

Aptima® HIV-1 Quant Dx Assay

Bruksanvisning
För *in vitro*-diagnostisk användning
Endast för USA-export

Allmän information	3
Avsedd användning	3
Sammanfattning och förklaring av analysen	3
Metodprinciper	4
Sammanfattning av säkerhet och prestanda	5
Varningar och försiktighetsåtgärder	5
Förvaring och hantering av reagens	9
Provtagning och provförvaring	10
Prover i Panther System	13
Transport av provmaterial	13
Panther System	14
Medföljande reagens och material	14
Nödvändiga material som införskaffas separat	16
Tillvalsmaterial	17
Analysmetod för Panther System	17
Metodanmärkningar	21
Kvalitetskontroll	22
Analyskalibrering	22
Negativa och positiva kontroller	22
Intern kalibrator/intern kontroll	22
Tolkning av resultat	23
Begränsningar	25
Analytiska prestanda	26
Detekteringsgräns (Limit of Detection, LoD) vid användning av WHO:s tredje internationella HIV-1-standard	26
Detekteringsgräns för subtyper och grupper av HIV-1	27
Linjärt intervall	28
Linjäritet för subtyper och grupper av HIV-1	29
Bestämning av nedre kvantifieringsgräns vid användning av WHO:s tredje internationella HIV-1-standard	30
Verifiering av nedre kvantifieringsgräns för subtyper och grupper av HIV-1	31
Precision	32
Potentiellt interfererande endogena och exogena substanser	33
Prestanda med HIV-1-negativa prover	35
Potentiellt interfererande mikrobiella föroreningar	35
Repetierbarhet för kliniska prover	37
Provutspädning med provspädningsmedel	38
Överföring	38
Serokonverteringspanel	39
Serum, plasmaekvivalensstudie	40
Reproducerbarhetsstudier	40

Kliniska prestanda	43
Validering av kvantifieringen av virusbelastning	43
Kliniska specificitetsstudier	44
Kliniska sensitivitetsstudier	44
Positivitet i serodiskordanta prover	45
Referenser	46
Kontaktinformation och revisionshistorik	48

Allmän information

Avsedd användning

Aptima® HIV-1 Quant Dx Assay är ett förstärkningstest av in vitro nukleinsyra för detektering och kvantifiering av humant immunbristvirus av typ 1 (HIV-1) – RNA-grupperna M, N och O på det helautomatiserade Panther™-systemet. Avsedd användning är som hjälp för diagnos av HIV-1-infektioner, som bekräftelse av en HIV-1-infektion och som hjälp i klinisk hantering av patienter infekterade med HIV-1.

Aptima HIV-1 Quant Dx Assay kan användas som hjälpmedel vid diagnos av akut eller primär HIV-1-infektion. Förekomst av HIV-1 RNA i plasma, serum eller blod hos patienter utan antikroppar mot HIV-1 är ett tecken på akut eller primär HIV-1-infektion. Aptima HIV-1 Quant Dx-analys är avsedd att användas som kompletterande test för prover som har upprepade reaktiva resultat med godkända HIV-immunometoder. Om provet är reaktivt i Aptima HIV-1 Quant Dx-analys, bekräftas HIV-1 infektionen.

Aptima HIV-1 Quant Dx Assay kan också användas tillsammans med klinisk presentation och andra laboratoriemarkörer för sjukdomsprognos hos HIV-1-infekterade personer. Aptima HIV-1 Quant Dx Assay kan användas för att övervaka effekten av antiretroviral behandling genom att mäta förändringar i koncentrationen av HIV-1 RNA i plasma.

När Aptima HIV-1 Quant Dx Assay används som hjälpmedel vid diagnos av HIV-1-infektion fastställs prestanda för kvalitativa resultat med både plasma- och serumprover.* Vid användning som hjälpmedel för att övervaka effekten av antiretroviral behandling fastställs prestanda för kvantitativa resultat endast med plasmaprover. Serumprover bör inte användas för kvantitativa resultat.

Denna analys är inte avsedd att användas för screening av blod- eller plasmadonatorer.

**Prover med torkade blodfläckar (DBS) kan också användas tillsammans med Aptima HIV-1 Quant Dx Assay. En fullständig beskrivning för avsedd användning och information om DBS-prover, se Dried Blood Spot Supplement (tillägg för torkade blodfläckar) på bipacksedeln till Aptima HIV-1 Quant Dx Assay.*

Sammanfattning och förklaring av analysen

Epidemiologiska studier har identifierat humant immunbristvirus typ 1 (HIV-1) som den etiologiska orsaken till förvärvat immunbristsyndrom (AIDS). (1-7). Hiv kan överföras genom sexuell kontakt, exponering för infekterat blod, infekterade blodprodukter eller genom överföring från mor till barn (8). Inom 3 till 6 veckor efter exponering för HIV utvecklar infekterade personer i allmänhet ett kortvarigt, akut syndrom som kännetecknas av influensaliknande symtom och är förknippat med höga nivåer av viremi i det perifera blodet (9-12). Hos de flesta infekterade individer följs denna tidiga fas av ett HIV-specifikt immunsvär och en minskning av plasmaviremin, vanligtvis inom 4 till 6 veckor efter symtomdebut (13-14). Efter serokonvertering går infekterade individer vanligtvis in i en kliniskt stabil, asymptomatisk fas som kan pågå i flera år (15-17). Den asymptomatiska perioden kännetecknas av ihållande, låggradig plasmaviremi (18) och en gradvis utarmning av CD4+ T-lymfocyter. Denna utarmning leder till allvarlig immunbrist, flera opportunistiska infektioner, maligniteter och död (19). Även om virusnivåerna i det perifera blodet är relativt låga under infektionens asymptomatiska fas, verkar virusreplikation och virusrensning vara dynamiska processer där hög virusproduktion och infektion av CD4+-celler balanseras av lika hög virusrensning, döende infekterade celler och påfyllning av CD4+-celler, vilket leder till relativt stabila nivåer av både plasmaviremi och CD4+-celler (20-22).

Kvantitativa mätningar av HIV i perifert blod har visat att högre virusnivåer kan vara förknippade med ökad risk för klinisk utveckling av HIV-associerad sjukdom, och att minskningar av virusnivåerna i plasma kan vara förknippade med minskad risk för klinisk utveckling (23-25). Virusnivåerna i det perifera blodet kan kvantifieras genom mätning av HIV p24-antigenet i serum, genom kvantitativ odling av HIV från plasma eller genom direkt mätning av viralt RNA i plasma med hjälp av nukleinsyraamplifiering eller signalamplifieringsteknik (26-30).

Molekyltekniker som transkriptionsmedierad amplifiering (TMA) har använts i stor utsträckning för att förstärka nukleinsyror (31). TMA använder specifik målsekvensinfångning och isotermisk amplifiering för att detektera nukleinsyror i flera infektionssjukdomar, inklusive CT, NG, HPV, TV och HIV/HCV/HBV för analys av blodgivare (32).

Aptima HIV-1 Quant Dx Assay använder multipla långa primrar genom TMA, som inriktar sig på flera regioner av HIV-1-genomet för att kompensera för den höga mutationstakten hos HIV-1. Assayen innehåller amplifierings- och detekteringssystem med dubbla mål, som oberoende av varandra riktar in sig på två regioner i HIV-1-genomet (pol och LTR). Assayprogramvaran beräknar inte medelvärdet av signalerna från de två systemen.

Aptima-systemet med dubbla mål är utformat för att öka chanserna till korrekt detektering och kvantifiering av prover.

Metodprinciper

Aptima HIV-1 Quant Dx Assay består av tre huvudmoment som alla genomförs i ett och samma provrör i Panther System: målsekvensinfångning, målampliconering genom transkriptionsmedierad amplifiering (Transcription-Mediated Amplification, TMA) samt detektering av amplifieringsprodukterna (amplicon) genom fluorescensmärkta probes (torches).

Under målsekvensinfångning isoleras virala nukleinsyror från prover. Proverna behandlas med ett rengöringsmedel som löser upp virushöljet, denaturerar proteiner och frisläpper viralt genomiskt RNA. Capture-oligonukleotider hybridiseras till konserverade områden för HIV-1-genomet, om sådana finns, i analysprovet. Det hybridiserade målet fångas därefter in på magnetiska mikropartiklar som separeras från provet i ett magnetfält. En serie tvättsteg avlägsnar främmande ämnen från reaktionsröret.

Målampliconering sker via TMA, en transkriptionsmedierad nukleinsyraamplifieringsmetod som använder två enzymer, Moloneys musleukemivirus (MMLV) omvänt transkriptas och T7 RNA-polymeras. Omvänt transkriptas används för att generera en DNA-kopia (innehållande en promotorsekvens för T7 RNA-polymeras) av målsekvensen. T7 RNA-polymeras producerar flera kopior av RNA-amplicon från DNA-mallen. Aptima HIV-1 Quant Dx Assay använder TMA-metoden för att amplifiera två regioner av HIV-1 RNA (pol och LTR). En oberoende signal genereras från amplifiering av varje region med hjälp av specifika primrar, som är utformade för att amplifiera HIV-1 grupperna M, N och O.

Detekteringen uppnås med hjälp av enkelsträngade nukleinsyre-torches som är närvarande under amplifieringen av varje mål och som hybridiseras specifikt till ampliconen i realtid. Varje torch har en fluorofores och en quencher. När torchen inte hybridiseras till ampliconet befinner sig quenchern i fluoroforesens närhet och dämpar fluorescensen. När torchen binds till ampliconet flyttas quenchern längre bort från fluoroforesen och sänder ut en signal på en särskild våglängd när den exciteras av en ljuskälla. När fler torches hybridiseras till amplicon uppstår en starkare fluorescerande signal. Den tid det tar för den fluorescerande signalen för varje mål att nå ett angivet tröskelvärde ("tTime") är proportionell mot den inledande koncentrationen av HIV-1. Varje reaktion har en intern kalibrator/intern kontroll (IC) som kontrollerar för potentiella

variationer i behandling, amplifiering och detektering av prover. Sedan beräknas koncentrationen i ett prov med hjälp av tTimes för både pol- och LTR-amplifiering av programvaran för Panther System. Genom sin algoritm och jämförelse med lagrad kalibreringsinformation ger programvaran för Panther System ett enda, kliniskt validerat resultat för varje prov.

Sammanfattning av säkerhet och prestanda

SSP (sammanfattning av säkerhet och prestanda) finns i den europeiska databasen för medicintekniska produkter (Eudamed), där den är kopplad till produktidentifierare (grundläggande UDI-DI). För att hitta SSP för Aptima HIV-1 Quant Dx Assay, se Grundläggande unik produktidentifierare (BUDI): 54200455DIAGAPTHIV1XB

Varningar och försiktighetsåtgärder

- A. För *in vitro*-diagnostisk användning.
- B. För yrkesmässig användning.
- C. Aptima HIV-1 Quant Dx Assay är inte avsedd att användas för screening av eventuell HIV-1-förekomst i donerat blod.
- D. Minska risken för ogiltiga resultat genom att noggrant läsa hela bipacksedeln och *Användarhandledning för Panther/Panther Fusion System™* innan du utför den här analysen.

Laboratorierelaterad information

- E.  **FÖRSIKTIGHET:** Kontrollerna för den här assayen innehåller human plasma. Plasman är negativ för hepatit B-ytantigen (HBsAg), antikroppar mot HCV, antikroppar mot HIV-1 och HIV-2 samt HIV-antigen när den analyserades med metoder licensierade av U.S. Food and Drug Administration. Plasman var dessutom icke-reaktiv för HCV RNA och HIV-1 RNA när den analyserades med licensierade nukleinsyraanalyser med användning av poolade prover. Alla ämnen som har varit i kontakt med eller har sitt ursprung i blod från människa ska betraktas som potentiellt smittförande och bör hanteras med allmänt vedertagna försiktighetsåtgärder (33-35).
- F. Endast personal med adekvat utbildning i användningen av Aptima HIV-1 Quant Dx Assay och hantering av potentiellt smittförande ämnen bör utföra den här proceduren. I händelse av spill ska ytan omedelbart desinfekteras enligt lämpliga lokala rutiner.
- G. Använd endast medföljande eller föreskriven laborieutrustning för engångsbruk.
- H. Iaktta sedvanliga säkerhetsrutiner för arbete i laboratorium. Pipettera inte med hjälp av munnen. Undvik att äta, dricka eller röka i utsedda arbetsområden. Använd puderfria engångshandskar, skyddsglasögon och laborierockar vid hantering av prover och reagenssatser. Tvätta händerna noga efter hantering av prover och reagenssatser.
- I. Arbetsytor, pipetter och annan utrustning måste regelbundet desinficeras med 2,5 % till 3,5 % (0,35 till 0,5 M) natriumhypokloritlösning.
- J. Kassera alla material och ämnen som har varit i kontakt med prover och reagens i enlighet med regionala bestämmelser (33-36). Rengör och desinfektera alla arbetsytor noggrant.

- K. Kontrollerna innehåller natriumazid som konserveringsmedel. Överför inte reagens med hjälp av metallrör. Om lösningar som innehåller natriumazidföreningar kasseras i avloppssystemet ska de spädas ut och spolade ned tillsammans med rikliga mängder rinnande vatten. Dessa försiktighetsåtgärder rekommenderas i syfte att undvika ansamling av avlagringar i metallrör där explosiva förhållanden kan uppstå.
- L. God standardpraxis för molekylärbiologiska laboratorier inbegriper miljöövervakning. För kontroll av laboratoriemiljön rekommenderas följande förfarande.
1. Hämta en provpinne med bomullstopp och koppla den till ett Aptima® Specimen Aliquot Tube (SAT).
 2. Märk alla SAT-enheter på lämpligt sätt.
 3. Fyll varje SAT-enhet med 1 mL Aptima® provspädningsmedel.
 4. Samla in prov på ytan genom att fukta provpinnen lätt med nukleasfritt avjoniserat vatten.
 5. Ta ett pinnprov från ytan av intresse med en vertikal rörelse uppifrån och ned. Vrid provpinnen ungefär ett halvt varv medan du tar provet.
 6. Placera omedelbart provpinnen i röret och rör försiktigt om den i utspädningsmedlet för att extrahera potentiellt uppsamlat material. Tryck provpinnen mot transportrörets ena sida för att extrahera så mycket vätska som möjligt. Kassera provpinnen och sätt ett lock på provröret.
 7. Upprepa proceduren med övriga pinnprover.
 8. Testa provpinnen med en molekylär assay.

Provrelaterad information

- M. Prover kan vara smittförande. Vidta allmänt vedertagna försiktighetsåtgärder (33-35) när du genomför den här assayen. Korrekta hanterings- och kasseringsmetoder bör fastställas i enlighet med tillämpliga regler (36). Endast personal med adekvat utbildning i användningen av Aptima HIV-1 Quant Dx Assay och hantering av smittförande ämnen bör utföra den här proceduren.
- N. Upprätthåll korrekta förvaringsförhållanden vid transport av prover för att säkerställa provets kvalitet. Provernas hållbarhet har inte utvärderats under andra fraktförhållanden än de som rekommenderas.
- O. Undvik korskontaminering under provhantering. Var särskilt noga med att undvika kontaminering genom spridning av aerosoler när locken lossas eller tas av. Prover kan innehålla mycket höga nivåer av organismer. Se till att olika provbehållare inte kommer i kontakt med varandra och kassera använda material utan att flytta dem över öppna behållare. Byt handskar om de kommer i kontakt med prover.

Analysrelaterad information

- P. Kvantitativa resultat av Aptima HIV-1 Quant Dx Assay har utvärderats med plasma. Serum får inte användas för att erhålla kvantitativa resultat. Kvalitativa resultat har utvärderats med både plasma och serum. Användning av denna analysats med andra prover än de som specifikt godkänts för användning med denna analysats kan leda till felaktiga analysresultat.

- Q. Aptima HIV-1 Quant Dx Assay validerades kliniskt med hjälp av algoritmen i programvaran för Panther System. Det validerade resultat som ska rapporteras tillhandahålls av programvaran för Panther System på skärmen Resultat och i rapporten Resultat.
- R. Använd inte reagenssatsen, kalibratoren eller kontrollerna efter utgångsdatum.
- S. Analysreagens från satser med olika huvudsatsnummer får inte bytas, blandas eller kombineras. Assayvätskor kan komma från olika batchnummer. Kontroller och kalibratorer kan komma från olika batchnummer.
- T. Undvik att reagens kontamineras med mikrober och nukleas.
- U. Assayreagens ska förvaras med lock på och i specificerade temperaturer. Assayens prestanda kan påverkas om du använder assayreagens som har förvarats på ett olämpligt sätt. Se *Förvaring och hantering av reagens* och *Tillvalsmaterial* för mer information.
- V. Blanda inte analysreagens eller vätskor såvida du inte har fått särskilda instruktioner att göra det. Fyll inte behållare med ytterligare reagens eller vätskor. Panther System kontrollerar reagensnivåerna.
- W. Vissa reagens i den här satsen är märkta med risk- och säkerhetsinformation.

Obs! Farokommunikation återspeglar klassificeringar i EU-säkerhetsdatablad (Safety Data Sheet, SDS). För information i farokommunikation som är specifik för din region, se regionsspecifikt SDS på Safety Data Sheet Library (bibliotek med säkerhetsdatablad) på www.hologicsds.com. Mer information om symbolerna finns i symbolförklaringen på www.hologic.com/package-inserts.

Faroangivelse för EU	
—	Amplifieringsreagens Magnesiumklorid 60–65 % — H412 – Skadliga långtidseffekter för vattenlevande organismer. P273 – Undvik utsläpp till miljön. P501 – Innehållet/behållaren lämnas till godkänd avfallsanläggning.
—	Enzymreagens HEPES 1–5 % Triton X-100 1–5 % — H412 – Skadliga långtidseffekter för vattenlevande organismer. P273 – Undvik utsläpp till miljön. P501 – Innehållet/behållaren lämnas till godkänd avfallsanläggning.
—	Enzymrekonstitutionsreagens Glycerol 20–25 % Triton X-100 5–10 % HEPES 1–5 % — H412 – Skadliga långtidseffekter för vattenlevande organismer. P273 – Undvik utsläpp till miljön. P501 – Innehållet/behållaren lämnas till godkänd avfallsanläggning.

—	Promotorreagens Magnesiumklorid 60–65 % — H412 – Skadliga långtidseffekter för vattenlevande organismer. P273 – Undvik utsläpp till miljön. P501 – Innehållet/behållaren lämnas till godkänd avfallsanläggning.
—	Reagens för målsekvensinfångning HEPES 15–20 % Laurylsulfat-litiumsalt 5–10 % Litiumhydroxidmonohydrat 1–5 % Bärnstenssyra 1–5 % — H412 – Skadliga långtidseffekter för vattenlevande organismer. P273 – Undvik utsläpp till miljön. P501 – Innehållet/behållaren lämnas till godkänd avfallsanläggning.
  	HIV VL-satskontroller Humant serum/human plasma 95–100 % Natriumazid < 1 % FARA H300 – Dödligt vid förtäring. H410 – Mycket giftigt för vattenlevande organismer med långtidseffekter. P264 – Tvätta ansiktet, händerna och exponerad hud grundligt efter användning. P273 – Undvik utsläpp till miljön. P301 + P310 – VID FÖRTÄRING: Kontakta genast GIFTINFORMATIONSCENTRAL eller läkare. P321 – Särskild behandling (se kompletterande instruktioner om första hjälpen på etiketten). P330 – Skölj munnen. P391 – Samla upp spill.
—	HIV VL-satskalibratorer HEPES 15–20 % Lauryl Sulfate Lithium Salt 5–10 % Lithium Hydroxide, Monohydrate 1–5 % Succinic Acid 1–5 % — H412 – Skadliga långtidseffekter för vattenlevande organismer. P273 – Undvik utsläpp till miljön. P501 – Innehållet/behållaren lämnas till godkänd avfallsanläggning.

Förvaring och hantering av reagens

A. Följande tabell visar förvaringsförhållanden och stabilitet för reagens, kontroller och kalibrator.

Reagens	Förvaring, öppnat	Öppnad sats (rekonstituerad)	
		Förvaring	Stabilitet
qHIV-1 amplifieringsreagens	2 °C till 8 °C		
qHIV-1 rekonstitutionslösning för amplifiering	2 °C till 8 °C	2 °C till 8 °C	30 dagar ^a
qHIV-1 enzymreagens	2 °C till 8 °C		
qHIV-1 enzymrekonstitutionslösning	2 °C till 8 °C	2 °C till 8 °C	30 dagar ^a
qHIV-1 promotorreagens	2 °C till 8 °C		
qHIV-1 promotorrekonstitutionslösning	2 °C till 8 °C	2 °C till 8 °C	30 dagar ^a
qHIV-1-reagens för målsekvensinfångning	2 °C till 8 °C	2 °C till 8 °C	30 dagar ^a
qHIV-1 NC CONTROL – (negativ kontroll)	–15 °C till –35 °C	15 °C till 30 °C	Ampull för engångsbruk Använd inom 20 timmar
qHIV-1 LPC CONTROL + (låg positiv kontroll)	–15 °C till –35 °C	15 °C till 30 °C	Ampull för engångsbruk Använd inom 20 timmar
qHIV-1 HPC CONTROL + (hög positiv kontroll)	–15 °C till –35 °C	15 °C till 30 °C	Ampull för engångsbruk Använd inom 20 timmar
qHIV-1 PCAL (positivkalibrator)	–15 °C till –35 °C	15 °C till 30 °C	Ampull för engångsbruk Använd inom 20 timmar

^a Reagens som avlägsnas från Panther-systemet ska omedelbart återböras till lämpliga förvaringstemperaturer.

- B. Kassera eventuella oanvända rekonstituerade reagens och Target Capture-reagens för målsekvensinfångning (TCR) efter 30 dagar eller efter huvudsatsens utgångsdatum, beroende på vilket som inträffar först.
- C. Reagens som förvaras i Panther System har 72 timmars hållbarhet i instrumentet. Reagens kan laddas i Panther-systemet upp till 8 gånger. Panther System loggar varje tillfälle då reagensen laddas.
- D. När kalibratören har tinats upp måste lösningen vara klar, dvs. den får inte vara grumlig eller ha utfällningar.
- E.  Promotorreagens och rekonstituerad promotorreagens är fotosensitiva. Skydda dessa reagens från ljus under förvaring och beredning för användning.

Provtagning och provförvaring

Obs! Hantera alla provmaterial som om de innehåller potentiellt smittförande ämnen. Vidta allmänt vedertagna försiktighetsåtgärder.

Obs! Undvik korskontaminering under hantering av prover. Använt material ska exempelvis kasseras utan att passera över öppna rör.

Obs! Endast sekundära rör av plast rekommenderas för förvaring.

Helblodsprover som har samlats in i följande glas- eller plaströr kan användas:

För kvantitativa mätningar:

- Provrör innehållande EDTA- eller ACD-antikoagulanter eller
- Plasmaberedningsrör (PPT-enheter).

För kvalitativ bestämning:

- Provrör innehållande EDTA- eller ACD-antikoagulanter, eller
- PPT-enheter, eller
- serumrör eller
- serumseparationsrör (SST-enheter).

För serum ska koagel hinna bildas före fortsatt behandling.

A. Provtagning

Helblod kan förvaras i 2 till 30 °C och måste centrifugeras inom 24 timmar efter provtagningen. Separera plasma eller serum från de pelleterade röda blodkropparna i enlighet med tillverkarens anvisningar för det provrör som används. Plasma eller serum kan testas i Panther System i ett primärt rör eller överföras till ett sekundärt rör. För att erhålla en reaktionsvolym på 500 µL är den lägsta volymen plasma eller serum för primära provtagningsrör 1200 µL, och för sekundära rör är den lägsta volymen 700 µL. Följande tabell identifierar dödvolymkrav för varje primär och sekundär rörtyp:

Rör (storlek och typ)	Dödvolym på Panther System
Aptima Sample Aliquot Tube (SAT)	0,2 mL
12 x 75 mm	0,5 mL
13 x 100 mm	0,5 mL
13 x 100 mm med gel	0,3 mL
16 x 100 mm med gel	0,7 mL

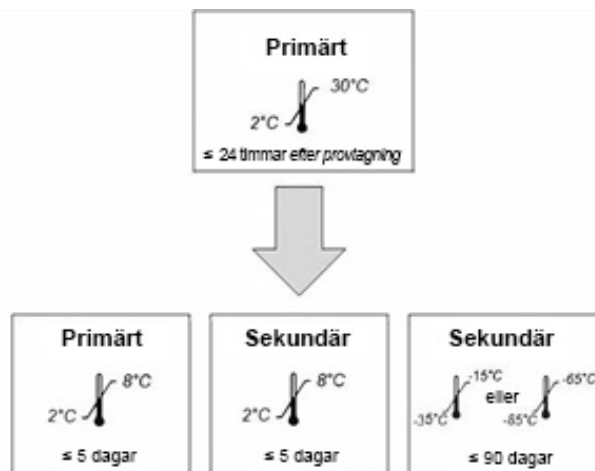
Plasma eller serum som inte analyseras omedelbart kan förvaras i enlighet med nedanstående anvisningar. Plasma som överförs till SAT kan frysas ned i -20 °C eller -70 °C och serum kan frysas ned i -20 °C. Överskrid inte tre nedfrysnings/upptinningscykler för att undvika att påverka resultatet. Frys inte prover i EDTA, ACD eller primära provtagningsrör för serum.

B. Provförvaringsförhållanden

1. EDTA- och ACD-plasmaprover

I upp till 24 timmar efter provtagning kan primära rör som innehåller centrifugerad plasma förvaras vid 2 °C till 30 °C (Figur 1, övre lådan). Efter 24 timmar kan plasma förvaras under en längre tid under något av följande förhållanden (Figur 1, nedre lådorna):

- I det primära provtagningsröret vid 2 °C till 8 °C i upp till 3 dagar,
- I det sekundära röret vid 2 °C till 8 °C i upp till 5 dagar, eller
- I det sekundära röret vid -20 °C eller -70 °C i upp till 90 dagar.

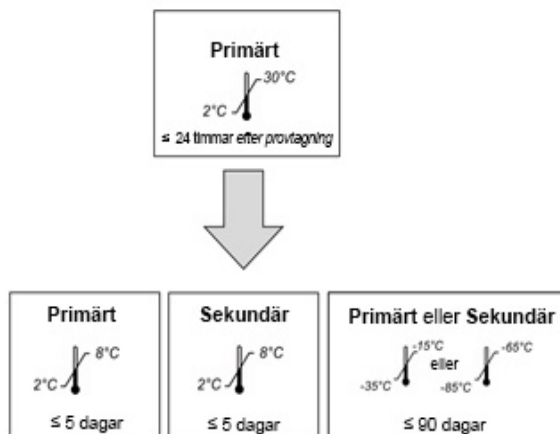


Figur 1. Förvaringsförhållanden för EDTA-/ACD-rör

2. PPT-prover

I upp till 24 timmar efter provtagning kan PPT-enheter innehållande centrifugerad plasma förvaras vid 2 °C till 30 °C (Figur 2, övre lådan). Efter 24 timmar kan plasma förvaras under en längre tid under något av följande förhållanden (Figur 2, nedre lådorna):

- I PPT vid 2 °C till 8 °C i upp till 3 dagar,
- I det sekundära röret vid 2 °C till 8 °C i upp till 5 dagar, eller
- I PPT eller ett sekundärt rör vid -20 °C eller -70 °C i upp till 90 dagar.

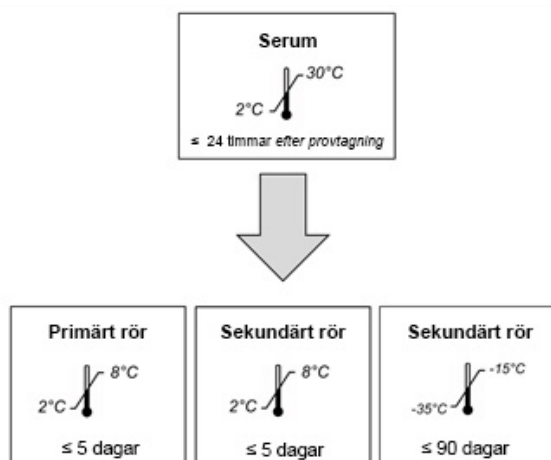


Figur 2. Förvaringsförhållanden för PPT-enheter

3. Prover i serumrör

I upp till 24 timmar efter provtagning kan serumrör som innehåller centrifugerat serum förvaras vid 2 °C till 30 °C (Figur 3, övre lådan). Efter 24 timmar kan serum förvaras under en längre tid under något av följande förhållanden (Figur 3, nedre lådorna):

- I serumröret vid 2 °C till 8 °C i upp till 5 dagar,
- I det sekundära röret vid 2 °C till 8 °C i upp till 5 dagar, eller
- I det sekundära röret vid -20 °C i upp till 90 dagar.

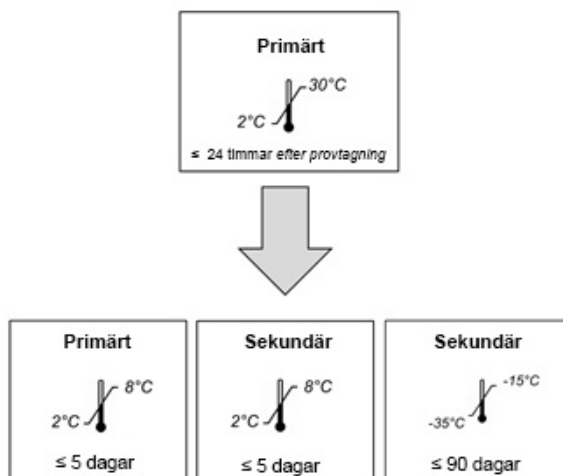


Figur 3. Förvaringsförhållanden för serumrör

4. SST-prover

I upp till 24 timmar efter provtagning kan SST-enheter som innehåller centrifugerat serum förvaras vid 2 °C till 30 °C (Figur 4, övre lådan). Efter 24 timmar kan serum förvaras under en längre tid under något av följande förhållanden (Figur 4, nedre lådorna):

- I SST-enheten vid 2 °C till 8 °C i upp till 5 dagar,
- I det sekundära röret vid 2 °C till 8 °C i upp till 5 dagar, eller
- I det sekundära röret vid -20 °C i upp till 90 dagar.



Figur 4. Förvaringsförhållanden för SST-enheter

C. Utspädning av plasmaprover

Obs! Ett plasmaprov kan spädas ut i provalikvotröret eller det sekundära röret för analys i Panther-systemet. Se Analysmetod för Panther System, steg E.4 för mer information.

Obs! Om ett prov späds ut bör det analyseras omedelbart efter utspädningen. Frys inte ett utspätt prov.



Obs! Utspädning av plasmaprover får endast användas för kvantitativa resultat. Plasmaprover får ej spädas för diagnostiska resultat.

Prover i Panther System

Prover kan lämnas kvar i Panther System utan lock i upp till 8 timmar. Prover kan tas ut från Panther System och analyseras så länge den totala tiden i instrumentet inte överstiger 8 timmar före pipettering av provet i Panther System.

Transport av provmaterial

Se till att följa de provförvaringsförhållanden som beskrivs i *Provtagning och provförvaring*.

Obs! Provmaterial måste fraktas i enlighet med tillämpliga nationella, internationella och regionala transportbestämmelser.

Panther System

Reagens för Aptima HIV-1 Quant Dx Assay anges nedan för Panther System. Symboler för identifiering av reagens anges även bredvid respektive reagensnamn.

Medföljande reagens och material

Aptima HIV-1 Quant Dx Assay Kit

100 tester (1 analysats, 1 kalibreringssats och 1 kontrollats) (artikelnummer PRD-03000)

Ytterligare kalibratorer och kontroller kan beställas separat. Se respektive artikelnummer nedan.

Aptima HIV-1 Quant Dx Assay Kit

(förvaras i 2 °C till 8 °C efter leverans)

Symbol	Komponent	Antal
A	qHIV-1 amplifieringsreagens <i>Icke-smittförande nukleinsyror torkade i buffrad lösning.</i>	1 ampull
E	qHIV-1 enzymreagens <i>Omvänt transkriptas och RNA-polymeras som torkats i HEPES-buffrad lösning.</i>	1 ampull
PRO	qHIV-1 promotorreagens <i>Icke-smittförande nukleinsyror torkade i buffrad lösning.</i>	1 ampull
AR	qHIV-1 rekonstitutionslösning för amplifiering <i>Vattenlösning innehållande glycerol och konserveringsmedel.</i>	1 x 7,2 mL
ER	qHIV-1 enzymrekonstitutionslösning <i>HEPES-buffrad lösning innehållande ett ytaktivt ämne och glycerol.</i>	1 x 5,8 mL
PROR	qHIV-1 promotorrekonstitutionslösning <i>Vattenlösning innehållande glycerol och konserveringsmedel.</i>	1 x 4,5 mL
TCR	qHIV-1-reagens för målsekvensinfångning <i>Nukleinsyror i buffrad saltlösning innehållande icke smittförande nukleinsyror i fast fas samt en intern kalibrator.</i>	1 x 72,0 mL
	Rekonstitutionskragar	3
	Streckkodsblad för huvudsats	1 ark

Aptima HIV-1 Quant Dx kalibratorsats (artikelnummer PRD-03001)
(förvaras i –15 °C till –35 °C efter leverans)

Symbol	Komponent	Antal
PCAL	qHIV-1-positivkalibrator <i>Transkript i buffrad lösning.</i>	5 x 2,5 mL
	Strekkodsetikett för kalibrator	—

Aptima HIV-1 Quant Dx kontrollsats (artikelnummer PRD-03002)
(förvaras i –15 °C till –35 °C efter leverans)

Symbol	Komponent	Antal
NC	qHIV-1-negativ kontroll <i>HIV-1-negativ defibrinerad human plasma innehållande gentamicin och 0,2 % natriumazid som konserveringsmedel.</i>	5 x 1,5 mL
LPC	qHIV-1 låg positiv kontroll <i>Icke smittförande HIV-1 Armored RNA i defibrinerad human plasma innehållande gentamicin och 0,2 % natriumazid som konserveringsmedel.</i>	5 x 1,5 mL
HPC	qHIV-1 hög positiv kontroll <i>Icke smittförande HIV-1 Armored RNA i defibrinerad human plasma innehållande gentamicin och 0,2 % natriumazid som konserveringsmedel.</i>	5 x 1,5 mL
	Strekkodsetikett för kontroll	—

Nödvändiga material som införskaffas separat

Obs! Material som finns tillgängliga hos Hologic anges med respektive artikelnummer om inget annat anges.

Material	Art. nr
Panther System	303095
Panther Fusion-systemet	PRD-04172
Panther System Continuous Fluids and Waste (Panther Plus)	PRD-06067
Aptima® HIV-1 Quant Dx kalibratorsats	PRD-03001
Aptima® HIV-1 Quant Dx kontrollsats	PRD-03002
Panther™ Run Kit for Real Time Assays (endast för realtidsassayer)	PRD-03455 (5 000 analyser)
Aptima® Assay Fluids Kit (kallas även Universal Fluids Kit) <i>innehåller Aptima® tvättlösning, Aptima® buffert för inaktiveringsvätska och Aptima® oljereagens</i>	303014 (1 000 analyser)
<i>Multirörsenheter (MTU-enheter)</i>	104772-02
<i>Panther™ Waste Bag Kit</i>	902731
<i>Panther™ Waste Bin Cover</i>	504405
Eller, Panther™ System Run Kit <i>(vid körning av TMA-analyser som inte utförs i realtid, parallellt med TMA-analyser i realtid) innehåller MTU-enheter, avfallspåsar, lock till avfallsbehållare, auto detect samt analysvätskor</i>	303096 (5 000 analyser)
Spetsar, 1 000 µL, filtrerade, konduktiva, vätskeavkännande, engångsprodukt <i>Alla produkter är inte tillgängliga i alla regioner. Kontakta din representant för regionspecifik information</i>	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Blekmedel, 5 % till 8,25 % (0,7 M till 1,16 M) natriumhypokloritlösning	—
Pudarfria engångshandskar	—
Utbyteslock till reagens <i>Rekonstitutionsflaskor för amplifierings-, enzym- och promotorreagens</i> <i>TCR-flaska</i>	CL0041 (100 lock) CL0040 (100 lock)
Skyddspapper för laboratoriebänk med plastad baksida	—
Luddfria dukar	—
Pipetterare	—
Spetsar	—
Alternativ för primärt provtagningsrör (EDTA, ACD, PPT, SST, serum): 13 mm x 100 mm 13 mm x 75 mm 16 mm x 100 mm	— — —
Centrifug	—
Vortexblandare	—

Tillvalsmaterial

Material	Art. nr
Alternativ för sekundära rör:	
12 mm x 75 mm	—
13 mm x 100 mm	—
16 mm x 100 mm	—
Aptima-provalikvotrör (SAT) (100-pack)	FAB-18184
Lock till transportrör (100-pack) lock till SAT-rör	504415
Aptima provspädningsmedel	PRD-03003
Aptima Specimen Diluent Kit innehåller provspädningsmedel, 100 SAT-enheter och 100 lock	PRD-03478
Överföringspipetter	—
Kommersiellt tillgängliga paneler, till exempel: HIV-1 från Kvalitetskontroll för molekylärdiagnostik (Quality Control for Molecular Diagnostics, QCMD) eller College of American Pathologists (CAP) undersökningspanel för virusbelastning vid HIV eller SeraCare ACCURUN HIV-paneler	—
Provpinnar med bomullstopp	—
Provrörsvagga	PRD-03488

Analysmetod för Panther System

Obs! Se Användarhandledning för Panther/Panther Fusion System för ytterligare information om förfaranden.

A. Förbereda arbetsytan

1. Rengör arbetsytan där reagens ska beredas. Torka av arbetsytorna med 2,5 % till 3,5 % (0,35 M till 0,5 M) natriumhypokloritlösning. Låt natriumhypokloritlösningen verka minst 1 minut på arbetsytorna och skölj sedan med avjoniserat vatten (DI). Låt inte natriumhypokloritlösningen torka. Täck bänkytan där reagens och prover ska beredas med rena och absorberande skyddspapper för laboratoriebänk med plastad baksida.
2. Rengör en separat bänkyta för beredning av prover. Följ proceduren som beskrivs ovan (steg A.1).
3. Rengör eventuella pipetter. Följ proceduren som beskrivs ovan (steg A.1).

B. Bereda kalibrator och kontroller

Låt kalibratoren och kontrollerna nå 15 °C till 30 °C före behandling enligt följande:

1. Ta ut kalibratorerna och kontrollerna från förvaringen (-15 °C till -35 °C) och placera dem i en temperatur på 15 °C till 30 °C. Invertera försiktigt varje rör under upptiningsproceduren så att innehållet blandas ordentligt. Kontrollera att provrörsinnehållet är helt upptinat före användning.

Alternativ. Kalibrator- och kontrollrören kan placeras på en provrörsvagga så att innehållet blandas ordentligt. Kontrollera att provrörsinnehållet är helt upptinat före användning.

Obs! Undvik överdriven skumbildning när du vänder på kalibratoren och kontrollerna. Skummet försämrar nivåavkänningsfunktionen i Panther-systemet.

2. När rörinnehållet har tinat upp torkar du rörets utsida med en ren och torr engångsduk.
3. Öppna inte rören i det här stadiet eftersom det kan leda till kontaminering av innehållet.

C. Rekonstituera reagens/bereda en ny sats

Obs! Innan du börjar arbeta med Panther System ska reagensen rekonstitueras.

1. Så här bereder du målinfångningsreagens (TCR):

- a. Ta ut TCR från förvaringen (2 °C till 8 °C). Kontrollera att batchnumret på TCR-flaskan motsvarar batchnumret på huvudsatsens streckkodsblad.
- b. Skaka omedelbart TCR-flaskan kraftigt 10 gånger. Låt TCR-flaskan stå i 15 °C till 30 °C så att den värms upp i minst 45 minuter. Snurra och invertera TCR-flaskan minst var 10:e minut under den här perioden.

Alternativ. TCR-flaskan kan prepareras på en provrörsvagga enligt följande: Ta ut TCR från förvaringen (2 °C till 8 °C) och skaka det omedelbart 10 gånger kraftigt. Placera TCR-flaskan på en provrörsvagga och låt reagenset värmas upp i minst 45 minuter vid 15 °C till 30 °C.

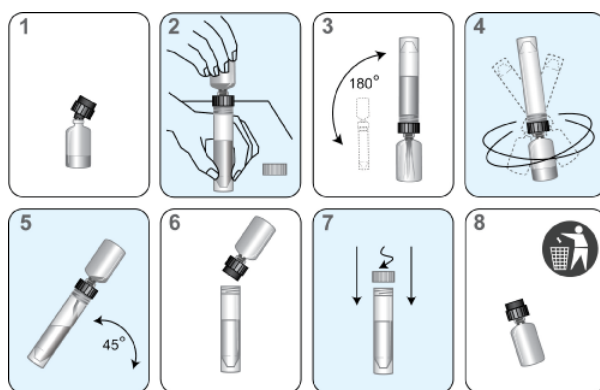
- c. Kontrollera att alla utfällningar har lösts upp och att magnetpartiklarna har suspenderats före användning.

2. Så här rekonstituerar du amplifierings-, enzym- och promotorreagens:

- a. Ta ut frystorkade reagens och motsvarande rekonstitutionslösningar från förvaring (2 °C till 8 °C). Para ihop varje rekonstitutionslösning med respektive frystorkat reagens.
- b. Se till att rekonstitutionslösningen och det frystorkade reagenset har matchande etikettfärger. Kontrollera batchnumret på huvudsatsens streckkodsblad så att korrekta reagens paras ihop.
 - i. Öppna den frystorkade reagensampullen genom att ta bort metalltätningen och gummistoppet.
 - ii. För bestämt in den skårade änden av rekonstitutionskragen (svart) på ampullen (Figur 5, steg 1).
 - iii. Öppna motsvarande flaska med rekonstitutionslösning och lägg locket på en ren, täckt arbetsyta.
 - iv. Placera flaskan med rekonstitutionslösning på en stabil yta (till exempel bänken). Invertera sedan ampullen med frystorkat reagens över rekonstitutionslösningsflaskan och anslut kragen ordentligt till rekonstitutionslösningsflaskan (Figur 5, steg 2).

- v. Invertera försiktigt de hopmonterade flaskorna (ampull ansluten till flaskan med lösning) igen så att lösningen rinner tillbaka in i glasampullen (Figur 5, steg 3).
- vi. Plocka upp de hopmonterade flaskorna och snurra dem i minst 10 sekunder (Figur 5, steg 4).
- vii. Vänta i minst 30 minuter tills det frystorkade reagenset har lösts upp i lösningen.
- viii. När det frystorkade reagenset har lösts upp i lösningen virvlar du de hopmonterade flaskorna i minst 10 sekunder och vaggar sedan lösningen i glasampullen fram och tillbaka så att den blandas ordentligt.
- c. Luta långsamt de hopmonterade flaskorna på nytt så att all lösning rinner tillbaka in i flaskan med rekonstitutionslösning (Figur 5, steg 5).
- d. Avlägsna försiktigt rekonstitutionskragen och glasampullen (Figur 5, steg 6).
- e. Sätt tillbaka locket på flaskan. Notera operatörens initialer och rekonstitutionsdatum på etiketten (Figur 5, Step 7).
- f. Kassera rekonstitutionskragen och glasampullen (Figur 5, steg 8).

Varning: Undvik överdriven skumbildning när du rekonstituerar reagens. Skummet försämrar nivåavkänningsfunktionen i Panther-systemet.



Figur 5. Rekonstitution av reagens

D. Reagensberedning av tidigare beredda reagens

1. Ta ut tidigare beredda reagens från förvaringen (2 °C till 8 °C).
2. Tidigare beredda amplifierings-, enzym- och promotorreagens samt TCR måste nå rumstemperatur (15 °C till 30 °C) innan assayen påbörjas.
3. För tidigare berett TCR utför du steg C.1 ovan före laddning i systemet.
4. Virvla och invertera amplifierings-, enzym- och promotorreagensen så att de blandas ordentligt innan de laddas i systemet. Undvik överdriven skumbildning när du inverterar reagens.

Alternativ: Tidigare beredda reagens kan prepareras på en provrörsvagga enligt följande instruktioner: Ta ut reagensen från förvaringen (2 °C till 8 °C). Placera reagensen på en provrörsvagga och låt den värmas upp i minst 30 minuter vid 15 °C till 30 °C.

5. Fyll inte reagensflaskor. Panther System känner av och avvisar flaskor med mer reagens än beräknat.

E. Provhantering

1. Se till att behandlade provmaterial i primära rör eller utspädda provmaterial i sekundära rör har förvarats korrekt enligt *Provtagning och provförvaring*.
2. Frysta prover måste tinas upp ordentligt. Vortexblanda de tinade proverna i 3 till 5 sekunder så att de blandas ordentligt.
3. Låt proverna nå 15 °C till 30 °C före behandling. Se *Prover i Panther System* för ytterligare information om hantering av prover i instrumentet.
4. Se till att varje primärt provtagningsrör innehåller upp till 1 200 µL prov eller att varje SAT-enhet innehåller minst 700 µL prov. Se tabellen i *Provtagning och provförvaring* för att identifiera dödvolumkrav för varje primär och sekundär rörtyp. Om det är nödvändigt med provutspädning, se steg E.5 nedan för ytterligare information.
5. Späd ut ett plasmaprov 1:3 i SAT eller 1:100 i ett sekundärt rör.

Ett plasmaprov kan spädas ut i ett sekundärt rör för analys i Panther System.



Obs! *Utspädning av plasmaprover får endast användas för kvantitativa resultat. Plasmaprover får ej spädas för diagnostiska resultat.*

Obs! *Om ett prov späds ut måste det analyseras omedelbart efter utspädningen.*

a. Utspädning av prover med låg volym

Volymen av plasmaprover kan ökas till den erforderliga minimivolymer (700 µL) med hjälp av Aptima provspädningsmedel. Prover bestående av minst 240 µL plasma kan spädas ut med två delar provspädningsmedel (1:3) enligt följande:

- i. Placera 240 µL prov i SAT.
- ii. Tillsätt 480 µL Aptima provspädningsmedel.
- iii. Sätt lock på röret.
- iv. Invertera försiktigt 5 gånger för att blanda.

Prov som späds ut med förhållandet 1:3 kan analyseras i Panther-systemet med alternativet 1:3 (se *Användarhandledning för Panther/Panther Fusion System* för mer information). Programvaran rapporterar automatiskt det rena resultatet genom att tillämpa utspädningsfaktorn. Dessa prover flaggas som utspädda prover.

b. Utspädning av prover med högre titrer

Om resultatet för ett prov befinner sig ovanför den övre kvantifieringsgränsen kan det spädas ut med 99 delar Aptima provspädningsmedel (1:100) enligt följande:

- i. Placera 30 µL prov i SAT-enheten eller i ett sekundärt rör.
- ii. Tillsätt 2 970 µL Aptima provspädningsmedel.
- iii. Sätt lock på röret.
- iv. Invertera försiktigt 5 gånger för att blanda.

Prov som späds ut med förhållandet 1:100 kan analyseras i Panther-systemet med alternativet 1:100 (se *Användarhandledning för Panther/Panther Fusion System* för mer information). Programvaran rapporterar automatiskt det rena resultatet genom att tillämpa utspädningsfaktorn. Dessa prover flaggas som utspädda prover.

Obs! *För utspädda prover med rena koncentrationer högre än den övre kvantifieringsgränsen rapporteras resultaten med hjälp av vetenskaplig notering.*

6. Alla prover ska centrifugeras i 1 000 till 3 000 g i 10 minuter innan de laddas i ett provställ. Avlägsna inte locken. Bubblor i rören kan försämma nivåavkänningsfunktionen i Panther System.

Se *Systemförberedelse*, steg F.2 nedan för information om laddning av ställ och avlägsnande av lock.

F. Systemförberedelse

1. Konfigurera systemet enligt anvisningarna i *Användarhandledning för Panther/Panther Fusion System* och *Metodanmärkningar*. Se till att använda reagensställ och TCR-adaptrar av lämplig storlek.
2. Ladda proverna i provstället. Utför följande steg för varje provrör (prov, och, om nödvändigt, kalibrator och kontroll):
 - a. Lossa på ett av provrörslocken, men ta inte bort det ännu.
***Obs!** Var särskilt noga med att undvika kontaminering genom spridning av aerosoler. Lossa försiktigt locken på proverna.*
 - b. Ladda provröret i provstället.
 - c. Upprepa steg a och b för varje återstående prov.
 - d. När proverna har laddats i provstället tar du bort och kasserar varje provrörslock i ett provställ. Håll inte lock ovanför andra provställ eller provrör eftersom det kan leda till kontaminering.
 - e. Använd om så krävs en ny överföringspipett för engångsbruk för att avlägsna eventuella bubblor eller skum.
 - f. När det sista locket har tagits bort laddar du ett provställ i ett provfack.
***Obs!** Om du kör andra analyser och provtyper samtidigt måste du säkra provhållaren innan provstället laddas i provfacket.*
 - g. Upprepa steg a till f med nästa provställ.

Metodanmärkningar

A. Kalibrator och kontroll

1. Rören för qHIV-1-positivkalibrator, qHIV-1 låg positiv kontroll, qHIV-1 hög positiv kontroll och qHIV-1-negativ kontroll kan laddas i alla lägen i provstället och i alla provfackbanor i Panther System. Provpipettering inleds när ett av följande två villkor är uppfyllt:
 - a. Systemet behandlar kalibratoren och kontrollerna.
 - b. Systemet registrerar giltiga resultat för kalibratoren och kontrollerna.
2. När kalibrator- och kontrollrören har pipetterats och behandlar för reagenssatsen för Aptima HIV-1 Quant Dx Assay, kan proverna analyseras med motsvarande rekonstituerad sats i upp till 24 timmar, **såvida inte**:
 - a. Kalibrator- eller kontrollresultaten är ogiltiga.
 - b. Den tillhörande analysreagenssatsen avlägsnas från systemet.
 - c. Tillhörande analysreagenssats har passerat stabilitetsgränsen.
3. Kalibratoren och varje kontrollrör kan användas en gång. Om du försöker använda röret mer än en gång kan behandlingsfel uppstå.

B. Handskpuder

Precis som i alla reagenssystem kan stora mängder puder på vissa handskar orsaka kontaminering i öppna rör. Puderfria handskar rekommenderas.

Kvalitetskontroll

En körning eller ett provresultat kan ogiltigförklaras av en operatör om tekniska, operativa eller instrumentrelaterade problem observeras och dokumenteras i samband med assayen. I det här fallet måste proverna analyseras igen.

Analyskalibrering

För att få fram giltiga resultat måste en assaykalibrering utföras. En enskild positivkalibrator körs i tre replikat varje gång en reagenssats laddas i Panther System. En utförd kalibrering är giltig i upp till 24 timmar. Programvaran i Panther System meddelar operatören när en kalibrering krävs. Operatören skannar en kalibreringskoefficient som finns på huvudsatsens streckkodsblad som medföljer alla reagenssatser.

Under behandlingen verifierar programvaran för Panther System automatiskt acceptanskriterier för kalibratoren. Om mindre än två kalibratorreplikater är giltiga ogiltigförklaras körningen automatiskt av programvaran. Prover i ogiltigförklarade körningar måste analyseras på nytt med hjälp av nyberedda kalibratorer och kontroller.

Negativa och positiva kontroller

För att kunna erhålla giltiga resultat måste en uppsättning assaykontroller analyseras. Ett replikat av den negativa kontrollen, den låga positiva kontrollen och den höga positiva kontrollen måste analyseras varje gång en reagenssats laddas i Panther System. En utförd kontroll är giltig i upp till 24 timmar. Programvaran i Panther System meddelar operatören när kontroller krävs.

Under behandlingen verifierar programvaran i Panther System automatiskt acceptanskriterier för kontrollerna. För att generera giltiga resultat måste den negativa kontrollen ge resultatet "Ej detekterat" och de positiva kontrollerna måste ge resultat inom på förhand definierade parametrar (mål för LPC: $\sim 3 \log_{10}$ kopior/mL, mål för HPC: $\sim 5 \log_{10}$ kopior/mL). Om någon av kontrollerna ger ett ogiltigt resultat kommer programvaran automatiskt att ogiltigförklara körningen. Prover i ogiltigförklarade körningar måste analyseras på nytt med hjälp av nyberedda kalibratorer och kontroller.

Intern kalibrator/intern kontroll

Varje prov innehåller en intern kalibrator/intern kontroll (IC). Under behandlingen verifierar Panther System programvara automatiskt acceptanskriterier för IC. Om ett IC-resultat är ogiltigt blir även provresultatet ogiltigförklarat. Alla prover med ogiltiga IC-resultat måste analyseras på nytt för att ett giltigt resultat ska kunna erhållas. Programvaran för Panther-systemet är konstruerad för exakt verifiering av processer då procedurerna utförs i enlighet med anvisningarna i den här bipacksedeln och *Användarhandledning för Panther/Panther Fusion System*.

Tolkning av resultat

Obs! Kvantitativa resultat av Aptima HIV-1 Quant Dx Assay har utvärderats med plasma. Serum får inte användas för att erhålla kvantitativa resultat. Kvalitativa resultat har utvärderats med både plasma och serum.

Panther System fastställer automatiskt koncentrationen av HIV-1 RNA för prover och kontroller genom att jämföra resultaten med en kalibreringskurva. HIV-1 RNA-koncentrationer rapporteras i kopior/mL och log₁₀ kopior/mL. Tolkningen av resultaten ges i Tabell 1. Aptima HIV-1 Quant Dx Assay har amplifierings- och detekteringssystem med dubbla mål, som oberoende av varandra riktar in sig på pol och LTR. Det resultat som systemet rapporterar kommer att baseras på det primära systemet, pol såvida inte pol är amplifierat. I sådana fall kommer systemet att rapportera resultatet från det sekundära systemet, LTR.

Om utspädningen på 1:3 eller 1:100 används för utspädda prover beräknar Panther System automatiskt HIV-1-koncentrationen för det rena provet genom att multiplicera den utspädda koncentrationen med spädningsfaktorn, och utspädda prover flaggas som utspädda.

Obs! Med utspädda prover kan resultat listade som "Ej detekterat" eller "< 30 detekterat" komma att genereras vid utspädning av ett prov med en koncentration över men i närheten av LoD (detekteringsgränsen) eller LLoQ (den nedre kvantifieringsgränsen). Du rekommenderas ta och analysera ytterligare ett rent prov om ett kvantitativt resultat inte erhålls.

Panther System ger inte ett kvalitativt resultat (t.ex. "Reaktivt" eller "Icke-reaktivt" för diagnostiska ändamål. Operatören måste därför tolka den rapporterade HIV-1 RNA-koncentrationen till ett kvalitativt resultat (Tabell 1). Prover vars resultat listas som "Ej detekterat" är icke-reaktiva för HIV-1 RNA. Prover vars resultat listas som "< 30 detekterat" eller prover vars resultat listas inom och ovan det linjära intervallet indikerar att HIV-1 RNA har detekterats och att dessa prover är reaktiva för HIV-1 RNA.

Tabell 1: Tolkning av resultat

Rapporterat resultat av Aptima HIV-1 Quant-analys		Tolkning av HIV-1 RNA-koncentration	Användarens diagnostiskt-kvalitativa tolkning ^c
Kopior/mL ^a	Log ₁₀ -värde ^b		
Ej detekterat	Ej detekterat	HIV-1 RNA ej detekterat.	Icke-reaktivt för HIV-1 RNA
< 30 detekterat	< 1,47	HIV-1 RNA har detekterats, men på en nivå under den nedre kvantifieringsgränsen (Lower Limit of Quantitation, LLoQ).	Reaktivt för HIV-1 RNA
30 till 10 000 000	1,47 till 7,00	HIV-1 RNA-koncentrationen är inom det linjära intervallet på 30 till 10 000 000 kopior/mL.	Reaktivt för HIV-1 RNA
> 10 000 000	> 7,00	HIV-1 RNA-koncentrationen ligger över den övre kvantifieringsgränsen (Upper Limit of Quantitation, ULoQ).	Reaktivt för HIV-1 RNA
Ogiltigt ^d	Ogiltigt ^d	Det uppstod ett fel när resultatet genererades. Provet bör analyseras på nytt.	Ogiltigt ^d

^a Konverteringsfaktorn för kopior till internationella enheter (IE) för den tredje internationella standarden för HIV-1 RNA (10/152) är 0,35 kopior/IE.

^b Värdet trunckas till två decimaler.

^c En diagnostisk tolkning bör inte göras från ett "icke-reaktivt" resultat för prover som har späts ut. Samla in ett nytt utspätt prov och upprepa analysen.

^d Ogiltiga resultat visas med blå text.

När resultaten är tillgängliga på skärmen Resultat kan kvantifieringsvärdet för varje mål nås med hjälp av funktionen Provkurvsrapport i programvaran för Panther System. För att visa värdena och amplifieringskurvorna väljer du Prov-ID för provet på skärmen Resultat i programvaran för Panther System. Välj sedan knappen "Curve Data" (Kurvdata). Ett fönster öppnas med Provkurvsrapporten som inbegriper fluorescensprofiler och kvantifieringsvärden för provet.

Obs! Data som erhålls från provkurvsrapporten tillhandahålls endast i informationssyfte (t.ex. felsökning och kurvverifiering). Det validerade resultat som ska rapporteras för provet tillhandahålls av programvaran för Panther-systemet på skärmen Resultat och i rapporten Resultat.

Obs! Se Användarhandledning för Panther/Panther Fusion för ytterligare anvisningar beträffande drift av Panther-systemet.

Acceptanskriterierna för var och en av kontrollerna för Aptima HIV-1 Quant Dx Assay beskrivs i Tabell 2.

Obs! Återställningsintervallet som anges nedan förskjuts baserat på det tilldelade värdet för varje specifik batch. Se den tilldelade koncentrationen som anges på bipacksedeln för kontrollens streckodsblad som medföljer varje kontrollbox.

Tabell 2: Acceptanskriterier för återställningsintervall för Aptima HIV-1 Quant Dx Assay

Komponent	Återställningsintervall för giltiga körningar
Negativ kontroll	Saknas
Låg positiv kontroll	+/- 0,5 log ₁₀ kopior/mL
Hög positiv kontroll	+/- 0,5 log ₁₀ kopior/mL

Begränsningar

- A. Den här assayen får endast utföras av personal med utbildning i proceduren. Om anvisningarna i bipacksedeln inte följs finns det risk för felaktiga resultat.
- B. Pålitliga resultat förutsätter att prover tas, transporteras, förvaras och behandlas på ett korrekt sätt.
- C. Denna analys har validerats för användning som en kvantitativ analys med enbart human EDTA- och ACD-plasma.
- D. Denna analys har validerats för användning som en kvalitativ analys med human EDTA- och ACD-plasma och -serum.
- E. Mutationer, även om de är ovanliga, inom de väl konserverade områdena av det virala genomet som täcks av primrarna och/eller proberna i Aptima HIV-1 Quant Dx Assay, kan leda till underkvantifiering av eller omöjlighet att detektera viruset.
- F. Denna analys har inte validerats för användning på patienter som genomgår lentiviral vektorbaserad behandling, t.ex. CAR T-cellsterapi. Potentiellt överlappande områden av det virala genomet som täcks av primrarna och/eller proberna i Aptima HIV-1 Quant Dx Assay kan leda till amplifiering av lentivirala vektorer som används vid lentiviral vektorbaserad behandling.

Analytiska prestanda

Detekteringsgräns (Limit of Detection, LoD) vid användning av WHO:s tredje internationella HIV-1-standard

Detekteringsgränsen (LoD) definieras som den HIV-1 RNA-koncentration som detekteras vid en sannolikhet på 95 % eller högre, i enlighet med CLSI EP17-A2 (37). LoD fastställdes genom analys av paneler som bestod av utspädningar av WHO:s tredje internationella HIV-1-standard (subtyp B, NIBSC-kod: 10/152) i HIV-1-negativ EDTA-plasma och -serum. Trettio replikat av varje utspädning kördes på tre Panther System med tre reagensbatcher för totalt 90 replikat per utspädning. Enligt CLSI EP17-A2 definierades LoD:erna med användning av resultaten från reagensbatchen med den högsta koncentrationen för den förväntade detekteringsgränsen LoD och visas i Tabell 3. Genom Probit-analys är den 95 % predikterade detekteringsgränsen för LoD för Aptima HIV-1 Quant Dx Assay 12 kopior/mL (35 IE/mL) i plasma och 8,9 kopior/mL (25 IE/mL) i serum (0,35 kopior=1 IE).

Tabell 3: Detekteringsgräns för Aptima HIV-1 Quant Dx Assay vid användning av WHO:s tredje internationella HIV-1-standard

Förväntad detekteringsgräns	Plasma		Serum	
	Koncentration (kopior/mL)	Koncentration (IE/mL)	Koncentration (kopior/mL)	Koncentration (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

Detekteringsgräns för subtyper och grupper av HIV-1

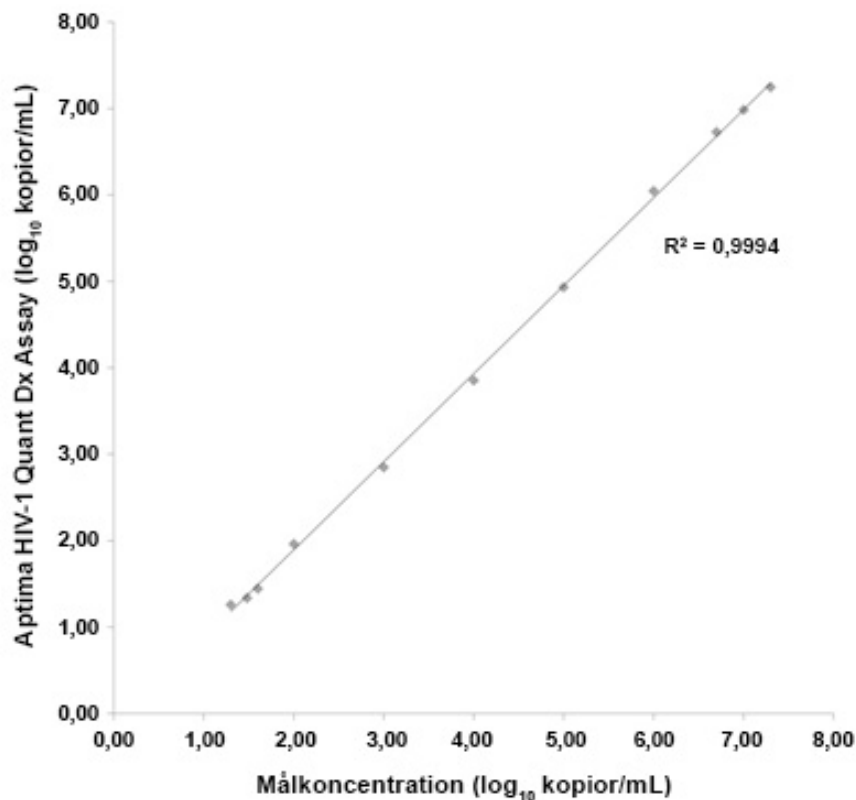
För HIV-1 grupp M (subtyp A, C, D, F, G, CRF01_AE, CRF02_AG) och grupp N och O skapades sex positiva paneler och en negativ panel genom att antingen odlat HIV-1 virus eller positiva kliniska prover spetsades med HIV-1-negativ human EDTA plasma och serum (0 till 40 kopior/mL). Varje panelmedlem analyserades i 30 replikat med två reagensbatcher för totalt 60 replikat per panelmedlem. Tilldelning av koncentration för kliniska prover eller odlade viruslager fastställdes med hjälp av en jämförelseanalys. En probit-analys utfördes i syfte att generera förväntade detekteringsgränser på 50 % och 95 %. Enligt CLSI EP17-A2 (37) definierades LoD:erna med användning av resultaten från reagensbatchen med den högsta koncentrationen för den förväntade detekteringsgränsen LoD och visas i Tabell 4.

Tabell 4: Detekteringsgräns för subtyper och grupper av HIV-1

Subtyp/grupp	Förväntad detekteringsgräns	Plasma	Serum
		Koncentration (kopior/mL)	Koncentration (kopior/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

Linjärt intervall

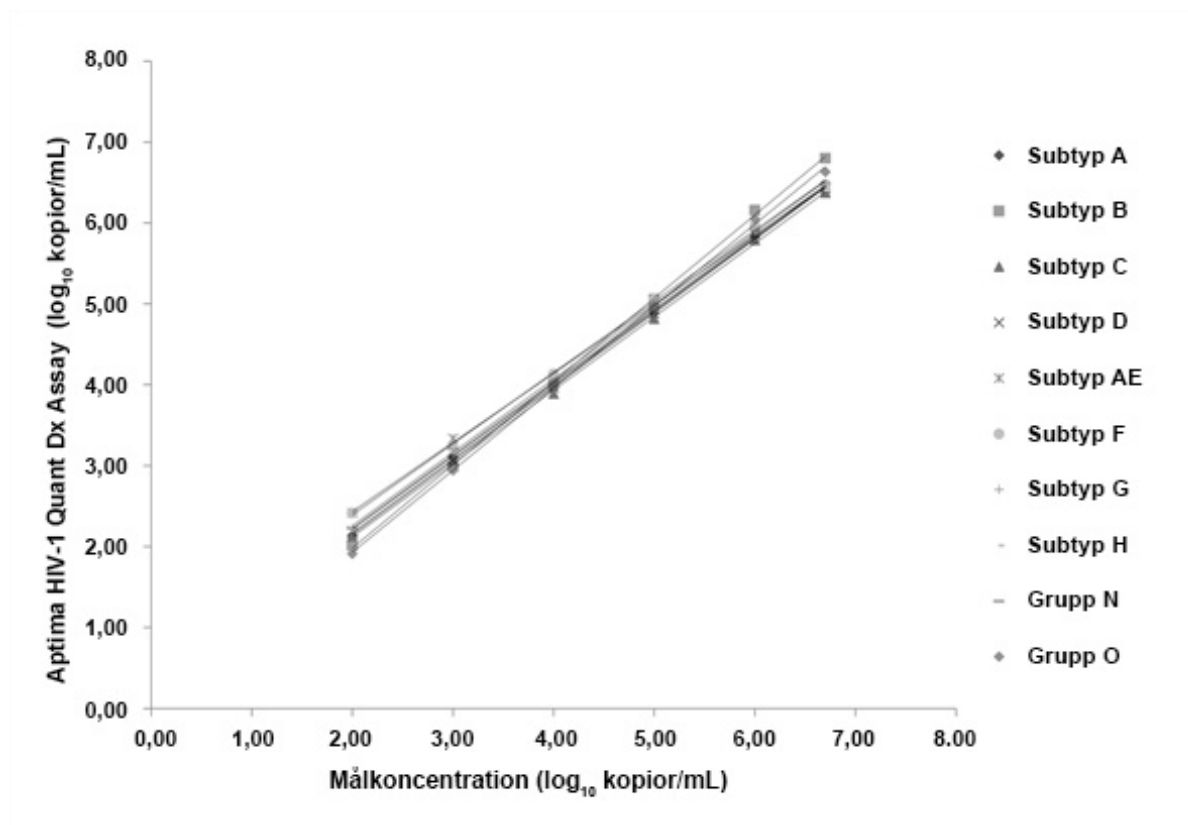
Det linjära intervallet för Aptima HIV-1 Quant Dx Assay fastställdes genom analys av paneler som bestod av odlat HIV-1 subtyp B-virus utspädd i HIV-1-negativ human EDTA-plasma enligt CLSI EP06-A (38). Panelernas koncentration sträckte sig från 1,30 till 7,30 $\log_{10}$ kopior/mL. Testerna utfördes på sju Panther System med två reagensbatcher. Enligt vad som visas i Figur 6 uppvisade Aptima HIV-1 Quant Dx Assay linjäritet på hela det analyserade intervallet.



Figur 6. Linjäriteten hos Aptima HIV-1 Quant Dx Assay

Linjäritet för subtyper och grupper av HIV-1

Linjäriteten hos Aptima HIV-1 Quant Dx Assay i grupp M (subtyp A, B, C, D, F, G, H, CRF01_AE) och grupp N och O bekräftades genom analys av paneler som bestod av HIV-1-transkript utspädd i buffert vid koncentrationer från 2,00 till 6,70 log₁₀ kopior/mL. Analyserna utfördes på fyra Panther System och i sex körningar. Linjäritet påvisades över hela det analyserade intervallet (Figur 7).



Figur 7. Linjäritet i grupp M (subtyp A, B, C, D, F, G, H, CRF01_AE) och grupp N och O

Bestämning av nedre kvantifieringsgräns vid användning av WHO:s tredje internationella HIV-1-standard

Nedre kvantifieringsgränsen definieras som den lägsta koncentration vid vilken HIV-1 RNA är tillförlitligt kvantifierat inom en felmarginal (TE), enligt CLSI EP17-A2 (37). TE beräknades med Westgard-modellen ($TE = |bias| + 2SD$). För att garantera mätningarnas noggrannhet och precision bestämdes totalfelmarginalen för Aptima HIV-1 Quant Dx-analysen till $1 \log_{10}$ kopior/mL (det vill säga att vid nedre kvantifieringsgränsen är skillnaden mellan två mätningar av mer än $1 \log_{10}$ kopior/mL statistiskt signifikant).

Den nedre kvantifieringsgränsen fastställdes genom analys av paneler som bestod av utspädningar av WHO:s tredje internationella HIV-1-standard (subtyp B, NIBSC-kod: 10/152) i HIV-1-negativ human EDTA-plasma. Enligt CLSI EP17-A2 analyserades panelerna med tre reagensbatcher i replikat om 30 för varje batch från 23 körningar. Resultaten visas i Tabell 5. Den högsta nedre kvantifieringsgränsen för de tre batcherna som har analyserats på Aptima HIV-1 Quant Dx Assay med hjälp av WHO:s tredje internationella HIV-1-standard är 15 kopior/mL ($1,17 \log_{10}$ kopior/mL) (Tabell 6).

Tabell 5: Bestämning av nedre kvantifieringsgräns för Aptima HIV-1 Quant Dx Assay vid användning av WHO:s tredje internationella HIV-1-standard

Reagens- batch	Målkoncentration ($\log_{10}$ kopior/mL)	Aptima HIV-1 Quant Dx ($\log_{10}$ kopior/mL)	SD ($\log_{10}$ kopior/mL)	Bias ($\log_{10}$ kopior/mL)	Beräknat TE ($\log_{10}$ kopior/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 = standardavvikelse TE = felmarginal.

Tabell 6: : Sammanfattning av nedre kvantifieringsgräns vid användning av WHO:s tredje internationella HIV-1-standard (tre reagensbatcher)

Reagensbatch	Nedre kvantifieringsgräns (log ₁₀ kopior/mL)	Nedre kvantifieringsgräns (kopior/mL)
1	0,94	8,7
2	1,17	15
3	0,98	9,5

Verifiering av nedre kvantifieringsgräns för subtyper och grupper av HIV-1

Nedre kvantifieringsgräns i subtyper och grupper av HIV-1 verifierades enligt CLSI EP17-A2 (37). Paneler gjordes för varje HIV-1-grupp M (subtyp A, B, C, D, F, G, CRF01_AE, CRF02_AG) och grupp N och O genom att spetsa poolad HIV-1-negativ human EDTA-plasma med antingen naturligt infekterade kliniska prover eller kliniska isolat. Analysen bestod av totalt 30 replikat per panelmedlem. Uppgifterna i Tabell 7 visar den lägsta koncentrationen för varje subtyp eller grupp vid vilken TE var mindre än 1 log₁₀ kopior/mL. Det högsta nedre kvantifieringsgränsvärdet för alla analyserade subtyper och grupper var 30 kopior/mL; detta högre värde valdes därför som LLoQ för Aptima HIV-1 Quant Dx Assay (Tabell 7).

Tabell 7: Verifiering av nedre kvantifieringsgräns enligt subtyp och grupp av HIV-1

Panel	Nedre kvantifieringsgräns (kopior/mL)
Subtyp A	30
Subtyp CRF01_AE	10
Subtyp CRF02_AG	30
Subtyp B	10
Subtyp C	30
Subtyp D	15
Subtyp F	15
Subtyp G	30
Grupp N	10
Grupp O	15

Precision

För att bedöma precisionen hos Aptima HIV-1 Quant Dx Assay analyserades en panel som satts samman genom att spetsa odlad HIV-1 subtyp B-virus i HIV-1-negativ EDTA-plasma av tre operatörer med tre reagensbatcher på tre Panther System i 20 dagar (Tabell 8). Panelen bestod av en HIV-1-negativ panelmedlem och åtta HIV-1-positiva panelmedlemmar. Tilldelning av koncentration för kliniska prover eller odlade viruslager fastställdes med hjälp av en jämförelseanalys.

Tabell 8: Precision hos Aptima HIV-1 Quant Dx Assay

Antal giltiga replikat	Medelkoncentration (log ₁₀ kopior/mL)	Mellan instrument		Mellan operatörer		Mellan batcher		Mellan körningar		Inom körning		Totalt	
		SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
137	1,80	0,00	0,00	0,03	1,72	0,00	0,00	0,00	0,00	0,16	8,93	0,16	9,10
157	2,37	0,00	0,00	0,05	2,08	0,01	0,36	0,08	3,33	0,15	6,19	0,17	7,34
160	2,47 ^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 = variationskoefficient, SD = standardavvikelse.

^a Den här panelmedlemmen späddes ut 1:3 med provspädningsmedel och analyserades för utvärdering av det utspädda provets precision.

Obs! Variabiliteten för vissa faktorer kan vara numeriskt negativ, vilket kan inträffa om variabiliteten på grund av dessa faktorer är mycket liten. När detta sker är SD = 0 och CV = 0 %. Det totala antalet analyserade replikat var 162 för varje panel; endast replikat med ett numeriskt värde analyserades.

Potentiellt interfererande endogena och exogena substanser

Känsligheten hos Aptima HIV-1 Quant Dx Assay för interferens från förhöjda nivåer av endogena substanser och läkemedel som ofta ordineras till personer som är infekterade med HIV-1 utvärderades. HIV-1-negativa humana EDTA-plasmaprover från människa och prover med tillsats HIV-1 till en koncentration av $3 \log_{10}$ kopior/mL av HIV-1 RNA analyserades.

Ingen interferens observerades gällande resultaten för Aptima HIV-1 Quant Dx Assay i närvaro av albumin (90 mg/mL), hemoglobin (5 mg/mL), triglycerider (30 mg/mL) eller okonjugerat bilirubin (0,2 mg/mL).

Ingen interferens observerades gällande resultaten för Aptima HIV-1 Quant Dx Assay i närvaro av de exogena substanser som anges i Tabell 9 vid koncentrationer på minst tre gånger $C_{\max}$ (human plasma).

Tabell 9: Exogena substanser

Exogen substanspoolning	Analyserade exogena substanser
1	Lopinavir, indinavir, saquinavir, ritonavir, nelfinavirmesylat, darunavir, amprenavir, atazanavir
2	Nevirapin, efavirenz, rilpivirin, klaritromycin, amfotericin B
3	Tenofovirdisoproxilfumarat, adefovirdipivoxil, ribavirin, enfuvirtid, maravirok, raltegravir, dolutegravir
4	Abakavirsulfat, didanosin, zidovudin, lamivudin, stavudin, entekavir, telbivudin, emtricitabin
5	Paroxetin HCl, fluoxetin, sertralin
6	Ganciklovir, valacyklovir, aciklovir, rifampin/rifampicin, etambutol
7	Ciprofloxacin, azitromycin, amoxicillin, cefalexin, ampicillin, trimetoprim
8	Valganciklovirhydroklorid, boceprevir, telaprevir, simeprevir, sofosbuvir
9	Pegylerad alfa-interferon-2b, alfa-interferon-2a, alfa-interferon-2b
10	Heparin, EDTA, natriumcitrat
11	Tipranavir
12	Isoniazid

Kliniska EDTA-plasmaprover som anges i Tabell 10 från patienter med förhöjda nivåer av definierade ämnen eller från patienter med de sjukdomar som anges analyserades med Aptima HIV-1 Quant Dx Assay med och utan förekomst av 3 log₁₀ kopior av HIV-1 RNA. Ingen interferens gällande resultaten observerades.

Tabell 10: Typer av kliniska prover som analyserats

Kliniska provtyper	
1	Reumatoid faktor (RF)
2	Antinukleär antikropp (ANA)
3	Anti-Jo-1-antikropp (JO-1)
4	Systemisk lupus erythematosus (SLE)
5	Ledgångsreumatism (RA)
6	Multipel skleros (MS)
7	Hyperglobulinemi
8	Förhöjd alaninaminotransferas (ALT)
9	Alkoholcirros (AC)
10	Multipelt myelom (MM)
11	Lipemiska (förhöjda lipidnivåer)
12	Ikteriska (förhöjda bilirubinnivåer)
13	Hemolyserade (förhöjda hemoglobinnivåer)
14	Förhöjt proteinalbumin
15	HCV-antikroppar
16	HBV-antikroppar
17	HIV-2-antikroppar

Prestanda med HIV-1-negativa prover

Specificiteten för Aptima HIV-1 Quant Dx Assay fastställdes med hjälp av 120 färsk och 510 frysta HIV-1-negativa EDTA-plasmaprover. HIV-1 RNA kunde inte påvisas i alla 630 prover (specificitet 100 %; 95 % CI: 99,4–100 %) (Tabell 11).

Tabell 11: Specificitet i plasmaprover

	Färsk plasma	Fryst plasma	Alla
Giltiga replikat (n)	120	510	630
Icke-reaktiv	120	510	630
Specificitet (95 % CI)	100% (97,0–100)	100% (99,3–100)	100% (99,4–100)

CI=konfidensintervall

Potentiellt interfererande mikrobiella föroreningar

Potentiell överkorsningsreaktivitet mot patogener (Tabell 12) utvärderades i Aptima HIV-1 Quant Dx Assay i närvaro eller frånvaro av 3 log₁₀ kopior/mL HIV-1 RNA i HIV-1-negativ human EDTA-plasma. Ingen interferens observerades gällande analysens resultat i närvaro av de patogenerna.

Tabell 12: Patogener som har analyserats för överkorsningsreaktivitet

Patogen	Koncentration
Hepatit A-virus	100 000 PFU/mL ^a
Hepatit B-virus	100 000 IE/mL ^b
Hepatit C-virus	100 000 IE/mL
Hepatit G-virus	100 000 kopior/mL
Herpes simplex-virus 1 (HSV-1)	100 000 PFU/mL
Herpes simplex-virus 2 (HSV-2)	75 000 PFU/mL
Humant herpesvirus 6	100 000 kopior/mL
Humant herpesvirus 8	42 000 PFU/mL
HIV-2	5 500 PFU/mL
Humant lyfotropiskt T-cellsvirus (HTLV)	100 000 vp/mL ^c
West Nile-virus	100 000 kopior/mL
Parvovirus B19	100 000 IE/mL
Cytomegalovirus	100 000 kopior/mL
Epstein-Barrvirus	100 000 kopior/mL
Adenovirus typ 5	100 000 PFU/mL
Denguevirus	100 000 kopior/mL
Influensa A-virus	100 000 PFU/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 = plackbildande enheter per mL.^b IE/mL = internationella enheter per mL.^c vp/mL = viruspartiklar per mL.^d CFU/mL = kolonibildande enheter per mL.^e IFU/mL = inklusionsbildande enheter per mL.

Repeterbarhet för kliniska prover

Tio kliniska EDTA-plasmaprover och tio serumprover analyserades i tre replikat med Aptima HIV-1 Quant Dx Assay. Den genomsnittliga koncentrationen och standardavvikelsen (SD) visas i Tabell 13 och Tabell 14.

Tabell 13: Repeterbarhet för kliniska plasmaprover

Provmaterial	Plasma	
	Genomsnittlig koncentration (log ₁₀ kopior/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 = standardavvikelse

Tabell 14: Repeterbarhet för kliniska serumprover

Provmaterial	Serum	
	Genomsnittlig koncentration (log ₁₀ kopior/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 = standardavvikelse

Provutspädning med provspädningsmedel

För att utvärdera provutspädningen analyserades en panel som bestod av 11 prover med koncentrationer som spände över det linjära området för Aptima HIV-1 Quant Dx Assay och som bestod av två prover över den övre kvantifieringsgränsen för analysen, rena och utspädda (1:3 eller 1:100 i provspädningsmedel) i tre exemplar (Tabell 15).

Tabell 15: Provutspädning

Utspädning	Genomsnittlig ren koncentration (log ₁₀ kopior/mL)	Genomsnittlig rapporterad koncentration ^a (log ₁₀ kopior/mL)	Skillnad
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 Rapporterad koncentration är det värde som Panther-systemet rapporterar efter det att utspädningsfaktorn har tillämpats.

^b Prov med tillsats.

^c Alla resultat > 7,00 log₁₀ kopior/mL uppskattades med hjälp av ytterligare analys.

Överföring

För att etablera att Panther System minimerar risken för falskt positiva resultat på grund av överföring av kontaminering, utfördes en analytisk studie med flera analyskörningar med "spetsade" paneler i två Panther-system. Överföring bedömdes med användning av prover med tillsats av HIV-1 med höga titrer (7 log₁₀ kopior/mL) spridda mellan HIV-1-negativa prover i ett schackrutigt mönster. Analysen gjordes över fem körningar. Den övergripande överföringen var 0 % (n=469).

Serokonverteringspanel

Nitton HIV-1 serokonverteringspaneler, bestående av 204 prover, analyserades med Aptima HIV-1 Quant Dx Assay. Detektering av HIV-1 RNA jämfördes med detektering med p24-antigenanalyser och med HIV-1/2-antikroppsanalyser. Antal dagar till det första reaktiva resultatet vid test av p24-antigen, anti-HIV 1/2-antikroppstester och Aptima HIV-1 Quant Dx Assay anges i Tabell 16. Aptima HIV-1 Quant Dx Assay detekterade HIV-1 RNA i genomsnitt 5,58 och 11,16 dagar före p24 antigen- och anti-HIV 1/2 antikroppstester.

Tabell 16: Sammanfattning av serokonverteringspaneldata

Panel-ID	Antal analyserade panelmedlemmar	Antal reaktiva panelmedlemmar			Dagar till första reaktiva resultat			Skillnad i dagar till första reaktiva resultat (baserat på luftningsdatum)	
		Aptima HIV-1 Quant Dx	HIV p24-antigen	Anti HIV 1/2-antikropp	Aptima HIV-1 Quant Dx	HIV p24-antigen	Anti HIV 1/2-antikropp	Dagar tidigare detektering än HIV p24-antigen	Dagar tidigare detektering än antikropp mot HIV 1/2
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
Totalt	204	82	51	20			Medelvärde Median	5,58 7	11,16 12

^a All luftning i den här panelen var icke-reaktiv för antikroppen mot HIV 1/2. Sista luftningsdag användes som "Dagar till första reaktiva resultat".

Testning av antikroppar mot HIV-1/2 utfördes med Abbot Anti-HIV 1/2, med följande undantag:

^b Panel PRB974, PRB975 och PRB978 analyserades med Siemens Anti-HIV 1/2-analysen.

HIV-1 p24 antigen-analys utfördes med Coulter HIV-1 p24 Ag, med följande undantag:

^b Panelerna PRB974, PRB975 och PRB978 analyserades med BioMerieux p24 Ag-analysen.

Serum, plasmaekvivalensstudie

För att bedöma likvärdigheten analyserades matchade uppsättningar av serum och plasma (25 HIV-1-positiva och 25 HIV-1-negativa) och 40 prover som spetsats med odlad HIV-1 (50–1 000 000 kopior/mL i HIV-1-negativ plasma och serum) med Aptima HIV-1 Quant Dx Assay. Negativ överensstämmelse var 100,0 % (95 % CI: 97,0–100,0 %). Positiv överensstämmelse var 98,4 % (95 % CI: 95,4–99,5 %).

Reproducerbarhetsstudier

Reproducerbarhet i plasmaprover

Reproducerbarhet hos Aptima HIV-1 Quant Dx Assay i plasmaprover utvärderades på 3 externa platser. Två operatörer utförde analys på respektive plats. Varje operatör utförde två körningar per dag i tre dagar, med tre reagensbatcher under analysens gång. Varje körning hade tre replikat av varje panelmedlem.

Reproducerbarheten analyserades med användning av panelmedlemmar som bestod av HIV-1-negativ EDTA-plasma. De positiva panelmedlemmarna skapades genom att spetsa den negativa plasman med odlad virus (HIV-1 subtyp B) i koncentrationer som spände över det linjära området för Aptima HIV-1 Quant Dx Assay.

Tabell 17 visar reproducerbarheten och precisionen hos analysresultaten för varje positiv panelmedlem mellan platser, mellan operatörer, mellan batcher, mellan dagar, mellan och inom körningar samt totalt. När endast prover med resultat över den nedre kvantifieringsgränsen (LLoQ) inkluderades (prover med resultat under LLoQ uteslöts) var den totala SD $\leq 0,2 \log_{10}$ kopior/mL för alla panelmedlemmar. När alla prover med detekterbart HIV-1 RNA inkluderades förblev de totala SD-värdena oförändrade utom för panelmedlem 1, som hade en total SD på $0,3 \log_{10}$ kopior/mL.

För alla HIV-1-positiva panelmedlemmar var överensstämmelsevärdena 100 %. För den HIV-1-negativa panelmedlemmen analyserades 108 replikat och HIV-1 RNA detekterades inte i samtliga 108 replikat (negativ överensstämmelse = 100 %, 95 % Poäng CI: 96,6 % till 100 %).

Tabell 17: Reproducerbarhet och precision för Aptima HIV-1 Quant Dx Assay på Panther System hos positiva plasmampanelmedlemmar

Panel	N ^a	Medelvärde Log ₁₀ kopior/mL	Mellan platser		Mellan operatörer		Mellan batcher		Mellan dagar		Mellan körningar		Inom körningar		Totalt	
			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 = variationskoefficient, SD = standardavvikelse

^a Antal giltiga analysresultat med detekterbart HIV-1 RNA.

^b Inkluderar 22 replikat som rapporterats som < 1,47 log₁₀ kopior/mL. Detta prov hade ett tilldelat värde på 1,176 log₁₀ kopior/mL.

^c Antal giltiga resultat inom analysens linjära område.

^d Inkluderar ett replikat som rapporterats som > 7 log₁₀ kopior/mL. Detta prov hade ett tilldelat värde på 7,18 log₁₀ kopior/mL.

Obs! Variabiliteten för vissa faktorer kan vara numeriskt negativ. Detta kan inträffa om variabiliteten på grund av dessa faktorer är mycket liten (mindre än 0,01). I dessa fall visas SD och CV som 0.

Reproducerbarhet i serumprover

Reproducerbarheten för Aptima HIV-1 Quant Dx Assay i serumprover utvärderades på 3 externa inrättningar. Två operatörer utförde analys på respektive plats. Varje operatör utförde 1 körning per dag i 5 dagar med 1 reagensbatch under analysens gång. Varje körning hade tre replikat av varje panelmedlem.

Reproducerbarheten analyserades med användning av panelmedlemmar som preparerats med HIV-1-negativt serum. Två positiva panelmedlemmar skapades genom att spetsa den negativa serummatrisen med 3X-5X LoD- och 10X LoD-koncentrationer av odlat virus (HIV-1 subtyp B).

Tabell 18 visar reproducerbarheten och precisionen hos analysresultaten för varje positiv panelmedlem mellan platser, mellan operatörer, mellan dagar, mellan körningar, inom körningar samt totalt.

För alla HIV-1-positiva panelmedlemmar var överensstämmelsevärdena 100 %. För den HIV-1-negativa panelmedlemmen analyserades 90 replikat och HIV-1 RNA detekterades inte i 89/90 replikat (negativ överensstämmelse = 98,9 %, 95 % Poäng CI: 94,0 % till 99,8 %).

Tabell 18: Reproducerbarhet och precision för Aptima HIV-1 Quant Dx Assay på Panther System hos positiva serumpanelmedlemmar

Panel	N	Medellog ₁₀ kopior/mL	Mellan platser		Mellan operatörer		Mellan dagar		Mellan körningar		Inom körningar		Totalt	
			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-normal variationskoefficient, SD=standardavvikelse (log₁₀ kopior/mL).

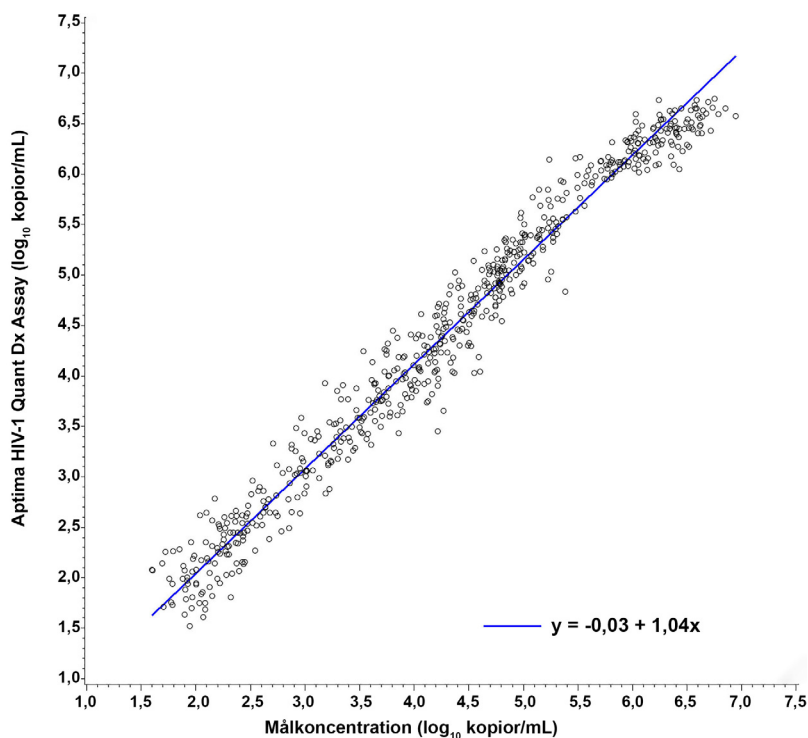
Obs! Variabiliteten från vissa faktorer kan vara numeriskt negativ. Detta kan ske om variabiliteten är mycket liten på grund av dessa faktorer. I dessa fall visas SD och CV som 0,00.

Kliniska prestanda

Validering av kvantifieringen av virusbelastning

Kvantifieringen av HIV-1 RNA jämfördes mellan Aptima HIV-1 Quant Dx Assay och en jämförande assay. Studien omfattade analys av kliniska EDTA-plasmaprover (lagrade färskas eller frysta) och konstruerade prover (odlat virus som spetsats i negativa kliniska plasmaprover). Varje prov analyserades i duplikat med Aptima HIV-1 Quant Dx Assay och jämförelseassayen. Testningen med Aptima HIV-1 Quant Dx Assay utfördes vid 3 externa inrättningar, där varje inrättning använde 3 reagenssatsbatcher; analys med jämförelseassay utfördes vid 1 externt laboratorium.

628 matchade uppsättningar prover (inom det linjära området för båda analyserna) skapade från 484 registrerade forskningspersoner och 144 konstruerade prover analyserades med Aptima HIV-1 Quant Dx Assay och jämförelseanalysen. Figur 8 visar resultatet av Deming-regressionsanalysen ($y = -0,03 + 1,04x$).



Figur 8. Korrelation mellan Aptima HIV-1 Quant Dx Assay och jämförelseanalysen

Kliniska specificitetsstudier

Klinisk specificitet i HIV-1-negativa prover

Tidigare frysta HIV-1-negativa EDTA-plasmaprover från frivilliga helblodsgivare analyserades med Aptima HIV-1 Quant Dx Assay. Analyserna utfördes med 3 reagenssatsbatcher på 3 externa inrättningar. Den kliniska specificiteten beräknades som procentandelen HIV-1-negativa prover med resultatet "Ej detekterat". Sexhundra (600) HIV-1-negativa plasmaprover analyserades och HIV-1 RNA kunde inte påvisas i samtliga 600 prover. Specificiteten i negativa plasmaprover var 100 % (600/600, 95 % Poäng CI): 99,4 % till 100 %).

Klinisk specificitet i lågriskpopulation

Tidigare frysta prover från förstagångsblodgivare och icke-blodgivare med låg risk för HIV-1-infektion analyserades med Aptima HIV-1 Quant Dx Assay. Analyserna utfördes med 1 reagenssatsbatch på 1 extern inrättning. Den kliniska specificiteten beräknades genom att jämföra resultaten för Aptima HIV-1 Quant Dx Assay med godkända NAT-analysresultat.

Tabell 19 visar specificiteten för Aptima HIV-1 Quant Dx Assay i en lågriskpopulation per provtyp.

Tabell 19: Klinisk specificitet för Aptima HIV-1 Quant Dx Assay i en lågriskpopulation per provtyp

Provtyp	n	TP	FP	TN	FN	Specificitet % (95 % CI) ^a
Alla	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)

CI = konfidensintervall, FN = falskt negativ, FP = falskt positiv, TN = sant negativ, TP = sant positiv.

^aClopper-Pearson CI.

^b1 av 2 serumprover med falskt positiva resultat var positiva när de analyserades med en fjärde generationens HIV-1/HIV-2 antigen/antikropp-kombinationsimmunanalys.

Kliniska sensitivitetsstudier

Klinisk sensitivitet i HIV-1-positiva prover

Tidigare frysta HIV-1-positiva prover analyserades med Aptima HIV-1 Quant Dx Assay. Analys utfördes med 2 reagenssatsbatcher på 3 inrättningar, varav 2 externa inrättningar.

Tabell 20 visar sensitiviteten för Aptima HIV 1 Quant Dx Assay i positiva prover per provtyp.

Tabell 20: Klinisk sensitivitet för Aptima HIV-1 Quant Dx Assay i HIV-1-positiva prover per provtyp

Provtyp	n	TP	FN	Sensitivitet % (95 % CI) ^a
Alla	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)

CI = konfidensintervall, FN = falskt negativ, TP = sant positiv.

^aClopper-Pearson CI.

Klinisk sensitivitet i högriskpopulation

Prospektivt insamlade prover från individer med hög risk för HIV-1-infektion analyserades med Aptima HIV-1 Quant Dx Assay. Analys utfördes med 1 reagenssatsbatch på 3 inrättningar, varav 2 externa inrättningar. Den kliniska sensitiviteten beräknades genom att jämföra resultaten för Aptima HIV-1 Quant Dx Assay med NAT-assayresultat.

Av de 498 utvärderingsbara proverna var 332 plasmaprover och 166 serumprover. Den kliniska sensitiviteten var 100 % (1/1, 95 % CI: 20,7 % till 100 %) i serumprover. Sensitiviteten kunde inte bedömas i plasmaprover eftersom inga prover med sant positiva eller falskt negativa assayresultat observerades.

Positivitet i serodiskordanta prover

Tidigare frysta serodiskordanta prover (dvs. upprepat reaktiva på en initial HIV-immunassay och ej bestämbara eller negativa på en kompletterande immunassay) togs från blodgivare och icke-blodgivare analyserades med Aptima HIV-1 Quant Dx Assay. Av 473 utvärderingsbara prover valdes 76 ut från serokonverteringspaneler. Analysen utfördes med 2 reagenssatsbatcher på 1 intern inrättning. Positiviteten beräknades för serodiskordanta prover som analyserats med Aptima HIV-1 Quant Dx Assay.

Tabell 21 visar positiviteten för Aptima HIV-1 Quant Dx Assay i serodiskordanta prover efter provgrupp, typ av kompletterande HIV-analys och resultat av kompletterande HIV-analys.

Tabell 21: Positivitet för Aptima HIV-1 Quant Dx Assay i serodiskordanta prover

Kompletterande analysresultat Testtyp	Kompletterande analysresultat Testresultat	Positivitet % (n/N) 95 % CI ^a		
		Icke-serokonvertering Panelgrupp		Serokonvertering Panelgrupp
		3:e generationen	4:e generationen	4:e generationen
HIV-1/2 immunkromatografisk	Negativ	Saknas	0,0 (0/11) 0,0–25,9	100 (6/6) 61,0–100
HIV-1/2 immunkromatografisk	Ej bestämbar	Saknas	100 (1/1) 20,7–100	100 (1/1) 20,7–100
HIV-1/2 Rapid	Negativ	Saknas	0,0 (0/11) 0,0–25,9	100 (24/24) 86,2–100
HIV-1/2 Rapid	Ej bestämbar	Saknas	0,0 (0/2) 0,0–65,8	Saknas
HIV-1 WB eller IFA	Negativ	0,4 (1/239) 0,1–2,3	100 (4/4) 51,0–100	100 (35/35) 90,1–100
HIV-1 WB eller IFA	Ej bestämbar	0,0 (0/128) 0,0–2,9	100 (1/1) 20,7–100	100 (10/10) 72,2–100

3:e generationen = tredje generationens immunanalis, 4:e generationen = fjärde generationens immunanalis,
CI = konfidensintervall, IFA = indirekt immunfluorescensanalys, N/A = ej tillämplig, WB = Western blot.

^a Poäng CI.

Referenser

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.

Kontaktinformation och revisionshistorik



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



Hologic BV
Da Vinci laan 5
1930 Zaventem
Belgium

Australisk sponsor
Hologic (Australien och
Nya Zeeland) Pty Ltd.
Macquarie Park NSW 2113

För landsspecifik teknisk support samt e-postadress och telefonnummer till kundservice, besök www.hologic.com/support.

Allvarliga incidenter som inträffar i samband med produkten i Europeiska unionen bör rapporteras till tillverkaren och den behöriga myndigheten i den medlemsstat där användaren och/eller patienten är etablerad.

Hologic, Aptima, Panther, Panther Fusion och motsvarande logotyper är varumärken eller registrerade varumärken som tillhör Hologic, Inc. och/eller dess dotterbolag i USA och/eller andra länder.

Armored RNA är ett varumärke som tillhör Asuragen, Inc.

Andra varumärken som kan förekomma i denna bipacksedel tillhör respektive ägare.

Den här produkten omfattas eventuellt av ett eller flera USA-patent som anges på www.hologic.com/patents.

© 2020–2025 Hologic, Inc. Med ensamrätt.

AW-28214-1601 Rev. 002

2025-10

Revisionshistorik	Datum	Beskrivning
AW-28214-1601 Rev. 001	April 2025	Första versionen för att uppfylla IVDR-kraven.
AW-28214-1601 Rev. 002	Oktober 2025	Denna version överensstämmer med AW-28214-001 Rev. 002 & Rev. 003 (This version aligns with AW-28214-001 Rev. 002 & Rev. 003).