt de quencher verder verwijderd van het fluorochroom en zendt die een signaal uit op een bepaalde golflengte als gevolg van excitatie door een lichtbron. Hoe meer

hybridisatie tussen fluorescerende sondes en het amplicon plaatsvindt, des te sterker het fluorescerende signaal. De tijd die het fluorescentiesignaal van elke target nodig heeft om een bepaalde drempelwaarde ('tTime') te bereiken, is evenredig met de aanvangsconcentratie van hiv-1. Elke reactie heeft een interne kalibrator/interne controle (IC) die controleert op potentiële variaties in de verwerking, amplificatie en detectie van het specimen. De concentratie van een monster wordt vervolgens berekend met behulp van de tTimes voor zowel pol- als LTR-amplificatie door de software van het Panther-systeem. Via zijn algoritme en vergelijking met opgeslagen kalibratie-informatie retourneert de software van het Panther-systeem voor elk monster een enkel, klinisch gevalideerd resultaat.

Samenvatting van veiligheid en prestaties

De SSP (Summary of Safety and Performance of samenvatting van veiligheid en prestaties) is beschikbaar in de Europese database voor medische hulpmiddelen (Eudamed), waar deze is gekoppeld aan de unieke identificatiecode voor medische hulpmiddelen (Basic UDI-DI). Raadpleeg de Basic Unique Device Identifier (BUDI) om de SSP voor Aptima HIV-1 Quant Dx-assay te vinden: 54200455DIAGAPTHIV1XB

Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen

- A. Voor *in-vitro* diagnostiek.
- B. Voor professioneel gebruik.
- C. De Aptima HIV-1 Quant Dx-assay is niet bestemd voor gebruik als screeningtest op aanwezigheid van hiv-1 in gedoneerd bloed.
- D. Voor correcte uitvoering van de test is het belangrijk de volledige bijsluiter en de *Gebruikershandleiding van het Panther/Panther Fusion™* System zorgvuldig door te lezen, om fouten en ongeldige resultaten te voorkomen.

Met betrekking tot het laboratorium

- E.  LET OP: de controles bij deze assay bevatten humaan plasma. Het plasma is negatief voor hepatitis-B-oppervlakte-antigeen (HBsAg), antistoffen tegen HCV, antistoffen tegen hiv-1 en hiv-2, en hiv-antigeen wanneer getest met door de Amerikaanse FDA (Food and Drug Administration) gecertificeerde procedures. Daarnaast is het plasma niet-reactief voor HCV-RNA en hiv-1-RNA wanneer getest met gecertificeerde nucleïnezuurtests met gepoolde monsters. Alle materiaal van menselijk bloed dient te worden beschouwd als potentieel besmettelijk en moet worden gehanteerd met universele voorzorgsmaatregelen (33-35).
- F. Deze procedure mag uitsluitend worden uitgevoerd door personeel dat adequaat is opgeleid in het gebruik van de Aptima HIV-1 Quant Dx-assay en in het omgaan met potentieel besmettelijk materiaal. Als er materiaal is gemorst, desinfecteer dan onmiddellijk volgens de toepasselijke procedures binnen de instelling.
- G. Gebruik alleen de meegeleverde of aangegeven wegwerpartikelen voor in het laboratorium.
- H. Pas de gebruikelijke voorzorgsmaatregelen voor laboratoria toe. Niet met de mond pipetteren. Eet, drink en rook niet in de aangegeven werkgebieden. Draag poederloze wegwerphandschoenen, oogbescherming en labjassen tijdens het verwerken van monsters en reagentia. Was de handen grondig na het verwerken van monsters en reagentia.

- I. Werkoppervlakken, pipetten en overige apparatuur moeten regelmatig worden ontsmet met 2,5% tot 3,5% (0,35 M tot 0,5 M) natriumhypochlorietoplossing.
- J. Voer alle materialen die in contact zijn gekomen met specimen en reagentia af volgens de regionale voorschriften (33-36). Reinig en desinfecteer alle werkoppervlakken grondig.
- K. De controles bevatten natriumazide als conserveringsmiddel. Gebruik geen metalen buizen om reagentia over te hevelen. Als oplossingen met natriumazideverbindingen via de gootsteen worden afgevoerd, moeten ze worden verdund en doorgespoeld met ruime hoeveelheden stromend water. Deze voorzorgsmaatregelen worden aanbevolen om te voorkomen dat afzettingen zich ophopen in metalen buizen waarin explosieve situaties kunnen ontstaan.
- L. Goede standaardpraktijken voor moleculaire laboratoria omvatten milieumonitoring. Om de omgeving van een laboratorium te bewaken, wordt de volgende procedure voorgesteld.
 - 1. Pak een wattenstaafje en voeg het bij de Aptima® Specimen Aliquot-buis (SAT).
 - 2. Plak het juiste etiket op elke SAT-buis.
 - 3. Vul elke SAT-buis met 1 mL Aptima®-specimenverduunningsmiddel.
 - 4. Bevochtig een staafje lichtjes met nucleasevrij, gedeïoniseerd water om oppervlaktemonsters af te nemen.
 - 5. Neem een monster af door met het staafje verticaal van boven naar beneden over het betreffende oppervlak te gaan. Draai het staafje ongeveer een halve slag terwijl u het monster afneemt.
 - 6. Plaats het afgenomen monster onmiddellijk in de buis en roer het wattenstaafje voorzichtig met wervelende bewegingen door de verdunner om potentieel afgenomen materiaal te onttrekken. Druk het staafje tegen de binnenkant van de transportbuis om zo veel mogelijk vloeistof te onttrekken. Gooi het staafje weg en doe een dop op de buis.
 - 7. Herhaal de stappen voor de overige monsters.
 - 8. Test het specimen met een moleculaire assay.

Met betrekking tot het specimen

- M. De specimen kunnen besmettelijk zijn. Hanteer universele voorzorgsmaatregelen (33-35) bij het uitvoeren van deze assay. De juiste methoden voor verwerking en afvoer moeten worden vastgesteld conform plaatselijke voorschriften (36). Deze procedure mag uitsluitend worden uitgevoerd door personeel dat adequaat is opgeleid in het gebruik van de Aptima HIV-1 Quant Dx-assay en in het omgaan met potentieel besmettelijk materiaal.
- N. Zorg dat de specimen onder de juiste bewaaromstandigheden worden verstuurd om hun integriteit te waarborgen. De stabiliteit van de specimen in andere dan de aanbevolen verzendomstandigheden is niet geëvalueerd.
- O. Voorkom kruisbesmetting tijdens de stappen waarin het specimen worden verwerkt. Wees vooral voorzichtig als u de doppen van de specimen losmaakt of verwijdert om besmetting via verspreiding van aerosolen te voorkomen. Monsters kunnen uitermate veel organismen bevatten. Zorg dat specimen niet met elkaar in contact komen en voer gebruikt materiaal niet boven open buizen af. Vervang uw handschoenen als deze met een monster in contact komen.

Met betrekking tot de assay

- P. Kwantitatieve resultaten van de Aptima HIV-1 Quant Dx-assay zijn geëvalueerd met plasma. Serum mag niet worden gebruikt voor het verkrijgen van kwantitatieve resultaten. Kwalitatieve resultaten zijn geëvalueerd met zowel plasma als serum. Het gebruik van deze testkit met andere specimens dan die specifiek zijn goedgekeurd voor gebruik met deze testkit kan resulteren in onnauwkeurige testresultaten.
- Q. De Aptima HIV-1 Quant Dx-assay werd klinisch gevalideerd met behulp van het algoritme in de software van het Panther-systeem. Het gevalideerde resultaat dat moet worden gerapporteerd, wordt door de software van het Panther-systeem weergegeven in het resultaten scherm en in het resultatenrapport.
- R. Gebruik de reagenskit, de kalibrator of de controles niet na de vervaldatum.
- S. Verwissel, meng of combineer geen assayreagentia uit kits met verschillende lotnummers. De assayvloeistoffen kunnen afkomstig zijn van verschillende lotnummers. De controles en de kalibrator kunnen afkomstig zijn van verschillende lotnummers.
- T. Voorkom microbiële en nuclease besmetting van de reagentia.
- U. Doe een dop op alle assayreagentia bij gespecificeerde temperaturen en sla ze op. Gebruik van verkeerd opgeslagen reagentia kan de uitslag van de assay negatief beïnvloeden. Zie *Eisen voor opslag en verwerking van reagentia* en *Optionele materialen* voor meer informatie.
- V. Combineer geen assayreagentia of vloeistoffen zonder specifieke aanwijzingen. Flessen voor reagentia of vloeistoffen mogen niet helemaal worden gevuld. Het Panther-systeem verifieert het peil van de reagentia.
- W. Sommige reagentia in deze kit zijn geclassificeerd als gevaarlijk.

Opmerking: Gevarencommunicatie volgt de classificaties in het veiligheidsinformatieblad (VIB) van de EU. Informatie over gevarencommunicatie specifiek voor uw regio vindt u in de regiospecifieke SDS (VIB) in de Safety Data Sheet Library (bibliotheek met veiligheidsinformatiebladen) op www.hologicsds.com. Raadpleeg voor meer informatie over de symbolen de legenda op www.hologic.com/package-inserts.

Europese gevareninformatie	
—	Amplification Reagent Magnesiumchloride 60-65% — H412 - Schadelijk voor in het water levende organismen, met langdurige gevolgen. P273 - Voorkom lozing in het milieu. P501 - Inhoud/verpakking afvoeren naar een erkende afvalverwerkingsinstallatie.
—	Enzyme Reagent HEPES 1-5% Triton X-100 1-5% — H412 - Schadelijk voor in het water levende organismen, met langdurige gevolgen. P273 - Voorkom lozing in het milieu. P501 - Inhoud/verpakking afvoeren naar een erkende afvalverwerkingsinstallatie.

—	Enzyme Reconstitution Reagent <i>Glycerol 20-25%</i> <i>Triton X-100 5-10%</i> <i>HEPES 1-5%</i> — H412 - Schadelijk voor in het water levende organismen, met langdurige gevolgen. P273 - Voorkom lozing in het milieu. P501 - Inhoud/verpakking afvoeren naar een erkende afvalverwerkingsinstallatie.
—	Promoter Reagent <i>Magnesiumchloride 60-65%</i> — H412 - Schadelijk voor in het water levende organismen, met langdurige gevolgen. P273 - Voorkom lozing in het milieu. P501 - Inhoud/verpakking afvoeren naar een erkende afvalverwerkingsinstallatie.
—	Target Capture Reagent <i>HEPES 15-20%</i> <i>Laurylsulfaat lithiumzout 5-10%</i> <i>Lithiumhydroxide, monohydraat 1-5%</i> <i>Succinaatzuur 1-5%</i> — H412 - Schadelijk voor in het water levende organismen, met langdurige gevolgen. P273 - Voorkom lozing in het milieu. P501 - Inhoud/verpakking afvoeren naar een erkende afvalverwerkingsinstallatie.
  	HIV VL Kit Controls <i>Menselijk serum/menselijk plasma 95-100%</i> <i>Natriumazide < 1%</i> GEVAAR H300 - Dodelijk bij inslikken. H410 - Zeer giftig voor in het water levende organismen, met langdurige gevolgen. P264 - Na het werken met dit product gezicht, handen en alle blootgestelde huid grondig wassen. P273 - Voorkom lozing in het milieu. P301 + P310 - NA INSLIKKEN: onmiddellijk een ANTIGIFCENTRUM of een arts raadplegen. P321 - Specifieke behandeling vereist (zie aanvullende eerstehulpinstructies op dit etiket). P330 - De mond spoelen. P391 - Gelekte/gemorste stof opruimen.
—	HIV VL Kit Calibrators <i>HEPES 15-20%</i> <i>Laurylsulfaat lithiumzout 5-10%</i> <i>Lithiumhydroxide, monohydraat 1-5%</i> <i>Succinaatzuur 1-5%</i> — H412 - Schadelijk voor in het water levende organismen, met langdurige gevolgen. P273 - Voorkom lozing in het milieu. P501 - Inhoud/verpakking afvoeren naar een erkende afvalverwerkingsinstallatie.

Eisen voor opslag en verwerking van reagentia

- A. In de volgende tabel worden de opslagomstandigheden en stabiliteit voor reagentia, controles en kalibrator weergegeven.

Reagens	Ongeopende opslag	Open kit (gereconstitueerd)	
		Opslag	Stabiliteit
qHIV-1-Amplificatiereagens	2 °C tot 8 °C		
qHIV-1-amplificatiereconstitutieplossing	2 °C tot 8 °C	2 °C tot 8 °C	30 dagen ^a
qHIV-1-Enzymreagens	2 °C tot 8 °C		
qHIV-1-enzymreconstitutieplossing	2 °C tot 8 °C	2 °C tot 8 °C	30 dagen ^a
qHIV-1-Promotorreagens	2 °C tot 8 °C		
qHIV-1-promotorreconstitutieplossing	2 °C tot 8 °C	2 °C tot 8 °C	30 dagen ^a
qHIV-1-zuiveringsreagens	2 °C tot 8 °C	2 °C tot 8 °C	30 dagen ^a
qHIV-1 NC CONTROL – (Negatieve controle)	-15 °C tot -35 °C	15 °C tot 30 °C	Wegwerpflacon Binnen 20 uur gebruiken
qHIV-1 LPC CONTROL + (laag-positieve controle)	-15 °C tot -35 °C	15 °C tot 30 °C	Wegwerpflacon Binnen 20 uur gebruiken
qHIV-1 HPC CONTROL + (hoog-positieve controle)	-15 °C tot -35 °C	15 °C tot 30 °C	Wegwerpflacon Binnen 20 uur gebruiken
qHIV-1 PCAL (positieve kalibrator)	-15 °C tot -35 °C	15 °C tot 30 °C	Wegwerpflacon Binnen 20 uur gebruiken

^a Wanneer reagentia uit het Panther System worden gehaald, moeten ze onmiddellijk opnieuw op de juiste opslagtemperatuur worden gebracht.

- B. Voer ongebruikte gereconstitueerde reagentia en TCR (Target Capture Reagent) na 30 dagen af of, indien dat eerder het geval is, na de uiterste houdbaarheidsdatum van de hoofdlot.
- C. Reagentia in het Panther-systeem blijven daarin 72 uur stabiel. Reagentia kunnen maximaal 8 keer in het Panther System worden geplaatst. Het Panther-systeem registreert elke keer dat de reagentia worden geladen.
- D. Na ontdooiing van de kalibrator moet de oplossing helder zijn, dus niet troebel en zonder neerslag.
- E. ⚠ De promotorreagens en de gereconstitueerde promotorreagens zijn lichtgevoelig. Bescherm deze reagentia tegen licht tijdens opslag of voorbereiding voor gebruik.

Monsterafname en -opslag

Opmerking: Behandel alle monsters alsof ze potentieel besmettelijke stoffen bevatten. Pas universele voorzorgsmaatregelen toe.

Opmerking: Voorkom kruisbesmetting tijdens de stappen waarin de monsters worden verwerkt. Voer gebruikt materiaal bijvoorbeeld niet over open buizen af.

Opmerking: Alleen kunststof secundaire buisjes zijn geschikt voor opslag.

Volbloedspecimens die in de volgende glazen of kunststof buizen zijn afgenomen, kunnen worden gebruikt:

Voor kwantitatieve metingen:

- Buizen met EDTA of Acid Citrate Dextrose (ACD) antistollingsmiddelen of
- Plasma Preparation Tubes (PPT's).

Voor kwalitatieve bepaling:

- Buizen met EDTA of ACD antistollingsmiddelen, of
- PPT's, of
- Serumbuizen, of
- Serumseparatorbuizen (SST's).

Serum kan pas verder verwerkt worden na stolselvorming.

A. Specimenafname

Volbloed kan worden bewaard bij 2 °C tot 30 °C en moet binnen 24 uur na afname van het specimen worden gecentrifugeerd. Scheid het plasma of serum van de gepelleteerde rode bloedcellen volgens de instructies van de fabrikant van de gebruikte buis. Plasma of serum kan in de primaire buis worden getest op het Panther-systeem of worden overgebracht naar een secundaire buis. De minimale hoeveelheid plasma of serum die nodig is voor een reactievolume van 500 µL is 1200 µL voor primaire afnamebuizen en minimaal 700 µL voor secundaire buizen. In de volgende tabel is weergegeven hoeveel dood volume elk type primair en secundair buisje moet bevatten:

Buisje (afmeting en type)	Dood volume in het Panther System
Aptima SAT-buis (Sample Aliquot Tube)	0,2 mL
12 x 75 mm	0,5 mL
13 x 100 mm	0,5 mL
13 x 100 mm met gel	0,3 mL
16 x 100 mm met gel	0,7 mL

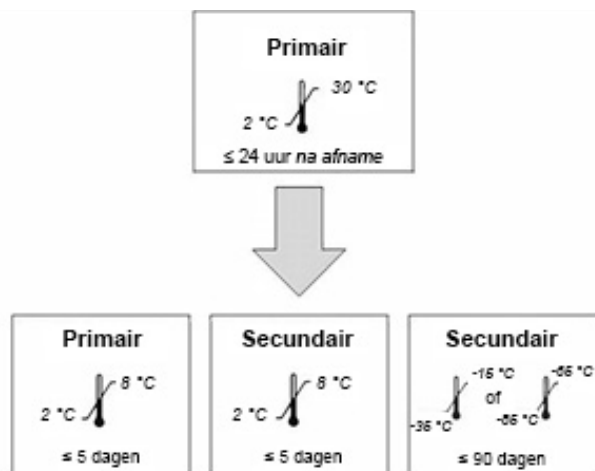
Als ze niet onmiddellijk worden getest, kunnen plasma of serum worden bewaard volgens onderstaande specificaties. Als het plasma in een tweede buis wordt overgebracht, kan het bij -20 °C of -70 °C worden ingevroren en kan het serum bij -20 °C worden ingevroren. Gebruik niet meer dan drie vries-dooi-cycli om invloed op het resultaat te voorkomen. Bevries de specimens niet in primaire EDTA-, ACD- of serumafnamebuizen.

B. Voorwaarden voor het bewaren van specimens

1. EDTA- en ACD-plasmaspecimens

Primaire buizen met gecentrifugeerd plasma kunnen tot 24 uur na het verzamelen van het specimen worden bewaard bij 2 tot 30 °C (Afbeelding 1, bovenste vak). Na 24 uur kan plasma voor langere tijd worden bewaard onder een van de volgende omstandigheden (Afbeelding 1, onderste vakken):

- Maximaal 3 dagen bij 2 °C tot 8 °C in de primaire afnamebuis,
- Maximaal 5 dagen bij 2 °C tot 8 °C in de secundaire buis, of
- Maximaal 90 dagen bij -20 °C of -70 °C in de secundaire buis.

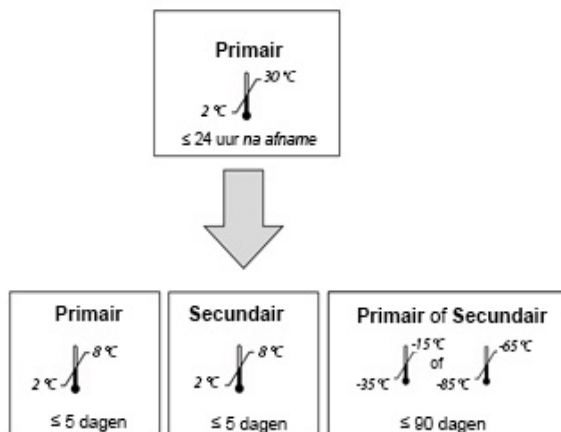


Afbeelding 1. Bewaarcondities voor EDTA-/ACD-buizen

2. PPT-specimens

Tot 24 uur na de specimenafname kunnen PPT's met gecentrifugeerd plasma worden bewaard bij 2 tot 30 °C (Afbeelding 2, bovenste vak). Na 24 uur kan plasma voor langere tijd worden bewaard onder een van de volgende omstandigheden (Afbeelding 2, onderste vakken):

- Maximaal 3 dagen bij 2 °C tot 8 °C in de PPT-buis,
- Maximaal 5 dagen bij 2 °C tot 8 °C in de secundaire buis, of
- Maximaal 90 dagen bij -20 °C of -70 °C in de PPT-buis of de secundaire buis.

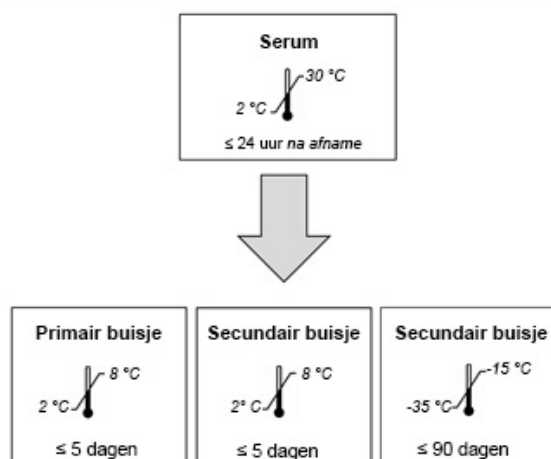


Afbeelding 2. Bewaaromstandigheden voor PPT-buizen

3. Serumbuisspecimens

Primaire serumbuizen met gecentrifugeerd serum kunnen tot 24 uur na het verzamelen van het specimen worden bewaard bij 2 tot 30 °C (Afbeelding 3bovenste vak). Na 24 uur kan serum voor langere tijd worden bewaard onder een van de volgende omstandigheden (Afbeelding 3, onderste vakken):

- Maximaal 5 dagen bij 2 °C tot 8 °C in de serumbuis,
- Maximaal 5 dagen bij 2 °C tot 8 °C in de secundaire buis, of
- Maximaal 90 dagen bij -20 °C in de secundaire buis.

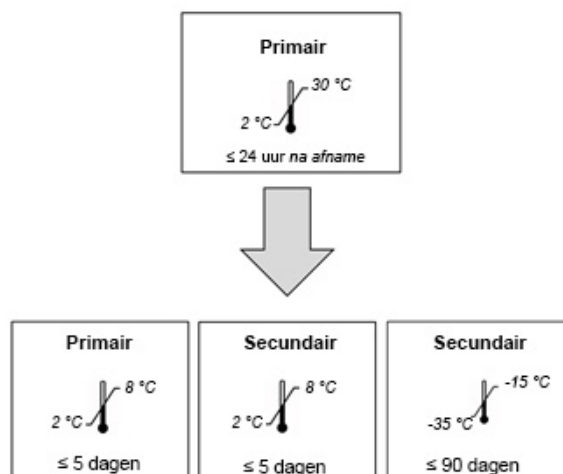


Afbeelding 3. Bewaaromstandigheden voor serumbuizen

4. SST-specimens

SST's met gecentrifugeerd serum kunnen tot 24 uur na het verzamelen van het specimen worden bewaard bij 2 tot 30 °C (Afbeelding 4, bovenste vak). Na 24 uur kan serum voor langere tijd worden bewaard onder een van de volgende omstandigheden (Afbeelding 4, onderste vakken):

- Maximaal 5 dagen bij 2 °C tot 8 °C in de SST-buis,
- Maximaal 5 dagen bij 2 °C tot 8 °C in de secundaire buis, of
- Maximaal 90 dagen bij -20 °C in de secundaire buis.



Afbeelding 4. Bewaaromstandigheden voor SST-buizen

C. Verdunning van plasmaspecimens

Opmerking: *Plasmaspecimens mogen in het SAT-buisje of het secundaire buisje worden verdund voor analyse in het Panther System. Raadpleeg de Testprocedure voor het Panther System, stap E.4 voor meer informatie.*

Opmerking: *Als een specimen wordt verdund, moet het onmiddellijk na verdunning worden getest. Vries een verdund specimen niet in.*



Opmerking: *Verdunning van plasmaspecimens mag alleen worden gebruikt voor kwantitatieve resultaten. Verdun plasmamonsters niet voor diagnostische uitslagen.*

Monsters in het Panther System

Monsters mogen maximaal 8 uur zonder dop in het Panther-systeem achterblijven. Monsters mogen uit het Panther-systeem worden gehaald en getest zolang ze niet langer dan 8 uur in totaal in het systeem hebben gezeten voordat het monster in het Panther-systeem werd gepipetteerd.

Vervoer van specimens

De monsters moeten onder dezelfde omstandigheden worden bewaard als beschreven in *Monsterafname en -opslag*.

Opmerking: *Specimens moeten worden vervoerd volgens de toepasselijke nationale, internationale en regionale regelgeving voor transport.*

Panther System

Hieronder staan reagentia voor de Aptima HIV-1 Quant Dx-assay voor het Panther-systeem vermeld. Naast de naam van het reagens staan tevens de identificatiesymbolen vermeld.

Geleverde reagentia en materialen

Aptima HIV-1 Quant Dx-assaykit

100 tests (1 assaykit, 1 kalibratorkit en 1 controlekit) (cat. nr. PRD-03000)

Extra kalibrators en controles kunnen afzonderlijk worden besteld. Raadpleeg respectieve catalogusnummers hieronder.

Aptima HIV-1 Quant Dx-assaykit

(na ontvangst bewaren bij 2 °C tot 8 °C)

Symbool	Component	Hoeveelheid
A	qHIV-1-amplificatiereagens <i>Niet-besmettelijke nucleïneazuren gedroogd in gebufferde oplossing.</i>	1 flacon
E	qHIV-1-enzymreagens <i>Reverse-transcriptase en RNA-polymerase gedroogd in met HEPES gebufferde oplossing.</i>	1 flacon
PRO	qHIV-1-promotorreagens <i>Niet-besmettelijke nucleïneazuren gedroogd in gebufferde oplossing.</i>	1 flacon
AR	qHIV-1-amplificatiereconstitutieoplossing <i>Oplossing in water met glycerol en conserveringsmiddelen.</i>	1 x 7,2 mL
ER	qHIV-1-enzymreconstitutieoplossing <i>Met HEPES gebufferde oplossing met een surfactans en glycerol.</i>	1 x 5,8 mL
PROR	qHIV-1-promotorreconstitutieoplossing <i>Oplossing in water met glycerol en conserveringsmiddelen.</i>	1 x 4,5 mL
TCR	qHIV-1-zuiveringsreagens <i>Nucleïneazuren in een gebufferde zoutoplossing met vastefase-, niet-besmettelijke nucleïneazuren en een interne kalibrator.</i>	1 x 72,0 mL
	Reconstitutie-adapters	3
	Streepjescodeblad hoofdpartij	1 blad

Aptima HIV-1 Quant Dx-kalibratorkit (cat. nr. PRD-03001)

(na ontvangst bewaren bij -15 °C tot -35 °C)

Symbool	Component	Hoeveelheid
PCAL	Positieve qHIV-1-kalibrator <i>Transcript in gebufferde oplossing.</i>	5 x 2,5 mL
	Streepjescodelabel kalibrator	—

Aptima HIV-1 Quant Dx-controlekit (Cat. nr. PRD-03002)

(na ontvangst bewaren bij -15 °C tot -35 °C)

Symbool	Component	Hoeveelheid
NC	Negatieve qHIV-1-controle <i>Hiv-1 negatief gedefibrineerd menselijk plasma met gentamicine en 0,2% natriumazide als conserveringsmiddelen.</i>	5 x 1,5 mL
LPC	Laag-positieve qHIV-1-controle <i>Niet-besmettelijk hiv-1 Armored RNA in gedefibrineerd menselijk plasma met gentamicine en 0,2% natriumazide als conserveringsmiddelen.</i>	5 x 1,5 mL
HPC	Hoog-positieve qHIV-1-controle <i>Niet-besmettelijk hiv-1 Armored RNA in gedefibrineerd menselijk plasma met gentamicine en 0,2% natriumazide als conserveringsmiddelen.</i>	5 x 1,5 mL
	Streepjescodelabel-controles	—

Benodigde maar apart geleverde materialen

Opmerking: Materialen die verkrijgbaar zijn bij Hologic hebben catalogusnummers, tenzij anders aangegeven.

Materiaal	Cat. nr.
Panther System	303095
Panther Fusion-systeem	PRD-04172
Continue vloeistoffen en afval (Panther Plus) Panther System	PRD-06067
Aptima® HIV-1 Quant Dx-kalibratorkit	PRD-03001
Aptima® HIV-1 Quant Dx-controlekit	PRD-03002
Panther™ Run Kit for Real Time Assays (uitsluitend voor realtime assays)	PRD-03455 (5.000 tests)
Aptima®-kit met assayvloeistof (ook bekend als universele vloeistofkit) <i>bevat Aptima®-wasoplossing, Aptima®-buffer voor deactiveringsvloeistof en Aptima®-oliereagens</i>	303014 (1.000 testen)
<i>Multi-tube units (MTU's, uit meerdere buisjes bestaande eenheden)</i>	104772-02
<i>Panther™-afvalzakpakket</i>	902731
<i>Panther™-afvalbakdeksel</i>	504405
Of runkit voor het Panther™ System <i>(bij het uitvoeren van niet-realtime TMA-assays parallel aan realtime TMA-assays) bevat MTU's, afvalzakken, afvalbakdeksels, automatische detectie en assayvloeistoffen</i>	303096 (5.000 testen)
Tips, 1000 µL, gefilterd, geleidend, vloeistofdetectie en voor eenmalig gebruik <i>Sommige producten zijn niet in alle regio's verkrijgbaar. Neem contact op met uw vertegenwoordiger voor specifieke informatie over de verkrijgbaarheid in uw regio</i>	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Bleekmiddel, 5% tot 8,25% (0,7 M tot 1,16 M) natriumhypochlorietoplossing	—
Poederloze wegwerphandschoenen	—
Vervangende doppen voor reagentia <i>Reconstitutieflessen voor amplificatie-, enzym- en promotorreagens</i> <i>TCR-fles</i>	CL0041 (100 doppen) CL0040 (100 doppen)
Laboratoriumtafelaken met plastic achterkant	—
Pluivrije doekjes	—
Pipet	—
Tips	—
Opties voor primaire afnamebuizen (EDTA, ACD, PPT, SST, Serum): 13 mm x 100 mm 13 mm x 75 mm 16 mm x 100 mm	— — —
Centrifuge	—
Vortexmixer	—

Optionele materialen

Materiaal	Cat. nr.
Opties secundaire buizen:	
12 mm x 75 mm	—
13 mm x 100 mm	—
16 mm x 100 mm	—
Aptima-specimen Aliquot-buizen (SAT's) (100 stuks)	FAB-18184
Dop voor transportbuizen (100 stuks)	504415
<i>dop voor SAT-buis</i>	
Aptima-specimenverdunningsmiddel	PRD-03003
Kit voor Aptima-specimenverdunningsmiddel	PRD-03478
<i>bevat specimenverdunningsmiddel, 100 SAT-buizen en 100 doppen</i>	
Transferpipetten	—
In de handel verkrijgbare panels, zoals: <i>Hiv-1 van Kwaliteitscontrole voor Moleculaire Diagnostiek (QCMD) of College of American Pathologists (CAP) hiv-virale belasting-enquêtepanel of SeraCare ACCURUN hiv-panels</i>	—
Wattenstaafjes	—
Schudmachine	PRD-03488

Testprocedure voor het Panther System

Opmerking: Raadpleeg de Gebruikershandleiding van het Panther/Panther Fusion System voor meer informatie over procedures.

A. Voorbereiding van het werkoppervlak

1. Reinig de werkoppervlakken waarop reagentia worden bereid. Veeg werkoppervlakken af met 2,5% tot 3,5% (0,35 M tot 0,5 M) natriumhypochlorietoplossing. Laat de natriumhypochlorietoplossing ten minste 1 minuut intrekken en spoel de werkoppervlakken vervolgens af met gedeïoniseerd (DI) water. De natriumhypochlorietoplossing mag niet opdrogen. Bedek het werkoppervlak waarop de reagentia en monsters worden bereid met schone, kunststofhoudende absorberende laboratoriumwerkbladhoezen.
2. Reinig een apart deel van het werkoppervlak waar monsters worden bereid. Gebruik de hierboven beschreven procedure (stap A.1).
3. Reinig de pipetten. Gebruik de hierboven beschreven procedure (stap A.1).

B. Voorbereiding kalibrator en controles

Voer de volgende stappen uit om ervoor te zorgen dat de kalibrator en controles zich tussen 15 °C en 30 °C bevinden vóór verwerking:

1. Verwijder de kalibrator en controle uit de opslag (-15 °C tot -35 °C) en plaats ze tussen 15 °C en 30 °C. Draai elke buis voorzichtig om en dit meermaals tijdens het volledige ontdooiingsproces, zodat de inhoud van de buizen grondig wordt vermengd. Controleer vóór gebruik of de inhoud van de buis volledig ontdooid is.

Optie. Kalibrator- en controlebuizen mogen op een schudmachine worden geplaatst om de inhoud goed te mengen. Controleer vóór gebruik of de inhoud van de buis volledig ontdooid is.

Opmerking: Voorkom overmatige schuimvorming bij het omkeren van de kalibrator en de controles. Schuim verstoort detectie van het vloeistofpeil door het Panther System.

2. Droog na ontdooiing van de inhoud de buitenkant van de buis af met een schoon, droog wegwerpdoekje.
3. Open de buizen niet om vervuiling te voorkomen.

C. Reconstitutie/bereiding van een nieuwe kit

Opmerking: Reconstitutie van reagentia moet voorafgaand aan gebruik met het Panther System worden uitgevoerd.

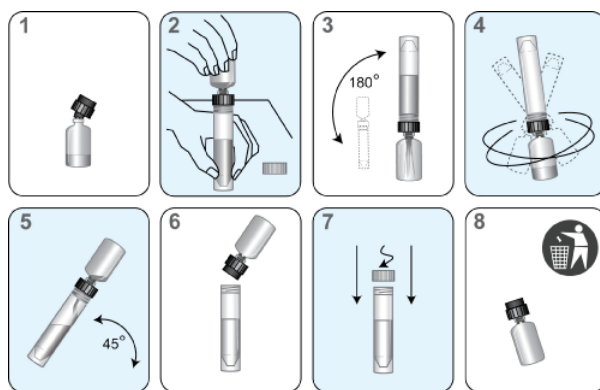
1. Ga als volgt te werk om het target capture reagens (TCR) voor te bereiden:
 - a. Haal de TCR uit de opslag (2 °C tot 8 °C). Controleer of het lotnummer op de TCR-fles overeenkomt met het lotnummer op het streepjescodeblad van de hoofdlot.
 - b. Schud de TCR-fles onmiddellijk 10 keer krachtig heen en weer. Laat de TCR-fles bij 15 °C tot 30 °C ten minste 45 minuten opwarmen. In die tijdsperiode dient u de TCR-fles ten minste om de 10 minuten rond te draaien en om te keren.

Optie. De TCR-fles kan op een schudmachine worden bereid volgens onderstaande aanwijzingen: Haal de TCR uit de opslag (2 °C tot 8 °C) en schud de fles onmiddellijk 10 keer krachtig. Zet de TCR-fles op een schudmachine en laat ze bij 15 °C tot 30 °C ten minste 45 minuten opwarmen.

- c. Controleer vóór gebruik of alle neerslag is opgenomen in de oplossing en de magnetische deeltjes zijn gesuspenderd.
2. Ga als volgt te werk om amplificatie-, enzym- en promotorreagentia te reconstitueren:
 - a. Haal de gevriesdroogde reagentia en bijbehorende reconstitutieoplossingen uit de opslag (2 °C tot 8 °C). Voeg elke reconstitutieoplossing toe aan het bijbehorende gevriesdroogde reagens.
 - b. Controleer of de etiketten op de reconstitutieoplossing en het gevriesdroogde reagens dezelfde kleur hebben. Controleer de lotnummers op het streepjescodeblad van de hoofdpartij om te garanderen dat de juiste reagentia met elkaar worden gecombineerd.
 - i. Open het gevriesdroogde reagensflesje door de metalen afdichting te verwijderen en de rubberen stop eraf te halen.
 - ii. Steek het ingekeepte uiteinde van de reconstitutieadapter (zwart) stevig in de injectieflacon (Afbeelding 5, Stap 1).

- iii. Open de bijbehorende fles met reconstitutieplossing en leg de dop op een schoon, afgedekt werkoppervlak.
- iv. Plaats de fles met reconstitutieplossing op een stabiele ondergrond (bijvoorbeeld een tafel). Keer vervolgens het gevriesdroogde reagensflesje om boven de fles met reconstitutieplossing en bevestig de adapter stevig aan de fles met reconstitutieplossing (Afbeelding 5, Stap 2).
- v. Keer de gekoppelde flessen (injectieflacon bevestigd aan de fles met oplossing) langzaam om, zodat de oplossing in de glazen injectieflacon kan lopen (Afbeelding 5, Stap 3).
- vi. Pak de gekoppelde flessen op en draai de gemonteerde flessen minimaal 10 seconden rond (Afbeelding 5, Stap 4).
- vii. Wacht ten minste 30 minuten totdat het gevriesdroogde reagens in de oplossing is opgenomen.
- viii. Draai nadat het gevriesdroogde reagens in de oplossing is opgenomen, de aan elkaar bevestigde flessen ten minste 10 seconden rond en schud de oplossing in het glazen flesje daarna lichtjes heen en weer om de inhoud goed te vermengen.
- c. Kantel de gekoppelde flessen weer langzaam zodat alle oplossing weer in de fles met reconstitutieplossing kan lopen (Afbeelding 5, Stap 5).
- d. Verwijder voorzichtig de reconstitueadapter en de glazen injectieflacon (Afbeelding 5, Stap 6).
- e. Plaats de dop terug op de fles. Noteer de initialen van de laborant en de reconstitutedatum op het etiket (Afbeelding 5, Stap 7).
- f. Gooi de reconstitueadapter en het glazen flesje op verantwoorde wijze weg (Afbeelding 5, Stap 8).

Waarschuwing: Voorkom overmatige schuimvorming bij reconstitutie van reagentia. Schuim verstoort detectie van het vloeistofpeil door het Panther System.



Afbeelding 5. Reconstitutieproces van reagens

D. Bereiding van reagentia voor eerder bereide reagentia

1. Haal de eerder voorbereide reagentia uit de opslag (2 °C tot 8 °C).
2. Eerder bereide amplificatie-, enzym-, promoter- en TCR-reagentia moeten op 15 °C tot 30 °C worden gebracht voorafgaand aan de aanvang van de assay.
3. Voer Stap C.1 uit voor eerder voorbereide TCR hierboven voordat u het op het systeem laadt.

4. Om de amplificatie-, enzym- en promotorreagentia grondig te mengen voor ze in het systeem worden gebruikt, dient u ze rond te draaien en om te keren. Voorkom overmatige schuimvorming bij het omkeren van reagentia.

Optie: De eerder voorbereide reagentia kunnen op een schudmachine worden bereid volgens onderstaande aanwijzingen: Haal de reagentia uit de opslag (2 °C tot 8 °C). Zet de reagentia op een schudmachine en laat ze bij 15 °C tot 30 °C ten minste 30 minuten opwarmen.

5. Flessen met reagentia mogen niet helemaal worden gevuld. Het Panther-systeem herkent te volle flessen en verwerkt die niet.

E. Specimenafhandeling

1. Bewaar verwerkte specimens in primaire buisjes of onverdunde specimens in secundaire buisjes op de juiste manier volgens de richtlijnen in *Monsterafname en -opslag*.
2. Controleer of bevroren specimens goed ontdooid zijn. Meng de ontdooide specimens gedurende 3 tot 5 seconden goed met de vortexmixer.
3. Zorg dat de specimens zich vóór verwerking tussen 15 °C en 30 °C bevinden. Raadpleeg *Monsters in het Panther System* voor aanvullende informatie.
4. Controleer of elke primaire afnamebuis ten minste 1200 µL specimenmateriaal bevat en of elk SAT-buisje ten minste 700 µL specimenmateriaal bevat. Raadpleeg de tabel op *Monsterafname en -opslag* om te bepalen hoeveel dood volume elk type primair en secundair buisje moet bevatten. Als het specimen moet worden verdund, raadpleeg dan stap E.5 hieronder voor meer informatie.
5. Verdun een plasmaspecimen 1:3 in de SAT of 1:100 in een secundair buisje.

Een plasmaspecimen mag in een secundair buisje worden verdund voor analyse met het Panther-systeem.



Opmerking: Verdunning van plasmaspecimens mag alleen worden gebruikt voor kwantitatieve resultaten. Verdun plasmamonsters niet voor diagnostische uitslagen.

Opmerking: Als een specimen wordt verdund, moet het onmiddellijk na verdunning worden getest.

a. Verdunning van laagvolumemonsters

Het volume van plasmaspecimens kan worden verhoogd tot het minimaal vereiste volume (700 µL) met behulp van Aptima Specimen-verdunningsmiddel. Specimens met ten minste 240 µL plasma kunnen als volgt worden verdund met twee delen specimenverdunningsmiddel (1:3):

- i. Doe 240 µL specimen in een SAT-buis.
- ii. Voeg 480 µL Aptima Specimen-verdunningsmiddel toe.
- iii. Plaats een dop op het buisje.
- iv. Draai het buisje voorzichtig 5 keer om voor een goede menging van de inhoud.

Specimens kunnen met een verdunningsfactor van 1:3 worden getest met de 1:3-optie van het Panther System (zie de *Gebruikershandleiding van het Panther/ Panther Fusion System* voor meer informatie). De software berekent automatisch de resultaten voor het zuivere specimen, waarbij de verdunningsfactor wordt toegepast. Deze monsters worden gemarkeerd als verdunde monsters.

b. Verdunning van monsters met een hoge titer

Als het resultaat van een specimen boven de bovenste kwantificeringslimiet ligt, kan het als volgt worden verdund met 99 delen Aptima Specimen-verdunningsmiddel (1:100):

- i. Plaats 30 µL specimen in de SAT- of secundaire buis.
- ii. Voeg 2970 µL Aptima-specimenverdunningsmiddel toe.
- iii. Plaats een dop op het buisje.
- iv. Draai het buisje voorzichtig 5 keer om voor een goede menging van de inhoud.

Specimens die 1:100 zijn verdund, kunnen worden getest met de optie 1:100 op het Panther System (zie de *Gebruikershandleiding van het Panther/Panther Fusion System* voor meer informatie). De software berekent automatisch de resultaten voor het zuivere specimen, waarbij de verdunningsfactor wordt toegepast. Deze monsters worden gemarkeerd als verdunde monsters.

Opmerking: *De resultaten van verdunde specimens met zuivere concentraties die boven de bovengrens voor kwantificering (ULoQ) liggen, worden in de wetenschappelijke notatie gerapporteerd.*

6. Vlak voor het laden van specimens in een monster Rek, elk specimen moet 10 minuten gecentrifugeerd worden bij een snelheid van 1000 tot 3000 g. Verwijder de doppen niet. Luchtbellen in de buizen kunnen de detectie van het vloeistofpeil door het Panther-systeem verstoren.

Raadpleeg *Vorbereiding van het systeem*, stap F.2 hieronder, voor informatie over het laden van het rek en het verwijderen van de doppen.

F. Voorbereiding van het systeem

1. Stel het systeem in volgens de instructies in de *Gebruikershandleiding bij het Panther/Panther Fusion System* en *Procedurele opmerkingen*. Zorg ervoor dat de reagensrekken en TCR-adapters van de juiste grootte worden gebruikt.
2. Laad monsters in het monsterrek. Voer voor elke monsterbuis (specimen en, wanneer nodig, kalibrator en controles) de volgende stappen uit:
 - a. Draai de dop van één monsterbuis los, maar verwijder deze nog niet.

Opmerking: *Wees vooral voorzichtig om besmetting via verspreiding van aerosolen te voorkomen. Draai de doppen op de monsters voorzichtig los.*

- b. Laad de monsterbuis in het monsterrek.
- c. Herhaal stap a en b voor elk overgebleven monster.
- d. Nadat de monsters in het monsterrek geladen zijn, verwijder en gooi elke monsterbuisdop weg in één monsterrek. Houd een dop niet boven andere monsterrekken of monsterbuizen om besmetting te voorkomen.
- e. Gebruik zo nodig een nieuwe wegwerptransferpipet om luchtbellen of schuim te verwijderen.
- f. Wanneer de laatste dop is verwijderd, laadt u een monsterrek in een monstervak.

Opmerking: *Als u tegelijkertijd andere assays uitvoert en monstertypen verwerkt, bevestigt u de monsterhouder voordat u het monsterrek in het monstervak plaatst.*

- g. Herhaal stappen a t/m f voor het volgende monsterrek.

Procedurele opmerkingen

A. Kalibrator en controles

1. De qHIV-1 positieve kalibrator, qHIV-1 laag-positieve controle, qHIV-1 hoog-positieve controle en qHIV-1 negatieve controlebuizen kunnen in elke positie in het monsterrek en in elk monstervak van het Panther-systeem worden geplaatst. Het pipetteren van specimen begint wanneer aan een van de volgende twee voorwaarden is voldaan:
 - a. De kalibrator en controles worden op het moment verwerkt door het systeem.
 - b. Geldige resultaten voor de kalibrator en controles worden in het systeem geregistreerd.
2. Wanneer de kalibrator en controlebuizen zijn gepipetteerd en voor de Aptima HIV-1 Quant Dx-assay-reagenskit worden verwerkt, kunnen specimens tot maximaal 24 uur met de bijbehorende gereconstitueerde kit worden getest **behalve** in de volgende gevallen:
 - a. De resultaten voor de kalibrator of controles zijn ongeldig.
 - b. De bijbehorende assayreagentiakit is uit het systeem verwijderd.
 - c. De bijbehorende assayreagenskit heeft de stabiliteitsgrenzen overschreden.
3. De kalibrator en elke controlebuis kunnen maar één keer worden gebruikt. Pogingen om de buis vaker dan een keer te gebruiken kunnen leiden tot verwerkingsfouten.

B. Handschoenpoeder

Net als bij elk reagenssysteem kan overmatig poeder van sommige handschoenen geopende buisjes vervuilen. Poederloze handschoenen worden daarom aanbevolen.

Kwaliteitscontrole

Een run- of specimenresultaat kan door een laborant ongeldig worden verklaard als er technische, laborant- of instrumentproblemen worden waargenomen tijdens het uitvoeren van de assay en deze zijn gedocumenteerd. In dit geval moeten specimens opnieuw worden getest.

Assaykalibratie

Voor geldige resultaten moet een assay gekalibreerd zijn. Eén enkele positieve kalibrator wordt in drievoud uitgevoerd telkens wanneer een reagenskit in het Panther-systeem wordt geplaatst. Zodra die is vastgesteld, is de kalibratie maximaal 24 uur geldig. Software op het Panther-systeem waarschuwt de gebruiker wanneer kalibratie nodig is. De gebruiker scant een kalibratiecoëfficiënt van het streepjescodeblad van de hoofdlot dat met elke reagenskit is meegeleverd.

Bij verwerking worden criteria voor het accepteren van de kalibrator automatisch geverifieerd door de software op het Panther-systeem. Als minder dan twee van de kalibratorrePLICaties geldig is, beschouwt de software de run automatisch als ongeldig. Monsters in een ongeldige run moeten opnieuw worden getest met een net voorbereide kalibrator en net bereide controles.

Negatieve en positieve controles

Voor geldige resultaten moet een set assaycontroles worden getest. Eén replica van de negatieve controle, de laag-positieve controle en de hoog-positieve controle moet telkens wanneer een reagenskit in het Panther-systeem wordt geplaatst, worden getest. Zodra die zijn vastgesteld, zijn de controles maximaal 24 uur geldig. Software op het Panther-systeem waarschuwt de gebruiker wanneer controles nodig zijn.

Bij verwerking worden criteria voor het accepteren van controles automatisch geverifieerd door de software op het Panther-systeem. Om geldige resultaten te genereren, moet de negatieve controle het resultaat 'Niet gedetecteerd' opleveren en moeten de positieve controles resultaten opleveren binnen vooraf gedefinieerde parameters (LPC Target: $\sim 3 \text{ Log}_{10}$ kopieën/mL, HPC Target: $\sim 5 \text{ Log}_{10}$ kopieën/mL). Als een van de controles een ongeldig resultaat heeft, beschouwt de software de run automatisch als ongeldig. Monsters in een ongeldige run moeten opnieuw worden getest met een net voorbereide kalibrator en net bereide controles.

Interne kalibrator/interne controle

Elk monster bevat een interne kalibrator/interne controle (IC). Bij verwerking worden IC-acceptatiecriteria automatisch geverifieerd door de Panther-systeemsoftware. Als een IC-resultaat ongeldig is, wordt het monsterresultaat als ongeldig beschouwd. Elk monster met een ongeldig IC-resultaat moet opnieuw worden getest voor een geldig resultaat. De Panther System-software is ontworpen om processen nauwkeurig te verifiëren wanneer procedures worden uitgevoerd volgens de instructies in deze bijsluiters en de *Gebruikershandleiding van het Panther/Panther Fusion System*.

Interpretatie van resultaten

Opmerking: Kwantitatieve resultaten van de Aptima HIV-1 Quant Dx-assay zijn geëvalueerd met plasma. Serum mag niet worden gebruikt voor het verkrijgen van kwantitatieve resultaten. Kwalitatieve resultaten zijn geëvalueerd met zowel plasma als serum.

Het Panther-systeem bepaalt automatisch de concentratie hiv-1 RNA voor specimen en controles door de resultaten te vergelijken met een kalibratiecurve. Hiv-1-RNA-concentraties worden gerapporteerd in kopieën/mL en $\log_{10}$ kopieën/mL. De interpretatie van de resultaten staat in Tabel 1. De Aptima HIV-1 Quant Dx-assay heeft amplificatie- en detectiesystemen met dubbele targets, die zich onafhankelijk van elkaar op pol en LTR richten. Het door het systeem gerapporteerde resultaat zal gebaseerd zijn op het primaire systeem, pol, tenzij pol niet geamplificeerd is. In deze gevallen rapporteert het systeem het resultaat van het secundaire systeem, LTR.

Als een verdunning van 1:3 of 1:100 wordt gebruikt voor verdunde specimen, berekent het Panther-systeem automatisch de hiv-1-concentratie voor het verdunde specimen door de verdunde concentratie met de verdunningsfactor te vermenigvuldigen, en verdunde monsters worden aangemerkt als verdund.

Opmerking: Voor verdunde specimen kunnen resultaten met de vermelding 'Niet gedetecteerd' of '< 30 gedetecteerd' worden gegenereerd door een specimen te verdunnen met een concentratie zoals hierboven, maar dicht bij de LoD (detectielimiet) of LLoQ (onderste kwantificeringslimiet). Aanbevolen wordt nog een verdund specimen af te nemen en te testen als er geen kwantitatief resultaat wordt verkregen.

Het Panther-systeem levert geen kwalitatief resultaat (d.w.z. 'reactief' of 'niet-reactief') voor diagnostisch gebruik. De laborant moet de gerapporteerde hiv-1 RNA-concentratie vertalen naar een kwalitatief resultaat (Tabel 1). Specimen met de resultaten vermeld als 'Niet gedetecteerd' zijn niet-reactief voor hiv-1 RNA. Specimen waarvan de resultaten zijn vermeld als '< 30 gedetecteerd' of specimen waarvan de resultaten binnen en boven het lineaire bereik liggen, geven aan dat hiv-1 RNA is gedetecteerd en dat deze specimen reactief zijn voor hiv-1 RNA.

Tabel 1: Resultaatinterpretatie

Gemelde resultaten Aptima HIV-1 Quant Dx-assayresultaat		Hiv-1 RNA-concentratie Interpretatie	Diagnostische kwalitatieve interpretatie door de gebruiker ^c
Kopieën/mL ^a	Log ₁₀ -waarde ^b		
Niet aangetroffen	Niet aangetroffen	Hiv-1-RNA niet gedetecteerd.	Niet-reactief voor hiv-1-RNA
<30 gedetecteerd	< 1,47	Hiv-1-RNA is gedetecteerd maar in een concentratie lager dan de LLoQ.	Reactief voor hiv-1-RNA
30 t/m 10.000.000	1,47 t/m 7,00	De hiv-1 RNA-concentratie ligt binnen het lineaire bereik van 30 t/m 10.000.000 kopieën/mL.	Reactief voor hiv-1-RNA
>10.000.000	> 7,00	Hiv-1-RNA-concentratie is hoger dan de bovengrens voor kwantificering (ULoQ).	Reactief voor hiv-1-RNA
Ongeldig ^d	Ongeldig ^d	Er is een fout opgetreden bij het genereren van het resultaat. Specimen moet opnieuw worden getest.	Ongeldig ^d

^a De conversiefactor voor kopieën naar Internationale Eenheden (IE) voor de 3e Internationale Standaard voor hiv-1 RNA (10/152) is 0,35 kopieën/IE.

^b Waarde wordt beperkt tot twee decimalen.

^c Er mag geen diagnostische interpretatie worden gemaakt op basis van een 'niet-reactief' resultaat voor verdunde specimen. Neem een nieuw, onverdund specimen en test opnieuw.

^d Ongeldige resultaten worden weergegeven in een blauw gekleurd lettertype.

Nadat de resultaten beschikbaar zijn in het scherm Resultaten, kan de kwantificeringswaarde voor elke target worden opgevraagd met behulp van de functie Monstercurverapport in de software van het Panther-systeem. Selecteer Monster-ID om de waarden en amplificatiecurven te bekijken voor het monster in het resultatenschermb van de software van het Panther-systeem. Selecteer vervolgens de knop 'Curvegegevens'. Er wordt een venster geopend met het Monstercurverapport, dat fluorescentieprofielen en kwantificeringswaarden voor het monster bevat.

Opmerking: Gegevens verkregen uit het Monstercurverapport worden uitsluitend ter informatie verstrekt (bijvoorbeeld probleemoplossing en curveverificatie). Het gevalideerde resultaat dat voor het monster moet worden gerapporteerd, wordt door de software van het Panther System geleverd in het Resultatenschermb en het Resultatenrapport.

Opmerking: Raadpleeg de Gebruikershandleiding van het Panther-/Panther Fusion System voor aanvullende instructies over de bediening van het Panther System.

De acceptatiecriteria voor elk van de Aptima HIV-1 Quant Dx assay-controles staan beschreven in Tabel 2.

Opmerking: Het herstellbereik hieronder verandert per toegewezen waarde van elke specifieke lot. De specifieke waarde voor elke controle is vermeld op het blad met de streepjescode in de controledoos.

Tabel 2: Acceptatiecriteria voor herstellbereik voor de Aptima HIV-1 Quant Dx-assay

Component	Herstellbereik voor geldige runs
Negatieve controle	N.v.t.
Laag-positieve controle	+/- 0,5 log ₁₀ kopieën/mL
Hoog-positieve controle	+/- 0,5 log ₁₀ kopieën/mL

Beperkingen

- A. Alleen personeel dat is getraind in de procedure mag deze assay gebruiken. Niet-naleving van de instructies in deze bijsluiter kan leiden tot foutieve resultaten.
- B. Betrouwbare resultaten zijn afhankelijk van een adequate afname, transport, opslag en verwerking van specimens.
- C. Deze assay is gevalideerd voor gebruik als kwantitatieve assay met uitsluitend menselijk EDTA- en ACD-plasma.
- D. Deze assay is gevalideerd voor gebruik als kwalitatieve assay met menselijk EDTA- en ACD-plasma en -serum.
- E. Hoewel zeldzaam, kunnen mutaties binnen de sterk geconserveerde gebieden van het virale genoom die door de primers en/of sondes in de Aptima HIV-1 Quant Dx-assay worden gedekt, resulteren in een onderkwantificering van het virus of het niet detecteren ervan.
- F. Deze test is niet gevalideerd voor gebruik bij patiënten die lentivirale vectorgebaseerde therapieën ondergaan, zoals CAR-T-celtherapie. Mogelijk overlappende gebieden van het virale genoom die door de primers en/of probes in de Aptima HIV-1 Quant Dx-assay worden bestreken, kunnen leiden tot amplificatie van lentivirale vectoren die worden gebruikt in lentivirale vectorgebaseerde therapieën.

Analytische prestaties

Detectielimiet (Limit of Detection, LoD) op basis van de 3e internationale WHO-standaard voor hiv-1

De detectielimiet (LoD) wordt gedefinieerd als de concentratie hiv-1-RNA die wordt gedetecteerd met een waarschijnlijkheid van 95% of meer volgens CLSI EP17-A2 (37). De LoD werd bepaald door testpanels die bestonden uit verdunningen van de 3e internationale WHO-standaard voor hiv-1 (subtype B, NIBSC-code: 10/152) in hiv-1-negatief EDTA-plasma en serum. Dertig replica's van elke verdunning werden getest op drie Panther-systemen met gebruik van drie reagenslots voor totaal 90 replicaties per verdunning. Volgens CLSI EP17-A2 zijn de LoD's gedefinieerd met behulp van de resultaten van de reagenslot met de hoogste concentratie voor de voorspelde detectielimiet LoD en staan weergegeven in Tabel 3. Via Probit-analyse is de voorspelde detectielimiet voor LoD van 95% voor de Aptima HIV-1 Quant Dx-assay 12 kopieën/mL (35 IE/mL) in plasma en 8,9 kopieën/mL (25 IE/mL) in serum (0,35 kopieën = 1 IE).

Tabel 3: Detectielimiet van de Aptima HIV-1 Quant Dx-assay met behulp van de 3^e internationale WHO-standaard voor hiv-1

Voorspelde Detectielimiet	Plasma		Serum	
	Concentratie (kopieën/mL)	Concentratie (IE/mL)	Concentratie (kopieën/mL)	Concentratie (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

Detectielimiet voor hiv-1-subtypen en -groepen

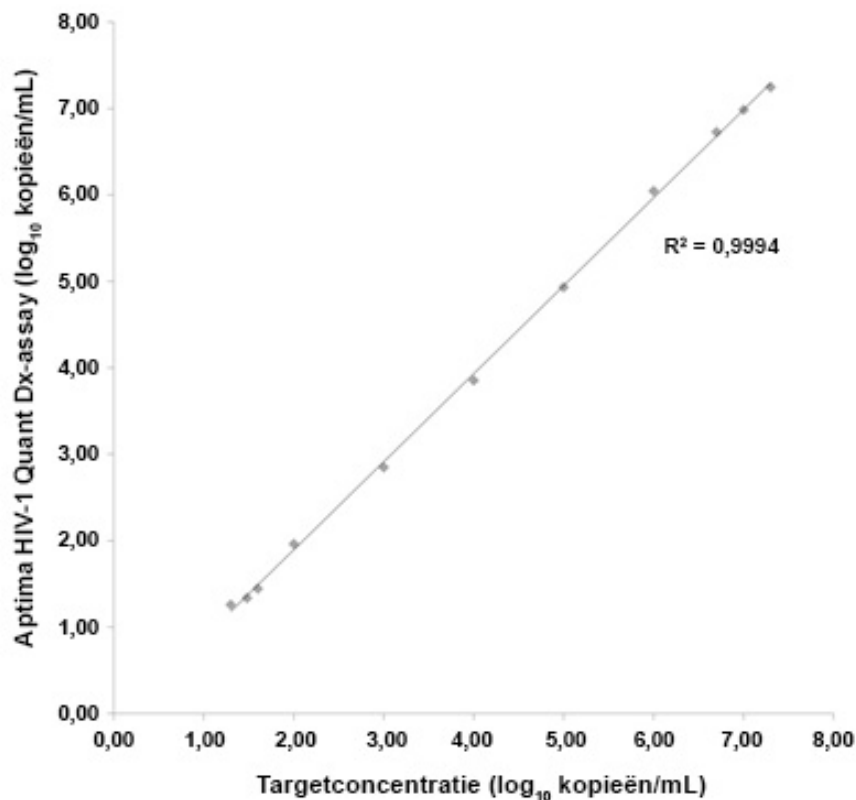
Voor hiv-1-groep M (subtypes A, C, D, F, G, CRF01_AE, CRF02_AG) en de groepen N en O werden zes positieve panels en één negatief panel gecreëerd door gekweekt hiv-1-virus of positieve klinische specimen in hiv-1-negatief menselijk EDTA-plasma en serum (0 t/m 40 kopieën/mL). Elk panellid werd getest in 30 replicaties met twee reagenslots, wat een totaal van 60 replicaties per panellid oplevert. De toewijzing van de concentratie voor klinische specimen of gekweekte virusvoorraden werd bepaald met behulp van een comparatortest. Een waarschijnlijkheidsanalyse werd uitgevoerd voor 50% en 95% van de voorspelde detectielimieten. Volgens CLSI EP17-A2 (37), werden de LoD's gedefinieerd met behulp van de resultaten van de reagenslot met de hoogste concentratie voor de voorspelde detectielimiet gedefinieerd als LoD, zoals weergegeven in Tabel 4.

Tabel 4: Detectielimiet voor hiv-1-subtypen en -groepen

Subtype/groep	Voorspelde detectielimiet	Plasma	Serum
		Concentratie (kopieën/mL)	Concentratie (kopieën/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

Lineair bereik

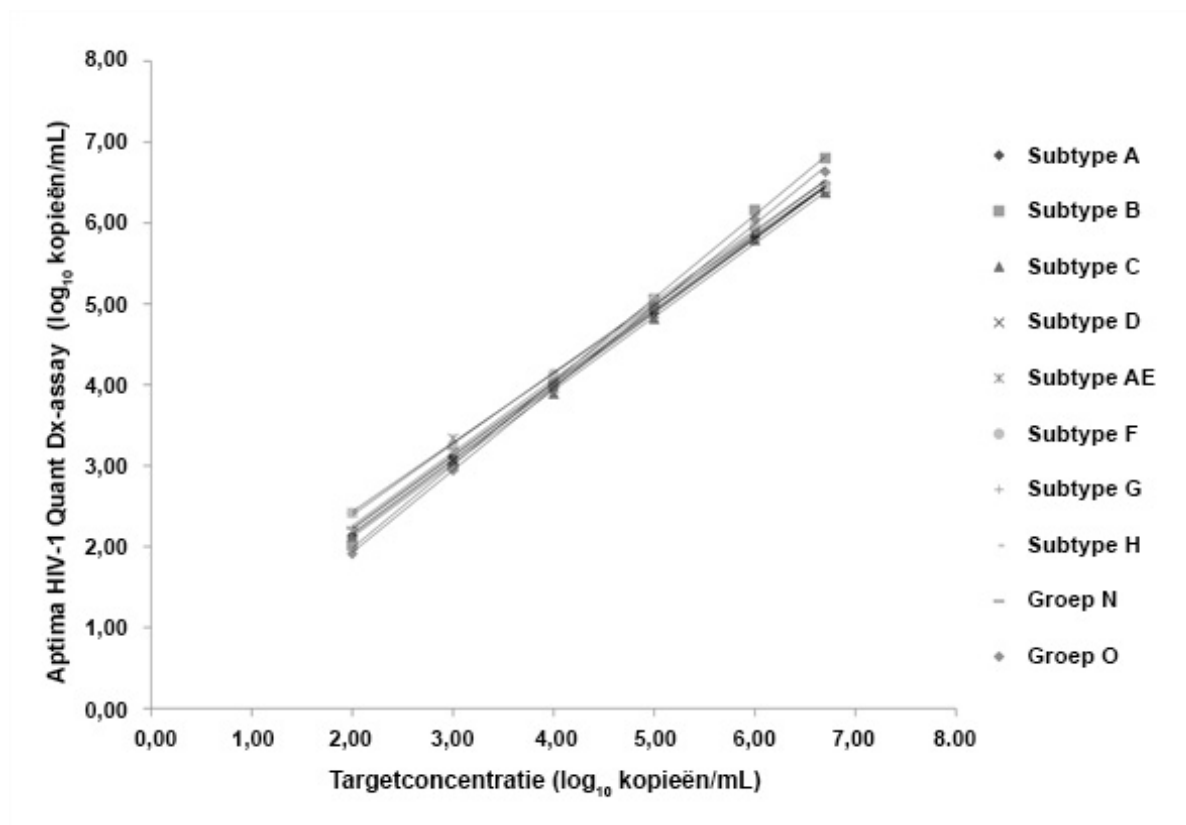
Het lineaire bereik van de Aptima HIV-1 Quant Dx-assay werd vastgesteld door testpanels die bestonden uit gekweekt hiv-1 subtype B-virus verdund in hiv-1-negatief menselijk EDTA-plasma volgens CLSI EP06-A (38). Panels varieerden in concentratie van 1,30 t/m 7,30 $\log_{10}$ kopieën/mL. Er zijn testen uitgevoerd op zeven Panther-systemen met twee reagenslots. Zoals weergegeven in Afbeelding 6 toonde de Aptima HIV-1 Quant Dx-assay lineariteit aan over het geteste bereik.



Afbeelding 6. Lineariteit van de Aptima HIV-1 Quant Dx-assay

Lineariteit tussen hiv-1-subtypen en groepen

De lineaire respons van de Aptima HIV-1 Quant Dx-assay in groep M (subtypen A, B, C, D, F, G, H, CRF01_AE) en groepen N en O werd bevestigd door testpanels die bestonden uit hiv-1-transcripties, verdund in buffer in concentraties variërend van 2,00 t/m 6,70 $\log_{10}$ kopieën/mL. Er zijn testen uitgevoerd op vier Panther-systemen en in zes runs. Lineariteit werd aangetoond over het gehele geteste bereik (Afbeelding 7).



Afbeelding 7. Lineariteit tussen groep M (subtypen A, B, C, D, F, G, H, CRF01_AE) en groepen N en O

Bepaling van de ondergrens voor kwantificering met behulp van de 3^e internationale WHO-standaard voor hiv-1

De onderste kwantificeringslimiet (LLoQ) wordt gedefinieerd als de laagste concentratie waarbij hiv-1-RNA op betrouwbare wijze wordt gekwantificeerd binnen een totale fout (TE), volgens CLSI EP17-A2 (37). TE werd berekend met behulp van het Westgard-model ($TE = |bias| + 2SD$). Om nauwkeurigheid en precisie van de metingen te garanderen, werd de TE van de Aptima HIV-1 Quant Dx-assay ingesteld op 1 $\log_{10}$ kopieën/mL (d.w.z., bij LLoQ is het verschil tussen twee metingen van meer dan 1 $\log_{10}$ kopieën/mL statistisch gezien significant).

LLoQ werd bepaald door testpanels die bestonden uit verdunningen van de 3^e internationale WHO-standaard voor hiv-1 (subtype B, NIBSC-code: 10/152) in hiv-1-negatief menselijk EDTA-plasma. Volgens CLSI EP17-A2 werden panels getest met drie reagenslots in replicaties van 30 voor elke lot uit 23 runs. De resultaten worden weergegeven in Tabel 5. De hoogste LLoQ van de drie lots die zijn getest op de Aptima HIV-1 Quant Dx-assay met behulp van de 3^e internationale WHO-standaard voor hiv-1 is 15 kopieën/mL (1,17 $\log_{10}$ kopieën/mL) (Tabel 6).

Tabel 5: Bepaling van de LLoQ van de Aptima HIV-1 Quant Dx-assay met behulp van de 3^e internationale WHO-standaard voor hiv-1

Reagenspartij	Targetconcentratie ($\log_{10}$ kopieën/mL)	Aptima HIV-1 Quant Dx ($\log_{10}$ kopieën/mL)	SD ($\log_{10}$ kopieën/mL)	Bias ($\log_{10}$ kopieën/mL)	Berekende TE ($\log_{10}$ kopieën/mL)
1	1,15	1,05	0,37	0,10	0,84
	1,24	0,94	0,35	0,30	1,00
	1,42	1,37	0,33	0,05	0,71
	1,54	1,47	0,22	0,07	0,50
	1,94	1,98	0,13	0,04	0,30
	2,42	2,45	0,07	0,03	0,17
2	1,15	0,50	0,33	0,65	1,31
	1,24	0,80	0,44	0,45	1,33
	1,42	0,93	0,37	0,49	1,24
	1,54	1,17	0,31	0,38	0,99
	1,94	1,75	0,21	0,19	0,62
	2,42	2,28	0,21	0,14	0,55
3	1,15	0,88	0,41	0,26	1,09
	1,24	0,98	0,35	0,27	0,97
	1,42	1,15	0,34	0,27	0,96
	1,54	1,35	0,37	0,20	0,93
	1,94	1,84	0,17	0,11	0,44
	2,42	2,37	0,11	0,05	0,27

SD=standard deviation TE=total error.

Tabel 6: Samenvatting van LLoQ met behulp van de 3e internationale WHO-standaard voor hiv-1 (3 reagenslots)

Reagenspartij	LLoQ (log ₁₀ kopieën/mL)	LLoQ (kopieën/mL)
1	0,94	8,7
2	1,17	15
3	0,98	9,5

Verificatie van LLoQ over subtypen en groepen van hiv-1 heen

LLoQ voor hiv-1-subtypen en -groepen werd geverifieerd volgens CLSI EP17-A2 (37). Er werden panels gemaakt voor elke hiv-1-groep M (subtypen A, B, C, D, F, G, CRF01_AE, CRF02_AG) en groepen N en O door het samenvoegen van hiv-1-negatief menselijk EDTA-plasma met natuurlijk geïnfecteerde, klinische monsters of klinische isolaten. Het testen bestond uit in totaal 30 replicaties per panellid. De gegevens in Tabel 7 laten de laagste concentratie voor elk subtype of elke groep zien, waarbij TE minder dan 1 log₁₀ kopieën/mL was. De hoogste LLoQ voor alle geteste subtypen en groepen was 30 kopieën/mL; deze hogere waarde werd daarom geselecteerd als de LLoQ voor de Aptima HIV-1 Quant Dx-assay (Tabel 7).

Tabel 7: Verificatie van LLoQ per hiv-1-subtype of -groep

Panel	LLoQ (kopieën/mL)
Subtype A	30
Subtype CRF01_AE	10
Subtype CRF02_AG	30
Subtype B	10
Subtype C	30
Subtype D	15
Subtype F	15
Subtype G	30
Groep N	10
Groep O	15

Nauwkeurigheid

Om de nauwkeurigheid van de Aptima HIV-1 Quant Dx-assay te beoordelen, werd een panel dat werd samengesteld door gekweekt hiv-1-subtype B-virus aan hiv-1-negatief EDTA-plasma toe te voegen, gedurende 20 dagen door drie laboranten getest met behulp van drie reagenslots op drie Panther-systemen (Tabel 8). Het panel bestond uit één hiv-1 negatief panellid en acht hiv-1 positieve panelliden. De toewijzing van de concentratie voor klinische specimens of gekweekte virusvoorraden werd bepaald met behulp van een comparatortest.

Tabel 8: Nauwkeurigheid van de Aptima HIV-1 Quant Dx-assay

Aantal geldige replica's	Gemiddelde concentratie (log ₁₀ kopieën/mL)	Tussen instrument		Tussen gebruikers		Tussen lots		Tussen runs		Binnen runs		Totaal	
		SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
137	1,80	0,00	0,00	0,03	1,72	0,00	0,00	0,00	0,00	0,16	8,93	0,16	9,10
157	2,37	0,00	0,00	0,05	2,08	0,01	0,36	0,08	3,33	0,15	6,19	0,17	7,34
160	2,47 ^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

CV = variatiecoëfficiënt, SD = standaarddeviatie.

^a Dit panellid werd 1:3 verdund met specimenverduunningsmiddel en getest ter evaluatie van de nauwkeurigheid van het verdunde monster.

Opmerking: Variabiliteit van sommige factoren kan numeriek negatief zijn, wat soms het geval is als de variabiliteit als gevolg van die factoren zeer klein is. Wanneer dit gebeurt, SD=0 en CV=0%. Het totaal aantal geteste replicaties was 162 voor elk panel; alleen replicaties met een numerieke waarde werden geanalyseerd.

Potentieel interfererende endogene en exogene stoffen

Van de Aptima HIV-1 Quant Dx-assay werd de gevoeligheid voor interferentie geëvalueerd door een verhoogd gehalte aan endogene stoffen en door geneesmiddelen die veelal worden voorgeschreven aan met hiv-1 geïnfecteerde personen. Hiv-1-negatieve menselijke EDTA-plasmamonsters en monsters verrijkt met hiv-1 tot een concentratie van $3 \log_{10}$ kopieën/mL HIV-1 RNA werden getest.

Er werd geen interferentie in de prestatie van de Aptima HIV-1 Quant Dx-assay waargenomen in de aanwezigheid van albumine (90 mg/mL), hemoglobine (5 mg/mL), triglyceriden (30 mg/mL) of ongeconjugerd bilirubine (0,2 mg/mL).

Er werd geen interferentie in de prestatie van de Aptima HIV-1 Quant Dx-assay waargenomen in de aanwezigheid van de exogene stoffen die in Tabel 9 staan vermeld in concentraties van minstens drie keer de $C_{\max}$ (menselijk plasma).

Tabel 9: Exogene stoffen

Pool met exogene stoffen	Geteste exogene stoffen
1	Lopinavir, indinavir, saquinavir, ritonavir, nelfinavirmesylaat, darunavir, amprenavir, atazanavir
2	Nevirapine, efavirenz, rilpivirine, claritromycine, amfotericine B
3	Tenofoviridisoproxilfumaraat, adefovirdipivoxil, ribavirine, enfuvirtide, maraviroc, raltegravir, dolutegravir
4	Abacavirsulfaat, didanosine, zidovudine, lamivudine, stavudine, entecavir, telbivudine, emtricitabine
5	Paroxetine HCl, fluoxetine, sertraline
6	Ganciclovir, valaciclovir, aciclovir, rifampine/rifampicine, ethambutol
7	Ciprofloxacin, azitromycine, amoxicilline, cephalexine, ampicilline, trimethoprim
8	Valganciclovirhydrochloride, boceprevir, telaprevir, simeprevir, sofosbuvir
9	Gepegyleerd interferon-alfa-2b, interferon-alfa-2a, interferon-alfa-2b
10	Heparine, EDTA, natriumcitraat
11	Tipranavir
12	Isoniazide

De in Tabel 10 vermelde klinische EDTA-plasmaspecimens van patiënten met verhoogde niveaus van gedefinieerde stoffen of van patiënten met de genoemde ziekten zijn getest met de Aptima HIV-1 Quant Dx-assay met en zonder de aanwezigheid van $3 \log_{10}$ kopieën van hiv-1 RNA. Er werd geen interferentie in de prestaties waargenomen.

Tabel 10: Typen klinische specimens getest

Typen klinische specimens	
1	Reumatoïde factor (RF)
2	Antinucleaire antistoffen (ANA)
3	Anti-Jo-1-antistoffen (JO-1)
4	Systemische lupus erythematoses (SLE)
5	Reumatoïde artritis (RA)
6	Multipole sclerose (MS)
7	Hyperglobulinemia
8	Verhoogde alanineaminotransferase (ALT)
9	Alcoholcirrose (AC)
10	Multipel myeloom (MM)
11	Lipemisch (verhoogde lipiden)
12	Icterisch (verhoogde bilirubine)
13	Gehemolyseerd (verhoogde hemoglobine)
14	Verhoogde eiwitten/albumine
15	HCV-antistoffen
16	HBV-antilichamen
17	Hiv-2-antilichamen

Prestaties met hiv-1-negatieve specimens

De specificiteit van de Aptima HIV-1 Quant Dx-assay werd bepaald met behulp van 120 verse en 510 bevroren hiv-1-negatieve EDTA-plasmaspecimens. Hiv-1 RNA werd niet in alle 630 monsters gedetecteerd (specificiteit van 100%; 95% BI: 99,4-100%) (Tabel 11).

Tabel 11: Specificiteit in plasmaspecimens

	Vers plasma	Bevroren plasma	Alles
Geldige replicaties (n)	120	510	630
Niet-reactief	120	510	630
Specificiteit (95% BI)	100% (97,0-100)	100% (99,3-100)	100% (99,4-100)

BI = betrouwbaarheidsinterval

Potentieel interfererende microbiële verontreinigingen

Potentiële kruisreactiviteit met pathogenen (Tabel 12) werd geëvalueerd in de Aptima HIV-1 Quant Dx-assay in de aanwezigheid of afwezigheid van 3 log₁₀ kopieën/mL hiv-1 RNA in hiv-1-negatief menselijk EDTA-plasma. Er werd geen interferentie in de uitvoering van de assay waargenomen in de aanwezigheid van de pathogenen.

Tabel 12: Pathogenen getest op kruisreactiviteit

Pathogeen	Concentratie
Hepatitis-A-virus	100.000 PFU/mL ^a
Hepatitis-B-virus	100.000 IE/mL ^b
Hepatitis-C-virus	100.000 IE/mL
Hepatitis-G-virus	100.000 kopieën/mL
Herpes-simplex-virus 1 (HSV-1)	100.000 PFE/mL
Herpes-simplex-virus 2 (HSV-2)	75.000 PFE/mL
Humaan herpesvirus 6	100.000 kopieën/mL
Humaan herpesvirus 8	42.000 PFE/mL
Hiv-2	5.500 PFE/mL
Humaan T-cel-lymfotroopvirus(HTLV)	100.000 vp/mL ^c
Westnijlvirus	100.000 kopieën/mL
Parvovirus B19	100.000 IE/mL
Cytomegalovirus	100.000 kopieën/mL
Epstein-Barr-virus	100.000 kopieën/mL
Adenovirus type 5	100.000 PFE/mL
Knokkelkoortsvirus	100.000 kopieën/mL
Influenza A-virus	100.000 PFE/mL
<i>Staphylococcus aureus</i>	1.000.000 CFU/mL ^d
<i>Propionibacterium acnes</i>	1.000.000 CFU/mL
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1.000.000 CFU/mL
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1.000.000 CFU/mL
<i>Chlamydia trachomatis</i>	300.000 IFU/mL ^e
<i>Candida albicans</i>	1.000.000 CFU/mL

^a PFU/mL = plaquevormende eenheid per mL.^b IE/mL = internationale eenheden per mL.^c vp/mL = Virale deeltjes per mL.^d CFU/mL = Kolonievormende eenheden per mL.^e IFU/mL = Inclusievormende eenheden per mL.

Herhaalbaarheid van klinische specimens

Tien klinische EDTA-plasamonsters en tien serummonsters werden getest in drie replicaties met behulp van de Aptima HIV-1 Quant Dx-assay. De gemiddelde concentratie en standaarddeviatie (SD) staan weergegeven in Tabel 13 en Tabel 14.

Tabel 13: Herhaalbaarheid van klinische plasmaspecimens

Specimen	Plasma	
	Gemiddelde concentratie (log ₁₀ kopieën/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 = standaarddeviatie

Tabel 14: Herhaalbaarheid van klinische serumspecimens

Specimen	Serum	
	Gemiddelde concentratie (log ₁₀ kopieën/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 = standaarddeviatie

Monsterverdunning met behulp van een specimenverdunningsmiddel

Om de verdunning van monsters te evalueren, werd een panel dat bestond uit 11 monsters met concentraties die het lineaire bereik van de Aptima HIV-1 Quant Dx-assay overspannen en dat uit twee monsters boven de ULoQ van de assay bestond, getest in zuivere vorm en verdund (1:3 of 1:100 in specimenverdunningsmiddel) in drievoud (Tabel 15).

Tabel 15: Monsterverdunning

Verdunning	Gemiddelde onverdunde concentratie (log ₁₀ kopieën/mL)	Gemiddelde gerapporteerde concentratie ^a (log ₁₀ kopieën/mL)	Vershil
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 De gerapporteerde concentratie is de waarde die door het Panther System wordt gerapporteerd nadat de verdunningsfactor is toegepast.

^b Verrijkt specimen.

^c Alle resultaten > 7,00 log₁₀ kopieën/mL werden geschat met behulp van aanvullende analyse.

Vermenging

Om vast te stellen dat het Panther-systeem het risico op vals-positieve resultaten als gevolg van besmetting door vermenging minimaliseert, werd een analytisch onderzoek met meerdere runs uitgevoerd met behulp van verrijkte panelen op twee Panther-systemen. De vermenging werd beoordeeld met behulp van hiv-1 verrijkte monsters met een hoge titer (7 log₁₀ kopieën/mL), verspreid tussen hiv-1-negatieve monsters in een schaakbordpatroon. Het testen werd uitgevoerd in vijf runs. Het totale vermengingspercentage was 0% (n=469).

Seroconversiepanel

Negentien hiv-1-seroconversiepanelsets, bestaande uit 204 monsters, werden getest met behulp van de Aptima HIV-1 Quant Dx-assay. Detectie van hiv-1-RNA werd vergeleken met detectie met p24-antigeentesten en met hiv-1/2-antilichaamtesten. Het aantal dagen tot het eerste reactieve resultaat met behulp van p24-antigeentesten, anti-hiv 1/2 antilichaamtesten en de Aptima HIV-1 Quant Dx-assay wordt vermeld in Tabel 16. De Aptima HIV-1 Quant Dx-assay detecteerde hiv-1-RNA gemiddeld 5,58 en 11,16 dagen vóór p24-antigeen- en anti-hiv-1/2-antilichaamtesten.

Tabel 16: Overzicht seroconversiepanelgegevens

Panel-ID	Aantal geteste panelleden	Aantal panelleden met reactie			Aantal dagen tot eerste reactief resultaat			Verskil in dagen tot eerste reactief resultaat (op basis van de datum van het bloedmonster)	
		Aptima HIV-1 Quant Dx	Hiv p24-antigeen	Anti hiv 1/2-antilichaam	Aptima HIV-1 Quant Dx	Hiv p24-antigeen	Anti hiv 1/2-antilichaam	Dagen eerder gedetecteerd dan hiv p24-antigeen	Dagen eerder gedetecteerd dan anti-hiv 1/2-antilichaam
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
Totaal	204	82	51	20			Gemiddeld Mediaan	5,58 7	11,16 12

^a Alle bloedmonsters in dit panel waren niet-reactief voor hiv-1/2-antilichaam. De laatste bloeddag werd gebruikt als 'Aantal dagen tot eerste reactief resultaat'.

Het testen op anti-hiv-1/2-antilichamen werd voltooid met Abbot Anti-HIV 1/2, met de volgende uitzonderingen:

^b Panels PRB974, PRB975 en PRB978 zijn getest met de Siemens Anti-HIV 1/2-test.

Het testen op hiv-1 p24-antigeen werd voltooid met Coulter HIV-1 p24 Ag, met de volgende uitzonderingen:

^b Panels PRB974, PRB975 en PRB978 werden getest met de BioMerieux p24 Ag-test.

Serum, plasma-equivalentieonderzoek

Om de gelijkwaardigheid te beoordelen, werden gematchte sets serum en plasma (25 hiv-1-positief en 25 hiv-1-negatief) en 40 monsters die waren verrijkt met gekweekt hiv-1 (50-1.000.000 kopieën/mL in hiv-1-negatief plasma en serum) getest met de Aptima HIV-1 Quant Dx-assay. De negatieve overeenstemming was 100,0% (95% BI: 97,0%–100,0%). De positieve overeenstemming was 98,4% (95% BI: 95,4%–99,5%).

Reproduceerbaarheidsonderzoeken

Reproduceerbaarheid in plasmamonsters

De reproduceerbaarheid van de Aptima HIV-1 Quant Dx-assay in plasmamonsters werd op 3 externe locaties geëvalueerd. Op elke locatie hebben twee laboranten testen uitgevoerd. Elke laborant voerde gedurende 3 dagen 2 runs per dag uit, waarbij tijdens de test 3 reagenslots werden gebruikt. Elke run werd bij elk panellid drie keer herhaald.

De reproduceerbaarheid werd getest met behulp van panelleden die bestonden uit hiv-1-negatief EDTA-plasma. De positieve panelleden werden gecreëerd door het negatieve plasma te verrijken met gekweekt virus (hiv-1 subtype B) in concentraties die het lineaire bereik van de Aptima HIV-1 Quant Dx-assay omspannen.

Tabel 17 toont de reproduceerbaarheid en precisie van testresultaten voor elk positief panellid tussen locaties, tussen laboranten, tussen lots, tussen dagen, tussen runs, binnen runs en in het algemeen. Wanneer alleen monsters met resultaten boven de onderste kwantificeringslimiet (LLOQ) werden opgenomen (monsters met resultaten onder de LLOQ werden uitgesloten) was de totale SD $\leq 0,2 \log_{10}$ kopieën/mL voor alle panelleden. Toen alle monsters met detecteerbaar hiv-1-RNA werden opgenomen, bleven de totale SD-waarden onveranderd, behalve voor panellid 1, dat een totale SD van $0,3 \log_{10}$ kopieën/mL had.

Voor alle hiv-1-positieve panelleden waren de overeenstemmingswaarden 100%. Voor het hiv-1-negatieve panellid werden 108 replicaties getest en hiv-1-RNA werd niet in alle 108 replicaties gedetecteerd (negatieve overeenkomst=100%, 95% Score BI: 96,6% t/m 100%).

Tabel 17: Reproduceerbaarheid en precisie van Aptima HIV-1 Quant Dx-assay op het Panther System in positieve plasmapanelleden

Panel	N ^a	Gemiddeld Log ₁₀ Kopieën/mL	Tussen locaties		Tussen operators		Tussen partijen		Tussen dagen		Tussen runs		Binnen runs		Totaal	
			SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV
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

CV = variatiecoëfficiënt, SD = standaarddeviatie

^a Aantal geldige testresultaten met detecteerbaar hiv-1 RNA.^b Omvat 22 replicaties gerapporteerd als < 1,47 log₁₀ kopieën/mL. Dit monster had een toegewezen waarde van 1,176 log₁₀ kopieën/mL.^c Aantal geldige resultaten binnen het lineaire bereik van de assay.^d Omvat één replicatie gerapporteerd als > 7 log₁₀ kopieën/mL. Dit monster had een toegewezen waarde van 7,18 log₁₀ kopieën/mL.**Opmerking:** De variabiliteit van sommige factoren kan numeriek negatief zijn. Dit kan gebeuren als de variabiliteit door die factoren erg klein is (minder dan 0,01). Wanneer dat het geval is, worden SD en CV weergegeven als 0.

Reproduceerbaarheid in serummonsters

De reproduceerbaarheid van de Aptima HIV-1 Quant Dx-assay in serummonsters werd op 3 externe locaties geëvalueerd. Op elke locatie hebben twee laboranten testen uitgevoerd. Elke laborant voerde gedurende vijf dagen één run per dag uit, waarbij tijdens de test één reagenslot werd gebruikt. Elke run werd bij elk panellid drie keer herhaald.

De reproduceerbaarheid werd getest met behulp van panelleden bereid met hiv-1-negatief serum. Er werden twee positieve panelleden gecreëerd door de negatieve serummatrix te voorzien van 3X-5X LoD- en 10X LoD-concentraties van gekweekt virus (hiv-1-subtype B).

Tabel 18 toont de reproduceerbaarheid en nauwkeurigheid van assayresultaten voor elk positief panellid tussen locaties, laboranten, tussen dagen, tussen runs, binnen runs en in het algemeen.

Voor alle hiv-1-positieve panelleden waren de overeenstemmingswaarden 100%. Voor het hiv-1-negatieve panellid werden 90 replicaties getest en hiv-1-RNA werd niet gedetecteerd in 89/90 replicaties (negatieve overeenkomst=98,9%, 95% Score BI: 94,0% t/m 99,8%).

Tabel 18: Reproduceerbaarheid en precisie van Aptima HIV-1 Quant Dx-assay op het Panther System in positieve serumpanelleden

Panel	N	Gemiddelde log ₁₀ kopieën/mL	Tussen locaties		Tussen operators		Tussen dagen		Tussen runs		Binnen runs		Totaal	
			SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV
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

CV=log-normale variatiecoëfficiënt, SD=standaarddeviatie (log₁₀ kopieën/mL).

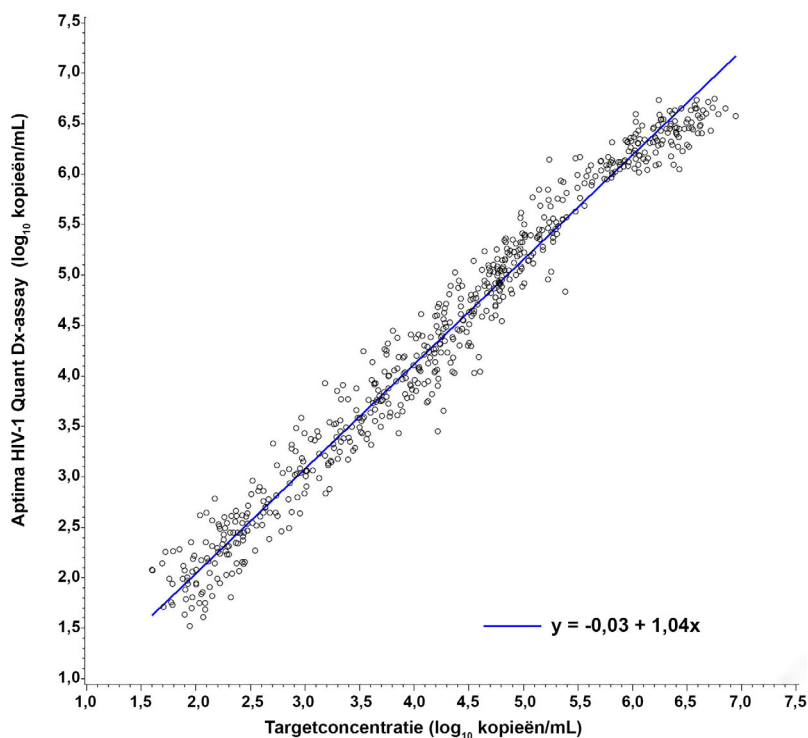
Opmerking: Variabiliteit van een aantal factoren kan numeriek negatief zijn. Dit kan gebeuren als de variatie als gevolg van deze factoren zeer klein is. Wanneer dat het geval is, worden SD en CV weergegeven als 0,00.

Klinische prestaties

Validatie van kwantificering van de virale belasting

De kwantificering van hiv-1 RNA werd vergeleken met de Aptima HIV-1 Quant Dx-assay en een comparatortest. Het onderzoek omvatte het testen van klinische EDTA-plasmamonsters (vers of bevroren bewaard) en kunstmatige monsters (gekweekt virus dat in negatieve klinische plasmamonsters werd verrijkt). Elk monster werd in tweevoud getest met de Aptima HIV-1 Quant Dx-assay en de comparatortest. Aptima HIV-1 Quant Dx-assaytesten werden uitgevoerd op 3 externe locaties, waarbij elke locatie 3 lots reagenskits gebruikte; De comparatortesten zijn uitgevoerd in 1 extern laboratorium.

Er werden 628 overeenkomende sets monsters (binnen het lineaire bereik van beide assays) gemaakt op basis van 484 ingeschreven proefpersonen en 144 kunstmatige monsters getest met de Aptima HIV-1 Quant Dx-assay en de comparatortest. Afbeelding 8 laat de resultaten zien van de Deming-regressie-analyse ($y = -0,03 + 1,04x$).



Afbeelding 8. Correlatie tussen de Aptima HIV-1 Quant Dx-assay en de comparatortest

Studies naar klinische specificiteit

Klinische specificiteit bij hiv-1-negatieve monsters

Eerder ingevroren hiv-1-negatieve EDTA-plasmamonsters verkregen van vrijwillige volbloeddonoren werden getest met de Aptima HIV-1 Quant Dx-assay. Er zijn testen uitgevoerd met 3 lots reagentskits op 3 externe locaties. De klinische specificiteit werd berekend als het percentage hiv-1-negatieve monsters met als resultaat 'Niet gedetecteerd'. Er werden zeshonderd (600) hiv-1-negatieve plasmamonsters getest en hiv-1-RNA werd niet in alle 600 monsters gedetecteerd. De specificiteit in negatieve plasmamonsters was 100% (600/600, 95% Score BI: 99,4% t/m 100%).

Klinische specificiteit bij populaties met een laag risico

Eerder ingevroren monsters verkregen van nieuwe bloeddonoren en niet-bloeddonoren met een laag risico op hiv-1-infectie werden getest met de Aptima HIV-1 Quant Dx-assay. Er zijn testen uitgevoerd met 1 lot reagentskits op 1 externe locatie. De klinische specificiteit werd berekend door de resultaten van de Aptima HIV-1 Quant Dx-assay te vergelijken met de resultaten van de NAT-assay.

Tabel 19 toont de specificiteit van de Aptima HIV-1 Quant Dx-assay in een populatie met laag risico per monstertype.

Tabel 19: Klinische specificiteit van de Aptima HIV-1 Quant Dx-assay in een populatie met laag risico per monstertype

Monstertype	n	TP	FP	TN	FN	Specificiteit % (95% BI) ^a
Alles	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)

BI=betrouwbaarheidsinterval, FN=fout-negatief, FP=fout positief, TN=echt negatief, TP=echt positief.

^a Clopper-Pearson CI.

^b 1 van de 2 serummonsters met fout-positieve uitkomsten was positief bij testen met een 4e generatie hiv-1/hiv-2-antigeen/-antilichaam combinatie-immunoassay.

Studies naar klinische gevoeligheid

Klinische gevoeligheid bij hiv-1-positieve monsters

Eerder ingevroren hiv-1-positieve monsters werden getest met de Aptima HIV-1 Quant Dx-assay. Er zijn testen uitgevoerd met 2 lots reagentskits op 3 locaties, waaronder 2 externe locaties.

Tabel 20 toont de gevoeligheid van de Aptima HIV 1 Quant Dx-assay in positieve monsters per monstertype.

Tabel 20: Klinische gevoeligheid van de Aptima HIV-1 Quant Dx-assay in hiv-1-positieve monsters per monster type

Monstertype	n	TP	FN	Gevoeligheid % (95% BI) ^a
Alles	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)

BI=betrouwbaarheidsinterval, FN=fout-negatief, TP=echt positief.

^a Clopper-Pearson CI.

Klinische gevoeligheid bij populaties met een hoog risico

Prospectief verzamelde monsters van personen met een hoog risico op hiv-1-infectie werden getest met de Aptima HIV-1 Quant Dx-assay. Er werden testen uitgevoerd met 1 lot reagentskits op 3 locaties, waaronder 2 externe locaties. De klinische gevoeligheid werd berekend door de resultaten van de Aptima HIV-1 Quant Dx-assay te vergelijken met de resultaten van de NAT-assay.

Van de evalueerbare 498 monsters waren er 332 plasmamonsters en 166 serummonsters. De klinische gevoeligheid was 100% (1/1, 95% BI: 20,7% t/m 100%) in serummonsters. De gevoeligheid kon niet worden beoordeeld in plasmamonsters, omdat er geen monsters met waar positief of onwaar negatieve testresultaten werden waargenomen.

Positiviteit in serodiscordante monsters

Eerder ingevroren serodiscordante monsters (d.w.z. herhaaldelijk reactief op een initiële hiv-immuno-assay en onbepaald of negatief op een aanvullende immuno-assay) werden verkregen van bloeddonoren en niet-bloeddonoren werden getest met de Aptima HIV-1 Quant Dx-assay. Van de 473 evalueerbare monsters werden er 76 geselecteerd uit seroconversiepanels. Er werden testen uitgevoerd met 2 lots reagentskits op 1 interne locatie. De positiviteit werd berekend voor serodiscordante monsters die werden getest met de Aptima HIV-1 Quant Dx-assay.

Tabel 21 toont de positiviteit van de Aptima HIV-1 Quant Dx-assay in serodiscordante monsters per monstergroep, aanvullend hiv-testtype en aanvullend hiv-testresultaat.

Tabel 21: Positiviteit van Aptima HIV-1 Quant Dx-assay in serodiscordante monsters

Aanvullend testtype	Aanvullend testresultaat	Positiviteit % (n/N) 95% BI ^a		
		Niet-seroconversie Panelgroep		Seroconversie Panelgroep
		3 ^e gen	4 ^e gen	4 ^e gen
Hiv-1/2 Immunochromatografisch	Negatief	N.v.t.	0,0 (0/11) 0,0-25,9	100 (6/6) 61,0-100
Hiv-1/2 Immunochromatografisch	Onbepaald	N.v.t.	100 (1/1) 20,7-100	100 (1/1) 20,7-100
Hiv-1/2 Snel	Negatief	N.v.t.	0,0 (0/11) 0,0-25,9	100 (24/24) 86,2-100
Hiv-1/2 Snel	Onbepaald	N.v.t.	0,0 (0/2) 0,0-65,8	N.v.t.
Hiv-1 WB of IFA	Negatief	0,4 (1/239) 0,1-2,3	100 (4/4) 51,0-100	100 (35/35) 90,1-100
Hiv-1 WB of IFA	Onbepaald	0,0 (0/128) 0,0-2,9	100 (1/1) 20,7-100	100 (10/10) 72,2-100

3^e generatie=immunoassay van de derde generatie, 4^e generatie=immunoassay van de vierde generatie,
BI=betrouwbaarheidsinterval, IFA=indirecte immunofluorescentietest, N.b.=niet beschikbaar, WB=Western blot.

^a Score BI.

Bibliografie

1. Barre-Sinoussi, F., J. C. Chermann, F. Rey, M. T. Nugeyre, S. Chamaret, J. Gruest, C. Dauguet, C. Axler-Blin, F. Vezinet-Brun, C. 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. Dauguet, C. Katlama, C. Rouzioux, D. Klatzmann, J. L. Champalimaud, and L. Montagnier. 1986. Isolation of a new human retrovirus from West African patients with AIDS. *Science* **233**:343–346.
8. 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; current version.
35. **Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health.** Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL); current version.
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.

Contactgegevens en overzicht van wijzigingen



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



Hologic BV
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

Australische sponsor

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

Voor landspecifieke e-mailadressen en telefoonnummers van de technische ondersteuning en klantenservice, gaat u naar www.hologic.com/support.

Ernstige incidenten met betrekking tot het medische hulpmiddel in de Europese Unie dienen te worden gemeld aan de fabrikant en de bevoegde autoriteit van de lidstaat waar de gebruiker en/of de patiënt gevestigd is.

Hologic, Aptima, Panther, Panther Fusion en bijbehorende logo's zijn handelsmerken of gedeponeerde handelsmerken van Hologic, Inc. en/of zijn dochterondernemingen in de Verenigde Staten en/of andere landen.

Armored RNA is een handelsmerk van Asuragen, Inc.

Alle andere handelsmerken in deze bijsluiter zijn eigendom van hun respectieve eigenaars.

Dit product is mogelijk beschermd door een of meer Amerikaanse octrooien vermeld op www.hologic.com/patents.

© 2020–2025 Hologic, Inc. Alle rechten voorbehouden.

AW-28214-1501 Rev. 002

2025-10

Revisiegeschiedenis	Datum	Beschrijving
AW-28214-1501 Rev. 001	April 2025	• Eerste release om te voldoen aan IVDR-vereisten.
AW-28214-1501 Rev. 002	Oktober 2025	• Deze versie komt overeen met AW-28214-001 Rev. 002 & Rev. 003 (This version aligns with AW-28214-001 Rev. 002 & Rev. 003)