

Aptima® HIV-1 Quant Dx Assay

Instruktioner for brug
Til *in vitro*-diagnostisk brug
Kun til eksport fra USA

Generelle oplysninger	3
Tilsluttet anvendelse	3
Oversigt og forklaring af testen	3
Procedureprincipper	4
Oversigt over sikkerhed og præstation	5
Advarsler og forholdsregler	5
Krav til opbevaring og håndtering af reagenser	9
Udtagning og opbevaring af prøve	10
Prøver på Panther System	13
Prøvetransport	13
Panther System	14
Vedlagte reagenser og materialer	14
Nødvendige materialer, der skal anskaffes separat	16
Valgfri materialer	17
Testprocedure til Panther System	17
Bemærkninger til fremgangsmåden	21
Kvalitetskontrol	22
Kalibrering af assayet	22
Negative og positive kontroller	22
Intern kalibrator/intern kontrol	22
Tolkning af resultater	23
Begrænsninger	25
Analytisk præstation	26
Detektionsgrænse (LoD) ved brug af den 3. internationale WHO-standard for HIV-1	26
Detektionsgrænse på tværs af HIV-1-undertyper og -grupper	27
Lineært område	28
Linearitet på tværs af HIV-1-undertyper og -grupper	29
Bestemmelse af nedre kvantiteringsgrænse ved brug af den 3. internationale WHO-standard for HIV-1	30
Verifikation af LLoQ på tværs af HIV-1-undertyper og -grupper	31
Præcision	32
Potentielt interfererende endogene og eksogene stoffer	33
Præstation med HIV-1-negative prøver	35
Potentielt interfererende mikrobielle kontaminanter	35
Reproducerbarhed af kliniske prøver	37
Fortynding af prøve ved brug af prøvefortynder	38
Overførsel	38
Serokonverteringspanel	39
Undersøgelse af ækvivalens for serum, plasma	40
Reproducerbarhedsundersøgelser	40

Klinisk præstation	43
Validering af viral load-quantitering	43
Undersøgelse af klinisk specificitet	44
Undersøgelse af klinisk sensitivitet	44
Positivitet i serodiskordante prøver	45
Bibliografi	46
Kontaktoplysninger og revisionshistorik	48

Generelle oplysninger

Tilsigtet anvendelse

Aptima® HIV-1 Quant Dx-assayet er en in vitro-nukleinsyreamplifikationstest til detektion og kvantitering af humant immundefektvirus type 1 (HIV-1) RNA-grupper M, N og O på det helautomatiske Panther™-system. Det er beregnet til brug som en hjælp til diagnosticering af HIV-1-infektion, som en bekræftelse af HIV-1-infektion og som en hjælp til klinisk behandling af patienter, der er inficeret med HIV-1.

Aptima HIV-1 Quant Dx-assayet kan anvendes som hjælp til diagnosticering af HIV-1-infektion, inklusive akut eller primær infektion. Forekomst af HIV-1 RNA i patienters plasma eller serum uden antistoffer for HIV-1 tyder på akut eller primær HIV-1 infektion. Aptima HIV-1 Quant Dx-assay kan bruges som en supplerende test for prøver, der har gentagne reaktive resultater med godkendte HIV-immunoassays. Hvis prøven er reaktiv med Aptima HIV-1 Quant Dx-assay, er HIV-1-infektion bekræftet.

Aptima HIV-1 Quant Dx-assayet kan også bruges sammen med klinisk præsentation og andre laboriemarkører for sygdomsprognose hos HIV-1-inficerede individer. Aptima HIV-1 Quant Dx assayet kan anvendes som en hjælp til overvågning af effekten af antiretroviral behandling ved at måle ændringer i koncentrationen af HIV-1 RNA i plasma.

Når Aptima HIV-1 Quant Dx-assayet anvendes som en hjælp til diagnosticering af HIV-1 infektion, dokumenteres opnåelsen af kvalitative resultater med både plasma- og serumprøver.* Når det anvendes som en hjælp til overvågning af effekten af antiretroviral behandling, fastslås præstationen for kvantitative resultater kun med plasmaprøver. Serumprøver må ikke bruges til kvantitative resultater.

Dette assay er ikke beregnet til brug ved screening af blod- eller plasmadonorer.

**Tørblodsprøver (DBS) kan også anvendes med Aptima HIV-1 Quant Dx-assay. For at få en fuld beskrivelse af den tilsigtede brug af og information om DBS-prøver bedes du se tillægget om tørblodsprøver til indlægssedlen til Aptima HIV-1 Quant Dx-assayet.*

Oversigt og forklaring af testen

Epidemiologiske undersøgelser har identificeret humant immundefektvirus type 1 (HIV-1) som den ætiologiske årsag til erhvervet immundefektsyndrom (AIDS) (1-7). HIV kan overføres ved seksuel kontakt, udsættelse for inficeret blod eller blodprodukter, eller fra en HIV-positiv moder til fosteret (8). Inden for 3 til 6 uger efter udsættelse for HIV udvikler inficerede personer generelt et kortvarigt, akut syndrom, der er karakteriseret ved influenzalignende symptomer, og som er associeret med høje niveauer af viræmi i det perifere blod (9-12). Hos de fleste smittede personer efterfølges denne tidlige fase af HIV-specifik immunrespons og et fald i plasmaviræmi, normalt inden for 4 til 6 uger efter symptomernes opståen (13-14). Efter serokonvertering går inficerede personer typisk ind i en klinisk stabil, asymptomatisk fase, der kan vare i mange år (15-17). Den asymptomatiske periode er kendetegnet ved vedvarende, lav-niveau-plasmaviræmi (18) og en gradvis depletering af CD4+ T-lymfocytter. Denne depletering fører til alvorlig immundefekt, flere opportunistiske infektioner, maligniteter og død (19). Selvom virusniveauerne i det perifere blod er relativt lave i den asymptomatiske fase af infektionen, ser virusreplikation og clearance ud til at være dynamiske processer, hvor høje rater af virusproduktion og infektion af CD4+-celler opvejes af lige så høje rater af virusclearance, celledød hos inficerede celler og genopfyldning af CD4+-celler, hvilket resulterer i relativt stabile niveauer af både plasmaviræmi og CD4+-celler (20-22).

Kvantitative målinger af HIV i det perifere blod har vist, at højere virusniveauer kan være associeret med øget risiko for klinisk progression af HIV-associeret sygdom – og vist, at reduktioner i plasmavirusniveauer kan være associeret med nedsat risiko for klinisk progression (23-25). Virusniveauer i perifert blod kan kvantiteres ved måling af HIV p24-antigenet i serum, ved kvantitativ kultur af HIV fra plasma eller ved direkte måling af viralt RNA i plasma ved anvendelse af teknologier til nukleinsyreamplifikation eller signalamplifikation (26-30).

Molekylære teknikker som f.eks. transkriptionsmedieret amplifikation (TMA) er blevet anvendt i stort omfang til at amplificere nukleinsyrer (31). Ved TMA anvendes specifik target capture og isothermisk amplifikation til at detektere nukleinsyrer i flere infektionssygdomme, herunder CT, NG, HPV, TV og HIV/HCV/HBV til bloddonortestning (32).

Aptima HIV-1 Quant Dx assayet benytter via TMA flere lange primere, som er målrettet mod flere regioner af HIV-1-genomet for at kompensere for den høje mutationsfrekvens for HIV-1. Assayet omfatter dual-target-amplifikations- og detektionssystemer, der er målrettet mod to regioner fra HIV-1-genomet (pol og LTR), uafhængigt af hinanden. Assaysoftwaren angiver ikke gennemsnitsværdien af signalerne fra de to systemer.

Aptima dual-target-systemet er designet til at øge chancerne for nøjagtig detektion og kvantitering af prøver.

Procedureprincipper

Aptima HIV-1 Quant Dx assay omfatter tre primære trin, som alle finder sted i et enkelt reagensglas på Panther systemet: target capture, targetamplifikation med transkriptionsmedieret amplifikation (TMA) og detektion af amplifikationsprodukterne (amplikon) med de fluorescensmærkede prober (torches).

Under target capture isoleres virale nukleinsyrer fra prøverne. Prøven behandles med en sæbe for at fortynde viruskappen, denaturere proteiner og frigøre viralt genomisk RNA. Capture oligonukleotider hybridiserer til stærkt bevarede regioner af HIV-1 genomet, hvis til stede, i testprøven. Det hybridiserede target indfanges derefter på magnetiske mikropartikler, der adskilles fra prøven i et magnetisk felt. Vasketrinnene fjerner uvedkommende komponenter fra reaktionsrøret.

Targetamplifikation sker via TMA, som er en transkriptionsbaseret nukleinsyreamplifikationsmetode, der benytter to enzymer, Moloney murint leukæmivirus (MMLV) revers transkriptase og T7 RNA-polymerase. Revers transkriptase bruges til at danne en DNA-kopi (indeholdende en promotersekvens for T7 RNA-polymerase) af targetsekvensen. T7 RNA-polymerase producerer flere kopier af RNA-amplikon fra DNA-kopiskabelonen. Aptima HIV-1 Quant Dx assay anvender TMA-metoden til at amplificere to regioner fra HIV-1 RNA (pol og LTR). Der genereres et uafhængigt signal via amplifikation af hver region ved anvendelse af specifikke primere, som er designet til at amplificere HIV-1-grupperne M, N og O.

Detektion opnås ved brug af enkeltstrengede nukleinsyre-torches, der er til stede under amplifikation af hvert target, som hybridiserer specifikt til amplikonerne i realtid. Hver torch har en fluorofor og en quencher. Når torch'en ikke er hybridiseret til amplikonet, ligger quencheren tæt på fluoroforen og undertrykker fluorescensen. Når torchen bindes til amplikonet, bevæger quencheren sig længere væk fra fluoroforen, og den udsender et signal ved en bestemt bølgelængde, når den aktiveres af en lyskilde. Samtidig med at flere torches hybridiserer til amplikonet, dannes der et højere fluorescenssignal. Den tid, det tager fluorescenssignalet for hvert target at nå en specificeret tærskel ("tTime"), er proportional med den indledende HIV-1-koncentration. Hver reaktion har en intern kalibrator/intern kontrol (IC), der kontrollerer potentielle variationer i prøvebehandling, amplifikation og detektion. Prøvens koncentration beregnes derefter ved hjælp af tTimes for både pol- og LTR-amplifikation af Panther systemsoftwaren. Gennem sin algoritme og sammenligning med lagrede kalibreringsoplysninger returnerer Panther systemsoftwaren et enkelt, klinisk valideret resultat for hver prøve.

Oversigt over sikkerhed og præstation

SSP (Summary of Safety and Performance) (Oversigt over sikkerhed og præstation) er tilgængelig i den europæiske database for medicinsk udstyr (Eudamed), hvor den er knyttet til udstyrsidentifikationer (Basis UDI-DI). Se Basic Unique Device Identifier (BUDI) (Basis unik udstyrsidentifikation) for at finde SSP for Aptima HIV-1 Quant Dx assay: 54200455DIAGAPTHIV1XB

Advarsler og forholdsregler

- A. Til *in vitro*-diagnostisk brug.
- B. Til professionel brug.
- C. Aptima HIV-1 Quant Dx assay er ikke beregnet til brug som en screeningstest for tilstedeværelse af HIV-1 i doneret blod.
- D. For at reducere risikoen for ugyldige resultater skal du omhyggeligt læse hele indlægssedlen og *Panther/Panther Fusion™ System Operator's Manual*, før du udfører dette assay.

Vedrørende laboratoriet

- E.  **FORSIGTIG:** Kontrollerne til dette assay indeholder humant plasma. Plasmaet er negativt for hepatitis B overfladeantigen (HBsAg), antistoffer mod HCV, antistoffer mod HIV-1- og HIV-2- og HIV-antigen ved testning med procedurer, godkendt af USA's Food and Drug Administration. Plasmaet er endvidere ikke-reaktivt over for HCV-RNA og HIV-1 RNA ved testning med godkendte nukleinsyretests, der benytter pooled prøver. Alle materialer, der stammer fra humant blod, skal anses for at være potentielt smittefarlige og skal håndteres i overensstemmelse med generelle forholdsregler (33-35).
- F. Kun personale med tilstrækkelig uddannelse i brugen af Aptima HIV-1 Quant Dx assay og i håndtering af potentielt smittefarlige materialer må udføre denne procedure. Hvis der forekommer spild, skal området straks desinficeres ifølge gældende procedurer på stedet.
- G. Brug kun medfølgende eller specificeret laboratoriemateriale til engangsbrug.
- H. Rutinemæssige laboratorieforholdsregler skal følges. Der må ikke pipetteres med munden. Der må hverken spises, drikkes eller ryges i arbejdsområdet. Brug engangshandsker uden puder, beskyttelsesbriller og laboratoriekittel ved håndtering af prøver og kitreagenser. Vask hænderne grundigt efter håndtering af prøver og kitreagenser.
- I. Arbejdsflader, pipetter og andet udstyr skal regelmæssigt dekontamineres med 2,5 % til 3,5 % (0,35 M til 0,5 M) natriumhypochloritopløsning.
- J. Alle materialer, der har været i kontakt med prøver og reagenser, skal bortskaffes iht. regionale bestemmelser (33-36). Rengør, og desinficér alle arbejdsoverflader grundigt.
- K. Kontrollerne indeholder natriumazid som konserveringsmiddel. Brug ikke metalrør til overførsel af reagens. Hvis opløsninger, der indeholder natriumazidforbindelser, skal bortskaffes i en vvs-installation, skal de fortyndes og skylles med rigelige mængder rindende vand fra hanen. Disse forholdsregler anbefales for at undgå ophobning af aflejringer i metalrør, hvor der kan opstå eksplosionsfarlige forhold.

- L. God standardpraksis for molekylærlaboratorier inkluderer miljøovervågning. Til overvågning af miljøet på laboratoriet anbefales følgende procedure.
1. Benyt en podepind med vatspids og Aptima®-rør til prøvealiquot (SAT).
 2. Forsyn hvert SAT med en etiket.
 3. Fyld hvert SAT med 1 ml Aptima®s-prøvefortynder.
 4. Til indsamling af overfladeprøver fugtes en podepind let med nukleasefrit demineraliseret vand.
 5. Pod den pågældende overflade med en lodret bevægelse fra top til bund. Drej podepinden ca. en halv omgang, samtidig med at stedet podes.
 6. Placer straks prøven i røret, og hvirvl forsigtigt podepinden i fortynderen for at ekstrahere potentielt podede materialer. Klem podepinden op imod siden af transportrøret for at udtrække så meget væske som muligt. Bortskaf podepinden, og sæt hætte på røret.
 7. Gentag disse trin for de resterende prøver fra podning.
 8. Test podningen med et molekylært assay.

Vedrørende prøve

- M. Prøver kan være infektiøse. Overhold de generelle forholdsregler (33-35) ved udførelse af assayet. Korrekte håndterings- og bortskaffelsesmetoder bør fastlægges i overensstemmelse med lokale bestemmelser (36). Kun personale, der er tilstrækkeligt oplært i brugen af Aptima HIV-1 Quant Dx assay og oplært i håndtering af potentielt smittefarlige materialer, må udføre denne procedure.
- N. Under forsendelse af prøver skal korrekte opbevaringsforhold bevares for at sikre prøvens integritet. Prøvestabilitet under forsendelsesforhold, der er anderledes end de anbefalede forhold, er ikke blevet vurderet.
- O. Undgå krydskontaminering under prøvehåndteringstrinnene. Udvis især forsigtighed for at undgå kontaminering fra spredning af aerosoler ved løsning eller fjernelse af hætter fra prøver. Prøver kan indeholde meget høje niveauer af organismer. Pas på, at prøvebeholdere ikke rører hinanden, og bortskaf brugte materialer uden at føre dem hen over åbne beholdere. Skift handsker, hvis de kommer i kontakt med prøvemateriale.

Vedrørende assay

- P. Kvantitative resultater af Aptima HIV-1 Quant Dx assayet er blevet vurderet med plasma. Serum må ikke anvendes til at opnå kvantitative resultater. Kvalitative resultater er blevet evalueret med både plasma og serum. Hvis du anvender dette testkit sammen med andre prøver end dem, der specifikt er godkendt til anvendelse med dette testkit, kan det resultere i unøjagtige testresultater.
- Q. Aptima HIV-1 Quant Dx assay blev klinisk valideret ved anvendelse af algoritmen i Panther systemsoftwaren. Det validerede resultat, der skal rapporteres, leveres af Panther systemsoftwaren på skærmen Results (Resultater) og i rapporten Results (Resultater).
- R. Brug ikke reagenskittet, kalibratoren eller kontrollerne efter udløbsdatoen.

- S. Assayreagenser fra kit med forskellige hovedlotnumre må ikke udskiftes, blandes eller kombineres. Assayvæsker kan være fra forskellige lotnumre. Kontroller og kalibratoren kan være fra forskellige lotnumre.
- T. Undgå mikrobiel og nukleasekontaminering af reagenser.
- U. Sæt hætte på, og opbevar alle assayreagenser ved de specificerede temperaturer. Assayets præstation kan påvirkes, hvis der anvendes forkert opbevarede assayreagenser. Se *Krav til opbevaring og håndtering af reagenser* og *Valgfri materialer* for flere oplysninger.
- V. Kombinér ikke assayreagenser eller væsker uden specifikke anvisninger. Tilføj ikke yderligere reagens eller væske. Panther-systemet verificerer reagensniveauerne.
- W. Nogle reagenser i dette kit er mærket med fareoplysninger.

Bemærk: Farekommunikation afspejler EU-sikkerhedsdatabladenes (SDS) klassificeringer. For fareoplysninger, der er specifikke for en given region, henvises der til de regionsspecifikke sikkerhedsdatablade i Safety Data Sheet Library (Arkivet med sikkerhedsdataark) på www.hologicsds.com. For mere information om symbolerne henvises til symbolforklaringen på www.hologic.com/package-inserts.

Fareerklæring – EU	
—	Amplifikationsreagens Magnesium Chloride 60–65 % — H412 – Skadelig for vandlevende organismer, med langvarige virkninger. P273 – Undgå udledning til miljøet. P501 – Indholdet/beholderen bortskaffes i et godkendt affaldsanlæg.
—	Enzymreagens HEPES 1–5 % Triton X-100 1–5 % — H412 – Skadelig for vandlevende organismer, med langvarige virkninger. P273 – Undgå udledning til miljøet. P501 – Indholdet/beholderen bortskaffes i et godkendt affaldsanlæg.
—	Enzymrekonstitutionsreagens Glycerol 20–25 % Triton X-100 5–10 % HEPES 1–5 % — H412 – Skadelig for vandlevende organismer, med langvarige virkninger. P273 – Undgå udledning til miljøet. P501 – Indholdet/beholderen bortskaffes i et godkendt affaldsanlæg.
—	Promoterreagens Magnesium Chloride 60–65 % — H412 – Skadelig for vandlevende organismer, med langvarige virkninger. P273 – Undgå udledning til miljøet. P501 – Indholdet/beholderen bortskaffes i et godkendt affaldsanlæg.

—	Target Capture-reagens HEPES 15–20 % Lithiumdodecylsulfat 5–10 % Lauryl Sulfate Lithium Salt 1–5 % Succinic Acid 1–5 % — H412 – Skadelig for vandlevende organismer, med langvarige virkninger. P273 – Undgå udledning til miljøet. P501 – Indholdet/beholderen bortskaffes i et godkendt affaldsanlæg.
  	HIV VL Kit-kontroller Human Serum/Human Plasma 95–100 % Sodium Azide <1 % FARE H300 – Livsfarlig ved indtagelse. H410 – Meget giftig med langvarige virkninger for vandlevende organismer. P264 – Vask ansigtet, hænderne og andre blottede hudområder grundigt efter brug. P273 – Undgå udledning til miljøet. P301 + P310 – I TILFÆLDE AF INDTAGELSE: Ring omgående til en GIFTINFORMATION eller en læge. P321 – Særlig behandling (se supplerende anvisninger vedrørende førstehjælp på denne etiket). P330 – Skyl munden. P391 – Udslip opsamles.
—	HIV VL Kit-kalibratorer 4-(2-Hydroxyethyl)piperazin-1-ylethansulfonsyre 15–20 % Lithiumdodecylsulfat 5–10 % Lithium Hydroxide, Monohydrate 1–5 % Succinic Acid 1–5 % — H412 – Skadelig for vandlevende organismer, med langvarige virkninger. P273 – Undgå udledning til miljøet. P501 – Indholdet/beholderen bortskaffes i et godkendt affaldsanlæg.

Krav til opbevaring og håndtering af reagenser

- A. Følgende tabel viser opbevaringsbetingelser og stabilitet for reagenser, kontroller og kalibrator.

Reagens	Opbevaring i uåbnet stand	Åbnet kit (rekonstitueret)	
		Opbevaring	Stabilitet
qHIV-1 amplifikationsreagens	2 °C til 8 °C		
qHIV-1 amplifikationsrekonstitutionsopløsning	2 °C til 8 °C	2 °C til 8 °C	30 dage ^a
qHIV-1 enzymreagens	2 °C til 8 °C		
qHIV-1 enzymrekonstitutionsopløsning	2 °C til 8 °C	2 °C til 8 °C	30 dage ^a
qHIV-1 promoterreagens	2 °C til 8 °C		
qHIV-1 promoterrekonstitutionsopløsning	2 °C til 8 °C	2 °C til 8 °C	30 dage ^a
qHIV-1 target capture reagens	2 °C til 8 °C	2 °C til 8 °C	30 dage ^a
qHIV-1 NC CONTROL – (negativ kontrol)	-15 °C til -35 °C	15 °C til 30 °C	Hætteglas til engangsbrug Bruges inden for 20 timer
qHIV-1 LPC CONTROL + (lav positiv kontrol)	-15 °C til -35 °C	15 °C til 30 °C	Hætteglas til engangsbrug Bruges inden for 20 timer
qHIV-1 HPC CONTROL + (høj positiv kontrol)	-15 °C til -35 °C	15 °C til 30 °C	Hætteglas til engangsbrug Bruges inden for 20 timer
qHIV-1 PCAL (positiv-kalibrator)	-15 °C til -35 °C	15 °C til 30 °C	Hætteglas til engangsbrug Bruges inden for 20 timer

^a Når reagenserne fjernes fra Panther-systemet, skal de straks returneres til deres korrekte opbevaringstemperaturer.

- B. Bortskaf alle ubrugte rekonstituerede reagenser og target capture reagens (TCR) efter 30 dage eller efter hovedlottets udløbsdato, alt efter hvilket, der kommer først.
- C. Reagenser opbevaret i Panther-systemet er stabile i 72 timer i systemet. Reagenser kan sættes i Panther-systemet op til 8 gange. Panther System registrerer hver gang, der isættes reagenser.
- D. Efter kalibratoren er optøet, skal opløsningen være klar, dvs. den må ikke være uklar eller have udfældninger.
- E.  Promoterreagens og rekonstitueret promoterreagens er lysfølsomme. Beskyt disse reagenser mod lys under opbevaring og klargøring til brug.

Udtagning og opbevaring af prøve

Bemærk: Håndtér alle prøver, som om de indeholder potentielt smitsomme stoffer. Overhold de generelle forholdsregler.

Bemærk: Udvis forsigtighed for at undgå krydskontaminering under prøvehåndtering. Bortskaf f.eks. brugte materialer uden at føre dem hen over åbne rør.

Bemærk: Der må kun bruges sekundærplastrør til opbevaring.

Fuldblodsprøver, udtaget i følgende typer glas- eller plastrør, må anvendes:

Til kvantitative målinger:

- Reagensglas, som indeholder EDTA- eller med syre-citrat-dextrose (ACD)-antikoagulans eller
- Reagensglas til klargøring af plasma (PPT'er).

Til kvalitativ bestemmelse:

- Reagensglas, som indeholder EDTA- eller ACD-antikoagulant eller
- PPT'er eller
- Serumrør eller
- Serumseparatorrør (SST'er).

Ved serum skal der være dannet koagel, inden behandlingen fortsættes.

A. Prøveudtagning

Fuldblod kan opbevares ved 2 °C til 30 °C og skal centrifugeres inden for 24 timer fra prøveudtagningen. Plasma eller serum skal separeres fra de pelletterede røde blodlegemer ifølge brugsanvisningen fra producenten af det anvendte reagensglas. Plasma eller serum kan testes på Panther systemet i et primærrør eller overføres til et sekundærrør.

Den minimale mængde af serum eller plasma for primære prøvetagningsrør er 1200 µL, og for sekundære prøvetagningsrør er den minimale mængde 700 µL for at kunne opnå reaktionsmængden på 500 µL. Nedenstående tabel angiver kravene til dødvolumen for hver type primær- og sekundærrør:

Rør (størrelse og type)	Dødvolumen på Panther System
Aptima-rør til prøvealiquot (SAT)	0,2 ml
12 x 75 mm	0,5 ml
13 x 100 mm	0,5 ml
13 x 100 mm med gel	0,3 ml
16 x 100 mm med gel	0,7 ml

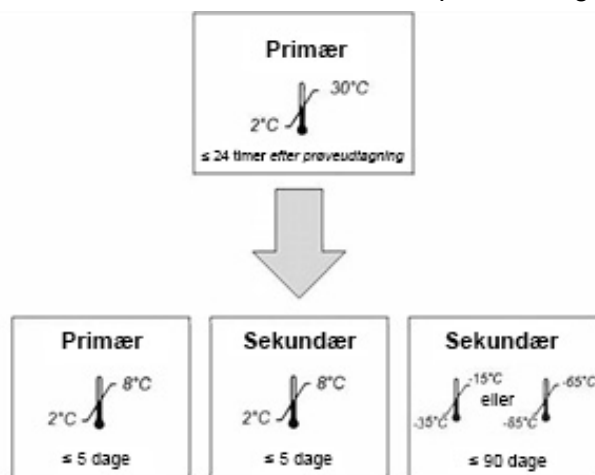
Hvis det ikke skal testes med det samme, kan plasma eller serum opbevares i overensstemmelse med nedenstående specifikationer. Hvis plasma overføres til et sekundærrør, kan det fryses ned til -20 °C eller -70 °C, og serum kan fryses ned til -20 °C. Overskrid ikke tre cyklusser af nedfrysning/optøning for at undgå at påvirke resultatet. Nedfrys ikke prøver i EDTA, ACD eller primære prøvetagningsrør til serum.

B. Prøveopbevaringsbetingelser

1. Plasmaprøver i EDTA og ACD

I op til 24 timer efter prøveudtagning kan primærrør, som indeholder centrifugeret plasma, opbevares ved 2 °C til 30 °C (Figur 1, øverste boks). Efter 24 timer kan plasma opbevares i et længere tidsrum under én af følgende betingelser (Figur 1, nedre bokse):

- I det primære prøvetagningsrør ved 2 °C til 8 °C i op til 3 dage,
- I sekundærrør ved 2 °C til 8 °C i op til 5 dage eller
- I sekundærrør ved -20 °C eller -70 °C i op til 90 dage.

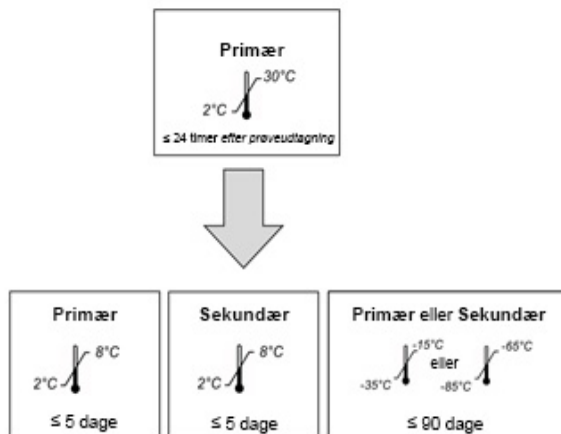


Figur 1. Betingelser for opbevaring af EDTA-/ACD-rør

2. PPT-prøver

I op til 24 timer efter prøveudtagning kan primære prøvetagningsrør (PPT), som indeholder centrifugeret plasma, opbevares ved 2 °C til 30 °C (Figur 2, øverste boks). Efter 24 timer kan plasma opbevares i et længere tidsrum under én af følgende betingelser (Figur 2, nedre bokse):

- I det primære prøvetagningsrør (PPT) ved 2 °C til 8°C i op til 3 dage,
- I sekundærrør ved 2 °C til 8°C i op til 5 dage eller
- I primære prøvetagningsrør (PPT)- eller sekundærrør ved -20 °C eller -70 °C i op til 90 dage.

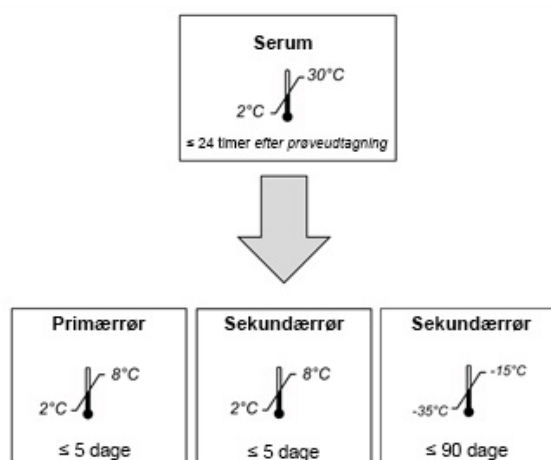


Figur 2. Opbevaringsbetingelser for PPT'er

3. Prøver i serumrør

I op til 24 timer efter prøveudtagning kan serumrør, som indeholder centrifugeret serum, opbevares ved 2 °C til 30 °C (Figur 3, øverste boks). Efter 24 timer kan serum opbevares i et længere tidsrum under én af følgende betingelser (Figur 3, nedre bokse):

- I serumrør ved 2 °C til 8 °C i op til 5 dage,
- I sekundærrør ved 2 °C til 8 °C i op til 5 dage eller
- I sekundærrør ved -20 °C i op til 90 dage.

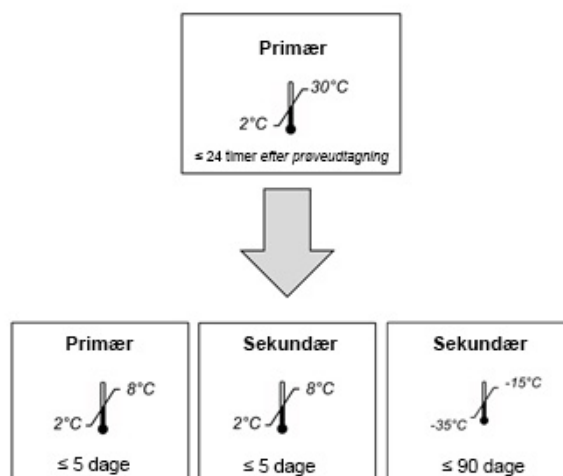


Figur 3. Opbevaringsbetingelser for serumrør

4. SST-prøver

I op til 24 timer efter prøveudtagning kan SST'er, som indeholder centrifugeret serum, opbevares ved 2 °C til 30 °C (Figur 4, øverste boks). Efter 24 timer kan serum opbevares i et længere tidsrum under én af følgende betingelser (Figur 4, nedre bokse):

- I SST ved 2 °C til 8 °C i op til 5 dage,
- I sekundærrør ved 2 °C til 8 °C i op til 5 dage eller
- I sekundærrør ved -20 °C i op til 90 dage.



Figur 4. Opbevaringsbetingelser for SST'er

C. Fortynding af plasmaprøver

Bemærk: En plasmaprøve kan fortyndes i SAT eller sekundærrør med henblik på testning på Panther-systemet. Se Testprocedure til Panther System, trin E.4 for flere oplysninger.

Bemærk: Hvis en prøve fortyndes, skal den testes straks efter fortyndingen. En fortyndet prøve må ikke nedfryses.



Bemærk: Fortynding af plasmaprøver kan kun bruges til kvantitative resultater. Fortynd ikke plasmaprøver for at få diagnostiske resultater.

Prøver på Panther System

Prøver kan efterlades på Panther systemet uden hætte i op til 8 timer i alt. Prøver kan fjernes fra Panther systemet og testes, så længe den samlede tid på systemet ikke overstiger 8 timer, før Panther systemet pipetterer prøven.

Prøvetransport

Overhold betingelserne for opbevaring af prøver, som beskrevet i *Udtagning og opbevaring af prøve*.

Bemærk: Prøver skal forsendes i henhold til gældende nationale, internationale og regionale transportregulativer.

Panther System

Reagenserne til Aptima HIV-1 Quant Dx assay er angivet herunder for Panther systemet. Reagensidentifikationssymbolerne er ligeledes angivet ved siden af reagensbetegnelsen.

Vedlagte reagenser og materialer

Aptima HIV-1 Quant Dx Assay Kit

100 tests (1 assaykit, 1 kalibratorkit og 1 kontrolkit) (kat.- nr. PRD-03000)

Der kan bestilles ekstra kalibratorer og kontroller separat. Se de respektive katalognumre nedenfor.

Aptima HIV-1 Quant Dx Assay Kit

(opbevares ved 2 °C til 8 °C ved modtagelsen)

Symbol	Komponent	Mængde
A	qHIV-1 amplifikationsreagens <i>Ikke-infektiose nukleinsyrer tørret i bufferopløsning.</i>	1 hætteglas
E	qHIV-1 enzymreagens <i>Revers transkriptase og RNA-polymerase tørret i HEPES bufferopløsning.</i>	1 hætteglas
PRO	qHIV-1 promoterreagens <i>Ikke-infektiose nukleinsyrer tørret i bufferopløsning.</i>	1 hætteglas
AR	qHIV-1 amplifikationsrekonstitutionsopløsning <i>Vandig opløsning indeholdende glycerol og konserveringsmidler.</i>	1 x 7,2 ml
ER	qHIV-1 enzymrekonstitutionsopløsning <i>HEPES bufferopløsning, der indeholder et overfladeaktivt stof og glycerol.</i>	1 x 5,8 ml
PROR	qHIV-1 promoterrekonstitutionsopløsning <i>Vandig opløsning indeholdende glycerol og konserveringsmidler.</i>	1 x 4,5 ml
TCR	qHIV-1 Target Capture-reagens <i>Nukleinsyrer i en buffersaltopløsning indeholdende fastfase, ikke-infektiose nukleinsyrer og intern kalibrator.</i>	1 x 72,0 ml
	Rekonstitueringsmanchetter	3
	Stregkodeliste for hovedlot	1 liste

Aptima HIV-1 Quant Dx-kalibratorkit (kat.- nr. PRD-03001)
(opbevares ved -15 °C til -35 °C ved modtagelsen)

Symbol	Komponent	Mængde
PCAL	qHIV-1 positiv kalibrator <i>Transkript i bufferopløsning.</i>	5 x 2,5 ml
	Kalibratorens stregkode	—

Aptima HIV-1 Quant Dx-kontrolkit (kat.- nr. PRD-03002)
(opbevares ved -15 °C til -35 °C ved modtagelsen)

Symbol	Komponent	Mængde
NC	qHIV-1 negativ kontrol <i>HIV-1 negativt defibrineret humant plasma indeholdende gentamicin og 0,2 % natriumazid som konserveringsmidler.</i>	5 x 1,5 ml
LPC	qHIV-1 lav positiv kontrol <i>Ikke-infektøs HIV-1 Armored RNA i defibrineret humant plasma indeholdende gentamicin og 0,2 % natriumazid som konserveringsmidler.</i>	5 x 1,5 ml
HPC	qHIV-1 høj positiv kontrol <i>Ikke-infektøs HIV-1 Armored RNA i defibrineret humant plasma indeholdende gentamicin og 0,2 % natriumazid som konserveringsmidler.</i>	5 x 1,5 ml
	Kontrollens stregkode	—

Nødvendige materialer, der skal anskaffes separat

Bemærk: For materialer, der fås fra Hologic, er katalognummeret anført, medmindre andet er angivet.

Materiale	Kat.- nr.
Panther System	303095
Panther Fusion System	PRD-04172
Panther System Continuous Fluid and Waste (Kontinuerlige væsker og affald) (Panther Plus)	PRD-06067
Aptima® HIV-1 Quant Dx-kalibratorkit	PRD-03001
Aptima® HIV-1 Quant Dx-kontrolkit	PRD-03002
Panther™ Run Kit for Real Time Assays (kun til realtidsassays)	PRD-03455 (5.000 tests)
Aptima® Assay Fluids Kit (også kendt som kit med universale væsker) <i>indeholder</i> <i>Aptima® Wash Solution (Aptima® vaskeopløsning), Aptima® Buffer for</i> <i>Deactivation Fluid (Aptima® buffer til deaktiveringsvæske) og Aptima® Oil</i> <i>Reagent (Aptima oliereagens)</i>	303014 (1.000 tests)
<i>Multireagensglasenheder (MTU'er)</i>	104772-02
<i>Panther™ Waste Bag Kit</i>	902731
<i>Panther™-afdækningsstykke til affaldsbeholder</i>	504405
Eller Panther™ System Run Kit (ved kørsel af ikke-realtids TMA-assays parallelt med realtids TMA-assays) <i>indeholder MTU, affaldsposer, afdækningsstykker til affaldsbeholder,</i> <i>automatisk detektion og assayvæsker</i>	303096 (5.000 tests)
Spidser, 1000 µL, filtrerede, ledende, væskemåling og til engangsbrug <i>Ikke alle produkter er tilgængelige i alle regioner. Kontakt din repræsentant for</i> <i>regionsspecifik information</i>	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Blegemiddel 5 % til 8,25 % (0,7 M til 1,16 M) natriumhypochloritopløsning	—
Engangshandsker uden pudder	—
Udskiftningshætter til reagens <i>Flasker til rekonstituering af amplifikations-, enzym- og promoterreagens</i> <i>TCR-flaske</i>	CL0041 (100 hætter) CL0040 (100 hætter)
Beskyttelsespapir til laboratoriebord med plastikbagside	—
Fnugfri servietter	—
Pipette	—
Spidser	—
Valgmuligheder for primære prøvetagningsrør (EDTA, ACD, PPT, SST, serum): 13 mm x 100 mm 13 mm x 75 mm 16 mm x 100 mm	— — —
Centrifuge	—
Vortexmixer	—

Valgfri materialer

Materiale	Kat.- nr.
Valgmuligheder for sekundærrør:	
12 mm x 75 mm	—
13 mm x 100 mm	—
16 mm x 100 mm	—
Aptima-rør til prøvealiquot (SAT'er) (pakke med 100 stk.)	FAB-18184
Hætte til transportrør (pakke med 100 stk.) <i>hætte til SAT</i>	504415
Aptima prøvefortynder	PRD-03003
Aptima prøvefortynderkit <i>indeholder prøvefortynder, 100 SAT'er og 100 hætter</i>	PRD-03478
Overførselspipetter	—
Kommercielt tilgængelige paneler, fx: <i>HIV-1 fra Quality Control for Molecular Diagnostics (QCMD) (Kvalitetskontrol for molekylær diagnostik) eller College of American Pathologists (CAP) HIV-viral load undersøgelsespanel eller SeraCare ACCURUN HIV-paneler</i>	—
Podepinde med vatspids	—
Reagensglasryster	PRD-03488

Testprocedure til Panther System

Bemærk: Se *Panther/Panther Fusion System Operator's Manual (Brugervejledningen til Panther/Panther Fusion System)* for yderligere oplysninger om proceduren.

A. Klargøring af arbejdsområde

1. Rengør de arbejdsoverflader, hvor reagenser skal klargøres. Tør arbejdsoverfladerne af med 2,5 % til 3,5 % (0,35 M til 0,5 M) natriumhypochloritopløsning. Lad natriumhypochloritopløsningen blive på overfladerne i mindst 1 minut, og skyl dernæst efter med demineraliseret (DI) vand. Natriumhypochloritopløsningen må ikke tørre. Dæk bordoverfladen, hvor reagenserne og prøverne skal forberedes, med rent absorberende beskyttelsespapir med plastbagside til laboratorieborde.
2. Rengør en separat arbejdsflade, hvor prøverne skal klargøres. Følg proceduren, beskrevet herover (trin A.1).
3. Rengør eventuelle pipetter. Følg proceduren, beskrevet herover (trin A.1).

B. Klargøring af kalibrator og kontroller

Lad kalibratoren og kontrollerne nå 15 °C til 30 °C før følgende behandling:

1. Fjern kalibrator og kontroller fra opbevaring (-15 °C til -35 °C), og placér dem i temperaturer fra 15 °C til 30 °C. Vend forsigtigt op og ned på hvert reagensglas under optøningsprocessen, så de blandes grundigt. Sørg for, at rørenes indhold er tørt helt op inden brug.

Valgmulighed. Kalibrator og kontrolrør kan lægges i et vendeapparat, så de blandes grundigt. Sørg for, at rørenes indhold er tørt helt op inden brug.

Bemærk: Sørg for, at der ikke dannes for kraftigt skum, når kalibratoren og kontrollerne vendes op og ned. Skum påvirker niveauregistreringen i Panther-systemet.

2. Når rørets indhold er tørt op, skal røret tørres af udvendigt med en ren og tør engangsserviet.
3. Åbn ikke rørene endnu for at undgå kontaminering.

C. Reagensrekonstituering/klargøring af et nyt kit

Bemærk: Rekonstituering af reagenser bør udføres, inden der påbegyndes arbejde på Panther System.

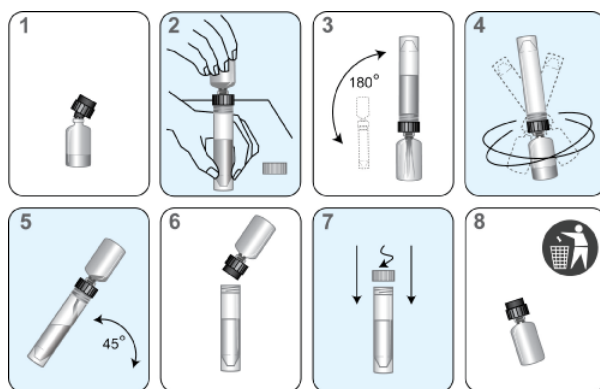
1. Target capture reagens (TCR) klargøres på følgende måde:
 - a. Fjern TCR fra opbevaring (2 °C til 8 °C). Kontrollér lotnummeret på TCR-flasken for at sikre, at det stemmer overens med lotnummeret på stregkodelisten for hovedlot.
 - b. Ryst straks TCR-flasken kraftigt 10 gange. Lad TCR-flasken blive ved 15 °C til 30 °C for at lade den varme op i mindst 45 minutter. Inden for dette tidsrum skal TCR-flasken vendes op og ned mindst hver 10. minutter.

Valgmulighed. TCR-flasken kan klargøres på en reagensglasryster på følgende måde: Fjern TCR fra opbevaring (2 °C til 8 °C), og ryst straks kraftigt 10 gange. Placér TCR-flasken på en reagensglasryster, og lad TCR-flasken blive ved 15 °C til 30 °C for at varme den op i mindst 45 minutter.

- c. Sørg for, at alle udfældninger opløses, og at de magnetiske partikler suspenderes før brug.
2. For at rekonstituere amplifikations-, enzym- og promoterreagens gøres følgende:
 - a. Fjern de frysetørrede reagenser og tilhørende rekonstitueringsopløsninger fra opbevaring (2 °C til 8 °C). Anbring hver enkelt rekonstitutionsopløsning parvist med det tilhørende frysetørrede reagens.
 - b. Kontrollér, at rekonstitueringsopløsningen og det frysetørrede reagens har matchende etiketfarver. Kontrollér lotnumrene på stregkodelisten for hovedlot for at sikre, at de korrekte reagenser er grupperet i par.
 - i. Åbn hætteglasset med frysetørret reagens ved at fjerne metalforseglingen og gummiproppen.
 - ii. Indsæt rekonstitueringsmanchettens (sort) ende med fordybning med et fast tryk på hætteglasset (Figur 5, trin 1).
 - iii. Åbn den tilhørende flaske med rekonstitutionsopløsning, og læg låget på et rent, afdækket arbejdsbord.
 - iv. Placér flasken med rekonstitutionsopløsning på en stabil flade (dvs. et arbejdsbord). Vend derpå hætteglasset med frysetørret reagens over flasken med rekonstitutionsopløsning, og sæt manchetten fast på flasken med rekonstitutionsopløsning (Figur 5, trin 2).

- v. Vend langsomt de samlede flasker (hætteglas sat på flasken med opløsning), så opløsningen kan løbe ned i hætteglasset (Figur 5, trin 3).
- vi. Tag fat i de samlede flasker, og hvirvl dem rundt i mindst 10 sekunder (Figur 5, trin 4).
- vii. Vent i mindst 30 minutter på, at det frysetørrede reagens blandes med opløsningen.
- viii. Efter det frysetørrede reagens er blevet blandet med opløsningen, hvirvles de samlede flasker i mindst 10 sekunder, og derpå rystes opløsningen let frem og tilbage i hætteglasset, så indholdet blandes grundigt.
- c. Vend langsomt de samlede flasker igen, så hele opløsningen kan løbe tilbage i flasken med rekonstitutionsopløsning (Figur 5, trin 5).
- d. Fjern forsigtigt rekonstitueringsmanchetten og hætteglasset (Figur 5, trin 6).
- e. Sæt låget på flasken igen. Registrér operatørinitialer og rekonstitueringsdato på etiketten (Figur 5, trin 7).
- f. Bortskaf rekonstitueringsmanchetten og hætteglasset (Figur 5, trin 8).

Advarsel: Undgå, at der dannes kraftigt skum, når reagenserne rekonstitueres. Skum påvirker niveauregistreringen i Panther-systemet.



Figur 5. Reagensets rekonstitueringsproces

D. Klargøring af reagens for tidligere klargjorte reagenser

- 1. Fjern de tidligere klargjorte reagenser fra opbevaring (2 °C til 8 °C).
- 2. Tidligere klargjort amplifikation, enzym, promoterreagenser og TCR skal nå 15 °C til 30 °C før start af assayet.
- 3. For tidligere klargjort TCR udføres trin C.1 ovenfor før isætning i systemet.
- 4. Hvirvl, og vend amplifikations-, enzym- og promoterreagens op og ned for at blande det grundigt før isætning i systemet. Undgå, at der dannes kraftigt skum, når reagenserne vendes op og ned.

Valgmulighed: Tidligere klargjorte reagenser kan klargøres på reagensglasryster på følgende måde: Fjern reagenserne fra opbevaring (2 °C til 8 °C). Placer reagenserne på en reagensglasryster, og lad dem stå ved 15 °C til 30 °C for at varme dem op i mindst 30 minutter.

- 5. Der må ikke tilføjes reagens til reagensflaskerne. Panther-systemet registrerer og afviser flasker, der har fået tilføjet reagens.

E. Prøvehåndtering

1. Kontrollér, at de behandlede prøver i primærrør eller ufortyndede prøver i sekundærrør er opbevaret korrekt i henhold til *Udtagning og opbevaring af prøve*.
2. Sørg for, at frosne prøver er tøet helt op. Bland de optøede prøver på vortexmixer i 3 til 5 sekunder, så de blandes omhyggeligt.
3. Lad prøverne nå 15 °C til 30 °C før behandlingen. Se *Prøver på Panther System* for yderligere onboard-oplysninger.
4. Sørg for, at hvert primært prøvetagningsrør indeholder op til 1200 µL prøve, eller at hvert SAT indeholder mindst 700 µL prøve. Se tabellen i *Udtagning og opbevaring af prøve* vedrørende kravene til dødsvolumen for hver type primær- og sekundærrør. Hvis fortynding af prøven er nødvendigt, skal du se trin E.5 herunder for yderligere oplysninger.
5. Fortynd en plasmaprøve i forholdet 1:3 i et SAT eller i forholdet 1:100 i et sekundærrør. En plasmaprøve kan fortyndes i et sekundærrør med henblik på testning på Panther systemet.



Bemærk: Fortynding af plasmaprøver kan kun bruges til kvantitative resultater. Fortynd ikke plasmaprøver for at få diagnostiske resultater.

Bemærk: Hvis en prøve fortyndes, skal den testes straks efter fortyndingen.

a. Fortynding af prøver med lavt volumen

Mængden af plasmaprøver kan øges til den påkrævede minimumsmængde (700 µL) ved brug af Aptima prøvefortynder. Prøver med mindst 240 µL plasma kan fortyndes med to dele prøvefortynder (1:3) på følgende måde:

- i. Placer 240 µL prøve i et SAT.
- ii. Tilsæt 480 µL Aptima prøvefortynder.
- iii. Sæt hætte på reagensglasset.
- iv. Vend reagensglasset forsigtigt op og ned 5 gange for at blande.

Prøver, der er fortyndet 1:3, kan testes ved brug af 1:3 valgmuligheden på Panther systemet (se *Brugervejledning til Panther/Panther Fusion System* for flere oplysninger). Softwaren rapporterer automatisk de ufortyndede resultater med denne fortyndingsfaktor. Disse prøver markeres som værende fortyndede prøver.

b. Fortynding af prøver med høj titer

Hvis en prøves resultat ligger over den øvre kvantiteringsgrænse, kan den fortyndes med 99 dele Aptima prøvefortynder (1:100) på følgende måde:

- i. Placer 30 µL prøve i et SAT eller et sekundærrør.
- ii. Tilsæt 2970 µL Aptima-prøvefortynder.
- iii. Sæt hætte på reagensglasset.
- iv. Vend reagensglasset forsigtigt op og ned 5 gange for at blande.

Prøver, der er fortyndet 1:100, kan testes ved brug af 1:100 valgmuligheden på Panther-systemet (se *Brugervejledning til Panther/Panther Fusion System* for flere oplysninger). Softwaren rapporterer automatisk de ufortyndede resultater med denne fortyndingsfaktor. Disse prøver markeres som værende fortyndede prøver.

Bemærk: For fortyndede prøver med ufortyndede koncentrationer større end ULoQ rapporteres resultaterne ved hjælp af et videnskabeligt notat.

6. Umiddelbart inden isætning af prøverne i et prøvestativ centrifugeres hver prøve ved 1000 til 3000 g i 10 minutter. Fjern ikke hætte. Bobler i røret kan påvirke måling af væskenniveau i Panther systemet.

Se *Klargøring af systemet*, trin F.2 herunder for oplysninger om isætning af prøver i stativet og fjernelse af hætter.

F. Klargøring af systemet

1. Sæt systemet op ifølge anvisningerne i *brugervejledning til Panther/Panther Fusion System* og *Bemærkninger til fremgangsmåden*. Sørg for, at der anvendes reagensstativer og TCR-adaptore af passende størrelse.
2. Isæt prøverne i prøvestativet. Udfør de følgende trin for hvert prøvereagensglas (prøve og, hvor nødvendigt, kalibrator og kontroller):
 - a. Løsn én hætte til prøvereagensglas, men fjern den ikke helt endnu.
Bemærk: Vær især forsigtig med at undgå kontaminering fra spredning af aerosoler. Løsn forsigtigt hættene på prøverne.
 - b. Isæt prøvereagensglasset i prøvestativet.
 - c. Gentag trin a og b for hver resterende prøve.
 - d. Når prøverne er sat i prøvestativet, fjernes og bortskaffes hver prøvereagensglashætte i ét prøvestativ. For at undgå kontaminering må en hætte ikke føres hen over andre prøvestativer eller prøvereagensglas.
 - e. Brug om nødvendigt en ny engangsoverførselspipette til at prikke hul på eventuelle bobler eller skum.
 - f. Når den sidste hætte er fjernet, skal prøvestativet sættes i en prøvebås.
Bemærk: Hvis der køres andre assays og prøvetyper på samme tid, skal prøveholderen (retainer) sikres, før prøvestativet sættes i prøvebåsen.
 - g. Gentag trin a til f for det næste prøvestativ.

Bemærkninger til fremgangsmåden

A. Kalibrator og kontroller

1. Rørene til qHIV-1 positiv-kalibrator, qHIV-1 lav positiv kontrol, qHIV-1 høj positiv kontrol og qHIV-1 negativ kontrol kan sættes i en vilkårlig position i prøvestativet og i et vilkårligt prøvebåsspor på Panther systemet. Pipettering af prøver begynder, når ét af de to følgende forhold er blevet opfyldt:
 - a. Kalibratoren og kontrollerne behandles aktuelt af systemet.
 - b. Gyldige resultater for kalibratoren og kontrollerne er blevet registreret på systemet.
2. Når kalibratoren og kontrolrørene er blevet pipetteret og behandles til Aptima HIV-1 Quant Dx assay-reagenskittet, kan prøver testes med det tilhørende, rekonstituerede kit i op til 24 timer, **medmindre:**
 - a. Kalibrator- eller kontrolresultaterne er ugyldige.
 - b. Det tilknyttede assay-reagenskit fjernes fra systemet.
 - c. Det tilknyttede assay-reagenskit har overskredet stabilitetsgrænserne.
3. Kalibratoren og hvert kontrolrør kan testes én gang. Forsøg på at bruge reagensglasset mere end én gang kan føre til fejl i behandlingen.

B. Handskepudder

Som i alle reagenssystemer kan for meget pudder på visse handsker forårsage kontaminering af åbnede reagensglas. Det anbefales at bruge handsker uden pudder.

Kvalitetskontrol

En kørsel eller et prøveresultat kan blive ugyldiggjort af en operatør, hvis der observeres tekniske problemer, problemer hos operatøren eller med instrumentet under udførelsen af assayet, og de er dokumenteret. Hvis det er tilfældet, skal prøverne gentestes.

Kalibrering af assayet

For at få gyldige resultater skal en assaykalibrering være afsluttet. En enkelt, positiv kalibrator køres i triplikat, hver gang et reagenskit sættes i Panther-systemet. Når kalibreringen er fastsat, gælder den op til 24 timer. Software i Panther systemet underretter operatøren, når en kalibrering er nødvendig. Operatøren scanner en kalibreringskoefficient fundet på stregkodelisten for hovedlot, der følger med hvert reagenskit.

Under behandlingen verificeres kriterierne for godkendelse af kalibratoren automatisk af softwaren i Panther systemet. Hvis færre end to kalibratorreplikater er gyldige, ugyldiggør softwaren automatisk kørslen. Prøver i en ugyldiggjort kørsel skal testes igen med en netop klargjort kalibrator og netop klargjorte kontroller.

Negative og positive kontroller

For at genere gyldige resultater, skal et sæt af assaykontroller testes. Ét replikat af den negative kontrol, af den lave positive kontrol og af den høje positive kontrol skal testes hver gang et reagenskit sættes i Panther systemet. Når kontrollerne er gyldige, gælder de op til 24 timer. Software i Panther systemet underretter operatøren, når der kræves kontroller.

Under behandlingen verificeres kriterierne for godkendelse af kontrollerne automatisk af softwaren i Panther systemet. For at opnå gyldige resultater skal den negative kontrol vise resultatet "Not Detected" (Ikke detekteret), og de positive kontroller skal vise resultater, der ligger inden for de foruddefinerede parametre (LPC-target: $\sim 3 \text{ Log}_{10}$ kopier/ml, HPC-target: $\sim 5 \text{ Log}_{10}$ kopier/ml). Hvis en af kontrollerne udviser et ugyldigt resultat, ugyldiggør softwaren automatisk kørslen. Prøver i en ugyldiggjort kørsel skal testes igen med en netop klargjort kalibrator og netop klargjorte kontroller.

Intern kalibrator/intern kontrol

Hver prøve indeholder en intern kalibrator/intern kontrol (IC). Under behandlingen verificeres IC-godkendelseskriterierne automatisk af Panther systemsoftwaren. Hvis et IC-resultat er ugyldigt, bliver prøveresultatet ugyldiggjort. Hver prøve med et ugyldigt IC-resultat skal testes igen for at opnå et gyldigt resultat. Panther-systemsoftwaren er udviklet til at verificere processerne nøjagtigt, når procedurerne udføres efter anvisningerne på denne indlægsseddel og i *Panther/Panther Fusion System Operator's Manual* (Brugervejledningen til Panther/Panther Fusion System).

Tolkning af resultater

Bemærk: Kvantitative resultater af Aptima HIV-1 Quant Dx-assayet er blevet vurderet med plasma. Serum må ikke anvendes til at opnå kvantitative resultater. Kvalitative resultater er blevet evalueret med både plasma og serum.

Panther systemet bestemmer automatisk koncentrationen af HIV-1 RNA for prøver og kontroller ved at sammenligne resultaterne med en kalibreringskurve. HIV-1 RNA-koncentrationer rapporteres i kopier/ml og $\log_{10}$ kopier/ml. Tolkningen af resultater er vist i Tabel 1. Aptima HIV-1 Quant Dx assay har dual-target amplifikations- og detektionssystemer, der er målrettet mod pol og LTR – uafhængigt af hinanden. Resultatet, der rapporteres af systemet, vil være baseret på det primære system, pol, medmindre pol ikke er amplificeret. I disse tilfælde vil systemet rapportere resultatet fra det sekundære system, LTR.

Hvis fortyndingen 1:3 eller 1:100 bruges til fortyndede prøver, beregner Panther systemet automatisk HIV-1 koncentrationen for den ufortyndede prøve ved at gange den fortyndede koncentration med fortyndingsfaktoren, og de fortyndede prøver markeres som værende fortyndet.

Bemærk: For fortyndede prøver kan resultater, vist som "Not detected" (Ikke detekteret) eller "<30 detected" (<30 detekteret) blive genereret ved fortynding af en prøve med en koncentration over, men tæt på LoD (detektionsgrænse) eller LLoQ (nedre kvantiteringsgrænse). Det anbefales at indsamle og teste en anden ufortyndet prøve, hvis et kvantitativt resultat ikke kan opnås.

Panther systemet leverer ikke et kvalitativt resultat (dvs. "Reactive" (Reaktivt) eller "Non-reactive" (Ikke-reaktivt)) til diagnostisk brug. Operatøren skal fortolke den rapporterede HIV-1 RNA-koncentration i form af et kvalitativt resultat (se Tabel 1). Prøver med resultater angivet som "Not detected" (Ikke detekteret) er ikke-reaktive over for HIV-1 RNA. Prøver med resultater angivet som "<30 detected" (<30 detekteret) eller prøver med resultater vist inden for eller over det lineære område indikerer, at der blev detekteret HIV-1 RNA, og at disse prøver er reaktive over for HIV-1 RNA.

Tabel 1: Tolkning af resultat

Rapporteret Aptima HIV-1 Quant Dx-assayresultat		HIV-1 RNA-koncentration Tolkning	Brugerens diagnostiske kvalitative tolkning ^c
Kopier/ml ^a	Log ₁₀ værdi ^b		
Ikke detekteret	Ikke detekteret	HIV-1 RNA ikke detekteret.	Ikke-reaktivt for HIV-1 RNA
<30 detekteret	<1,47	HIV-1 RNA detekteres, men på et niveau, der ligger under den nedre kvantiteringsgrænse (LLoQ).	Reaktivt for HIV-1 RNA
30 til 10.000.000	1,47 til 7,00	HIV-1 RNA-koncentrationen ligger inden for det lineære område på 30 til 10.000.000 kopier/ml.	Reaktivt for HIV-1 RNA
>10.000.000	>7,00	HIV-1 RNA-koncentration er over den øvre kvantiteringsgrænse (ULoQ).	Reaktivt for HIV-1 RNA
Ugyldigt ^d	Ugyldigt ^d	Der opstod en fejl under udarbejdelsen af resultatet. Prøven skal testes igen.	Ugyldigt ^d

^a Omregningsfaktoren for kopier til internationale enheder (IU) for den 3. internationale standard for HIV-1 RNA (10/152) er 0,35 kopier/IU.

^b Værdien er afkortet til to decimaler.

^c Der bør ikke foretages en diagnostisk tolkning ud fra et "non-reactive" (ikke-reaktivt) resultat for prøver, der er blevet fortyndet. Tag en ny ufortyndet prøve, og test igen.

^d Ugyldige resultater vises med blå skrift.

Når resultaterne er tilgængelige på skærmen Results (Resultater), kan kvantiteringsværdien for hvert target tilgås ved hjælp af funktionen Sample Curve Report (Rapport for prøvekurve) i Panther systemsoftwaren. For at se værdierne og amplifikationskurverne skal du vælge Sample ID (Prøve ID) for prøven på skærmen Results (Resultater) i Panther systemsoftwaren. Vælg derefter knappen "Curve Data" (Data for kurve). Der åbnes et vindue, der indeholder Sample Curve Report (Rapport for prøvekurve), som inkluderer fluorescensprofiler og kvantiteringsværdier for prøven.

Bemærk: Data fra Sample Curve Report (Rapport for prøvekurve) er kun til orientering (f.eks. fejlfinding og verifikation af kurve). Det validerede resultat, der skal rapporteres for prøven, leveres af Panther-systemsoftwaren på skærmen Results (Resultater) og i rapporten Results (Resultater).

Bemærk: Se Panther/Panther Fusion System Operator's Manual (Brugervejledning til Panther/Panther Fusion System) for yderligere anvisninger vedrørende betjening af Panther systemet.

Godkendelseskriterierne for hver af Aptima HIV-1 Quant Dx assaykontrollerne er angivet i Tabel 2.

Bemærk: Inddrivelsesintervallet nedenfor skifter baseret på den tildelte værdi af hvert enkelt parti. Se den tildelte koncentration, der er angivet på indlægssedlen til kontrollens stregkodeliste, der leveres med hver kontrolæske.

Tabel 2: Acceptkriterier for genfindingsområde for Aptima HIV-1 Quant Dx-assay

Komponent	Genfindingsområde for gyldige kørsler
Negativ kontrol	N/A
Lav positiv kontrol	+/- 0,5 log ₁₀ kopier/ml
Høj positiv kontrol	+/- 0,5 log ₁₀ kopier/ml

Begrænsninger

- A. Kun personale, som er oplært i fremgangsmåden, må anvende dette assay.
Hvis anvisningerne på denne indlægsseddel ikke følges, kan det føre til fejlagtige resultater.
- B. Pålidelige resultater er afhængige af tilstrækkelig prøveudtagning og korrekt transport, opbevaring og behandling af prøver.
- C. Dette assay er blevet valideret til brug som et kvantitativt assay kun med humant EDTA og ACD plasma.
- D. Dette assay er blevet valideret til brug som et kvalitativt assay med humant EDTA og ACD plasma og serum.
- E. Selvom det er sjældent, kan mutationer i de højt konserverede områder af virusgenomet, der er dækket af primere og/eller prober i Aptima HIV-1 Quant Dx-assayet, resultere i underkvantificering af eller manglende evne til at detektere virusset.
- F. Denne analyse er ikke blevet valideret til brug hos patienter, der gennemgår lentivirale vektorbaserede behandlinger, såsom CAR-T-cellebehandling. Potentielt overlappende områder af det virale genom, der er dækket af primerne og/eller proberne i Aptima HIV-1 Quant Dx-assayet, kan resultere i amplifikation af lentivirale vektorer, der anvendes i lentivirale vektorbaserede behandlinger.

Analytisk præstation

Detektionsgrænse (LoD) ved brug af den 3. internationale WHO-standard for HIV-1

Detektionsgrænsen (LoD) defineres som koncentrationen af HIV-1 RNA, der detekteres med 95 % eller større sandsynlighed ifølge CLSI EP17-A2 (37). LoD blev bestemt ved at teste paneler, som bestod af fortyndinger fra 3. internationale WHO-standard for HIV-1 (undertype B, NIBSC-kode: 10/152) i HIV-1-negativt EDTA-plasma og -serum. Tredive replikater af hver fortynding blev kørt på tre Panther systemer ved at bruge tre reagenslot til i alt 90 replikater for hver fortynding. I henhold til CLSI EP17-A2 defineres LoD-værdier (detektionsgrænser) ved anvendelse af resultaterne fra reagenslottet med den højeste koncentration for den forudsete detektionsgrænse LoD og vises i Tabel 3. Gennem Probit-analyse er den 95 % forudsete detektionsgrænse for LoD for Aptima HIV-1 Quant Dx-assayet 12 kopier/ml (35 IU/ml) i plasma og 8,9 kopier/ml (25 IU/ml) i serum (0,35 kopier = 1 IU).

Tabel 3: Detektionsgrænse for Aptima HIV-1 Quant Dx-assayet ved brug af 3. internationale WHO-standard for HIV-1

Forventet Detektionsgrænse	Plasma		Serum	
	Koncentration (kopier/ml)	Koncentration (IU/ml)	Koncentration (kopier/ml)	Koncentration (IU/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

Detektionsgrænse på tværs af HIV-1-undertyper og -grupper

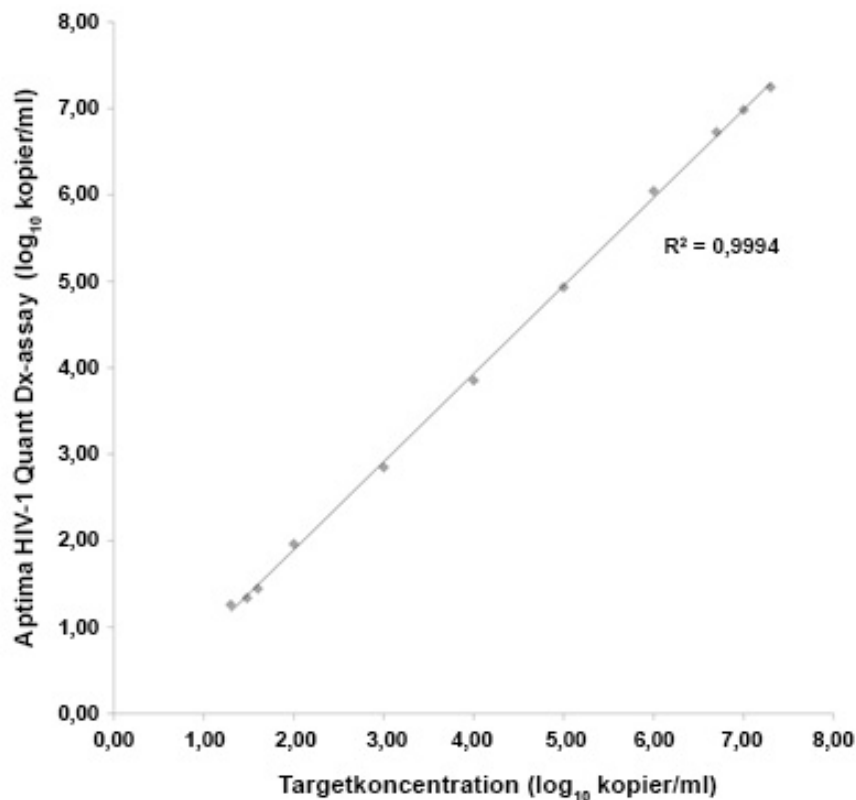
For HIV-1-gruppe M (undertyperne A, C, D, F, G, CRF01_AE, CRF02_AG) og grupperne N og O blev der oprettet seks positive paneler og et negativt panel ved at tilsætte enten dyrket HIV-1-virus eller positive kliniske prøver til HIV-1-negativt humant EDTA-plasma og -serum (0 til 40 kopier/ml). Hvert panelmedlem blev testet i 30 replikater med to reagenslot for i alt 60 replikater pr. panelmedlem. Tildelingen af koncentrationen for kliniske prøver eller dyrkede virusstammer blev bestemt med et komparatorassay. En probitanalyse blev foretaget for at skabe 50 % og 95 % forventede detektionsgrænser. I henhold til CLSI EP17-A2 (37) defineres LoD-værdier (detektionsgrænser) ved anvendelse af resultaterne fra reagenslottet med den højeste koncentration for den forudsatte detektionsgrænse, defineret som LoD, og vises i Tabel 4.

Tabel 4: Detektionsgrænse på tværs af HIV-1-undertyper og -grupper

Undertype/ gruppe	Forventet detektionsgrænse	Plasma	Serum
		Koncentration (kopier/ml)	Koncentration (kopier/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

Lineært område

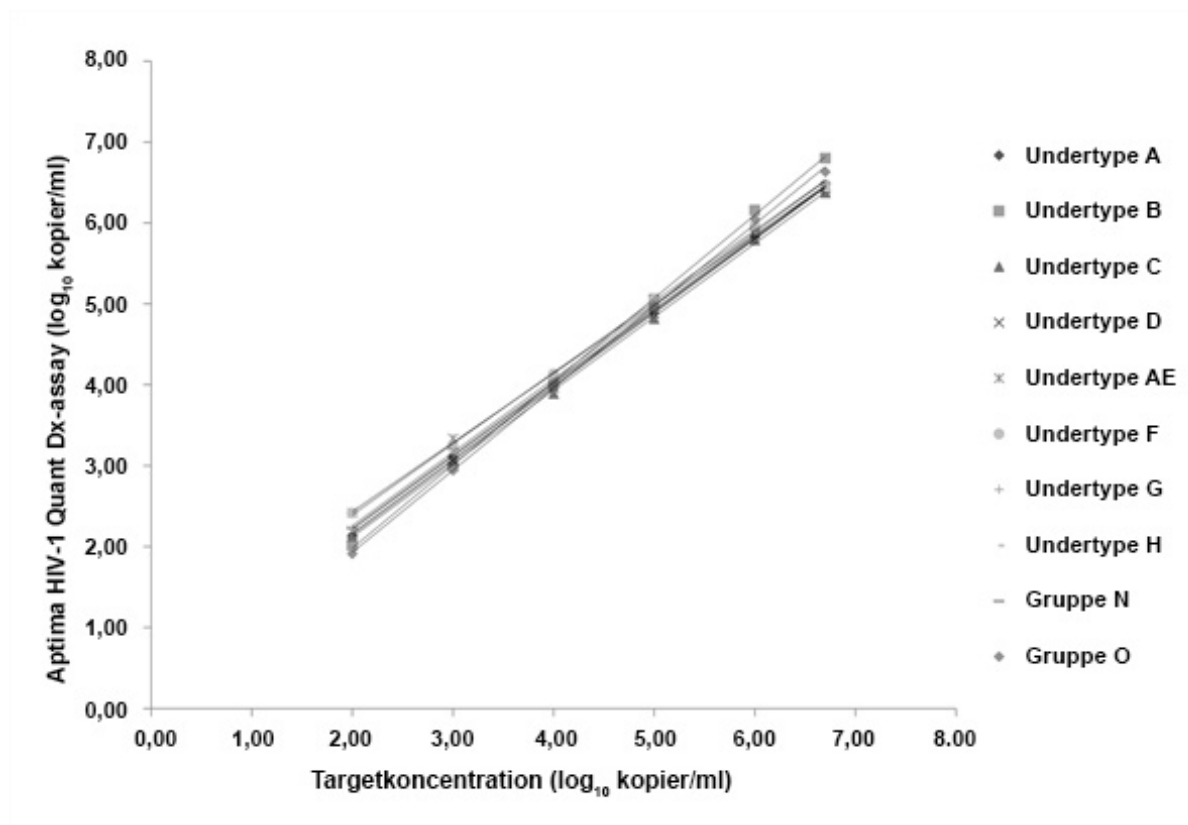
Det lineære område af Aptima HIV-1 Quant Dx assayet blev fastslået af testpaneler, der bestod af dyrket HIV-1 undertype B-virus fortyndet i HIV-1-negativt humant EDTA-plasma i henhold til CLSI EP06-A (38). Paneler varierede i koncentration fra 1,30 til 7,30 $\log_{10}$ kopier/ml. Testning blev udført på syv Panther systemer med to reagenslot. Som vist i Figur 6 påviste Aptima HIV-1 Quant Dx assayet linearitet på tværs af det testede område.



Figur 6. Linearitet af Aptima HIV-1 Quant Dx-assayet

Linearitet på tværs af HIV-1-undertyper og -grupper

Den lineære respons for Aptima HIV-1 Quant Dx-assayet på tværs af gruppe M (undertype A, B, C, D, F, G, H, CRF01_AE) og gruppe N og O blev bekræftet ved at teste paneler, der bestod af HIV-1-transkript fortyndet i buffer i koncentrationer fra 2,00 til 6,70 log₁₀ kopier/ml. Testning blev udført på fire Panther systemer på tværs af seks kørsler. Der blev påvist linearitet i hele det testede område (Figur 7).



Figur 7. Linearitet på tværs af gruppe M (undertyper A, B, C, D, F, G, H, CRF01_AE) og grupperne N og O

Bestemmelse af nedre kvantiteringsgrænse ved brug af den 3. internationale WHO-standard for HIV-1

Den nedre kvantiteringsgrænse (LLOQ) defineres som den laveste koncentration ved hvilken HIV-1 RNA kvantiteres pålideligt inden for en total fejl (TE) i henhold til CLSI EP17-A2 (37). TE blev beregnet vha. Westgard-reglen ($TE = |\text{bias}| + 2SD$). For at sikre nøjagtighed og præcision af målinger blev den samlede fejlprocent (TE) for Aptima HIV-1 Quant-assayet sat til $1 \log_{10}$ kopier/ml (dvs. at ved LLOQ er forskellen mellem to målinger på mere end $1 \log_{10}$ kopier/ml statistisk signifikant).

LLOQ blev bestemt ved at teste paneler, som bestod af fortyndinger fra 3. internationale WHO-standard for HIV-1 (undertype B, NIBSC-kode: 10/152) i HIV-1 negativt humant EDTA-plasma. I henhold til CLSI EP17-A2 blev panelerne testet med tre reagenslot i replikater på 30 for hvert lot fra 23 kørsler. Resultaterne vises i Tabel 5. Den højeste LLOQ på tværs af de tre lot, som er testet på Aptima HIV-1 Quant Dx-assayet ved brug af den 3. internationale WHO-standard for HIV-1, er 15 kopier/ml ($1,17 \log_{10}$ kopier/ml) (Tabel 6).

Tabel 5: Bestemmelse af LLOQ for Aptima HIV-1 Quant Dx Assay ved brug af 3. internationale WHO-standard for HIV-1

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

SD = standardafvigelse TE = Total fejl.

Tabel 6: Oversigt over LLoQ ved anvendelse af 3. internationale WHO-standard for HIV-1 (3 reagenslot)

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

Verifikation af LLoQ på tværs af HIV-1-undertyper og -grupper

LLoQ på tværs af HIV-1-undertyper og -grupper blev verificeret i henhold til CLSI EP17-A2 (37). Der blev fremstillet paneler for hver HIV-1-gruppe M (undertyper A, B, C, D, F, G, CRF01_AE, CRF02_AG) og grupperne N og O ved at tilsætte enten naturligt inficerede kliniske prøver eller kliniske isolater til pooled HIV-1-negativt humant EDTA-plasma. Tests bestod af i alt 30 replikater pr. panelmedlem. Dataene i Tabel 7 viser den laveste koncentration for hver undertype eller gruppe, hvor TE var mindre end 1 log₁₀ kopier/ml. Den højeste LLoQ for alle testede undertyper og grupper var 30 kopier/ml; denne højere værdi blev derfor valgt som LLoQ for Aptima HIV-1 Quant Dx-assayet (Tabel 7).

Tabel 7: Verifikation af LLoQ efter HIV-1-undertype eller -gruppe

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

Præcision

For at vurdere Aptima HIV-1 Quant Dx assays præcision blev et panel, der var fremstillet ved at tilsætte dyrket HIV-1 undertype B-virus i HIV-1-negativt EDTA-plasma, testet af tre operatører ved anvendelse af tre reagenslot på tre Panther systemer i løbet af 20 dage (Tabel 8). Panelet bestod af et HIV-1 negativt panelmedlem og otte HIV-1 positive panelmedlemmer. Tildelingen af koncentrationen for kliniske prøver eller dyrkede virusstammer blev bestemt med et komparatorassay.

Tabel 8: Aptima HIV-1 Quant Dx-assayets præcision

Antal gyldige replikater	Gennemsnitlig koncentration (log ₁₀ kopier/ml)	Mellem-instrument		Mellem-operatør		Mellem-lot		Mellem-kørsel		Inden for-kørsel		I alt	
		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 = standardafvigelse.

^a Dette panelmedlem blev fortyndet 1:3 med prøvefortynder og testet for at evaluere den fortyndede prøves præcision.

Bemærk: Variabilitet pga. visse faktorer kan være numerisk negativ, hvilket kan forekomme, hvis variabiliteten pga. disse faktorer er meget lille. Når dette sker, SD=0 og CV=0 %. Det samlede antal replikater, der blev testet, var 162 for hvert panel; det var kun replikater med en numerisk værdi, der blev analyseret.

Potentielt interfererende endogene og eksogene stoffer

Aptima HIV-1 Quant Dx assays følsomhed over for interferens fra eleverede niveauer af endogene stoffer og fra lægemidler, der normalt ordineres til HIV-1-inficerede personer, blev evalueret. HIV-1 negative humane EDTA-plasmaprøver og prøver med tilsat HIV-1 til en koncentration på 3 log₁₀ kopier/ml af HIV-1 RNA blev testet.

Der blev ikke iagttaget nogen interferens i Aptima HIV-1 Quant Dx assays præstation ved tilstedeværelse af albumin (90 mg/ml), hæmoglobin (5 mg/ml), triglycerider (30 mg/ml) eller ukonjugeret bilirubin (0,2 mg/ml).

Der blev ikke iagttaget interferens i Aptima HIV-1 Quant Dx-assayets præstation ved tilstedeværelse af de eksogene stoffer, vist i Tabel 9 ved koncentrationer mindst tre gange højere end C_{max} (humant plasma).

Tabel 9: Eksogene stoffer

Pool af eksogene stoffer	Testede eksogene stoffer
1	Lopinavir, indinavir, saquinavir, ritonavir, nelfinavir mesylate, darunavir, amprenavir, atazanavir
2	Nevirapin, efavirenz, rilpivirin, clarithromycin, amphotericin B
3	Tenofovir disoproxil fumarate, adefovir dipivoxil, ribavirin, enfuvirtid, maraviroc, raltegravir, dolutegravir
4	Abacavir sulfat, didanosin, zidovudin, lamivudin, stavudin, entecavir, telbivudin, emtricitabin
5	Paroxetin HCl, fluoxetin, sertralin
6	Ganciclovir, valacyclovir, acyclovir, rifampin/rifampicin, ethambutol
7	Ciprofloxacin, azithromycin, amoxicillin, cephalexin, ampicillin, trimethoprim
8	Valganciclovir hydrochlorid, boceprevir, telaprevir, simeprevir, sofosbuvir
9	Pegyleret interferon alfa-2b, interferon alfa-2a, interferon alfa-2b
10	Heparin, EDTA, natriumcitrat
11	Tipranavir
12	Isoniazid

Kliniske EDTA-plasmaprøver, der er angivet i Tabel 10, fra patienter med elevere niveauer af definerede stoffer eller fra patienter med de angivne sygdomme blev testet med Aptima HIV-1 Quant Dx-assayet med og uden tilstedeværelse af 3 log₁₀ kopier af HIV-1 RNA. Der blev ikke iagttaget interferens i præstationen.

Tabel 10: Testede kliniske prøvetyper

Kliniske prøvetyper	
1	Rheumatoidfaktor (RF)
2	Antinukleart antistof (ANA)
3	Anti-Jo-1 antistof (JO-1)
4	Systemisk Lupus Erythematosus (SLE)
5	Leddegigt (RA)
6	Multipel sklerose (MS)
7	Hyperglobulinæmi
8	Eleveret alanin-aminotransferase (ALT)
9	Alkoholisk cirrhose (AC)
10	Multipelt myelom (MM)
11	Lipæmisk (eleveret lipid)
12	Ikterisk (eleveret bilirubin)
13	Hæmolyseret (eleveret hæmoglobin)
14	Eleveret protein/albumin
15	HCV-antistoffer
16	HBV-antistoffer
17	HIV-2-antistoffer

Præstation med HIV-1-negative prøver

Specificiteten for Aptima HIV-1 Quant Dx assay blev bestemt ved anvendelse af 120 friske og 510 frosne HIV-1-negative EDTA-plasmaprøver. Der blev ikke detekteret HIV-1 RNA i alle 630 prøver (specificitet på 100 %; 95 % CI: 99,4-100 %) (Tabel 11).

Tabel 11: Specificiteten i plasmaprøver

	Friskt plasma	Frossent plasma	Alle
Gyldige replikater (n)	120	510	630
Ikke-reaktiv	120	510	630
Specificitet (95 % CI)	100 % (97,0-100)	100 % (99,3-100)	100 % (99,4-100)

CI=confidence interval (konfidensinterval)

Potentielt interfererende mikrobielle kontaminanter

Potentiel krydsreaktivitet over for patogener (Tabel 12) blev evalueret i Aptima HIV-1 Quant Dx-assayet ved tilstedeværelse eller fravær af 3 log₁₀ kopier/ml HIV-1 RNA i HIV-1-negativt humant EDTA-plasma. Der blev ikke iagttaget nogen interferens i præstationen af assayet ved forekomst af patogener.

Tabel 12: Patogener, der er testet for krydsreaktivitet

Patogen	Koncentration
Hepatitis A-virus	100.000 PFU/ml ^a
Hepatitis B-virus	100.000 IU/ml ^b
Hepatitis C-virus	100.000 IU/ml
Hepatitis G-virus	100.000 kopier/ml
Herpes simplex virus 1 (HSV-1)	100.000 PFU/ml
Herpes simplex virus 2 (HSV-2)	75.000 PFU/ml
Human herpes virus 6	100.000 kopier/ml
Human herpes virus 8	42.000 PFU/ml
HIV-2	5.500 PFU/ml
Humant T-celle lymfotrofisk virus (HTLV)	100.000 vp/ml ^c
Vestnilvirus	100.000 kopier/ml
Parvovirus B19	100.000 IU/ml
Cytomegalovirus	100.000 kopier/ml
Epstein-Barr-virus	100.000 kopier/ml
Adenovirus type 5	100.000 PFU/ml
Denguevirus	100.000 kopier/ml
Influenza 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 = Plaque Forming Units (Plakdannende enheder) pr. ml.^b IU/ml = Internationale enheder pr. ml.^c vp/ml = Viruspartikler pr. ml.^d CFU/ml = Colony Forming Units (Kolonidannende enheder) pr. ml.^e IFU/ml = Inclusion Forming Units (Inklusionsdannende enheder) pr. ml.

Repeterbarhed af kliniske prøver

Der lev testet ti kliniske EDTA-plasmaprøver og ti serumprøver i tre replikater ved anvendelse af Aptima HIV-1 Quant Dx assay. Den gennemsnitlige koncentration og standardafvigelse (SD) vises i Tabel 13 og Tabel 14.

Tabel 13: Repeterbarhed af kliniske plasmaprøver

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

SD = standardafvigelse

Tabel 14: Repeterbarhed af kliniske serumprøver

Prøve	Serum	
	Gennemsnitlig koncentration (log ₁₀ kopier/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 = standardafvigelse

Fortynding af prøve ved brug af prøvfortynder

For at evaluere prøvfortyndingen blev et panel bestående af 11 prøver med koncentrationer, der var spredt over Aptima HIV-1 Quant Dx-assayets lineære område, og som bestod af to prøver over assayets ULoQ, testet i ufortyndet og fortyndet form (1:3 eller 1:100 i prøvfortynder) i triplikat (Tabel 15).

Tabel 15: Prøvfortynding

Fortynding	Gennemsnitlig ufortyndet koncentration (log ₁₀ kopier/ml)	Gennemsnitlig rapporteret koncentration ^a (log ₁₀ kopier/ml)	Forskel
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 Rapporteret koncentration er værdien beregnet af Panther-systemet, efter fortyndingsfaktoren er blevet anvendt.

^b Prøve med tilsætning.

^c Alle resultater >7,00 log₁₀ kopier/ml blev estimeret ved anvendelse af yderligere analyse.

Overførsel

Der blev udført en analytisk multikørselsundersøgelse vha. paneler med tilsætning på to Panther systemer for at fastslå, at Panther systemet minimerer risikoen for falsk positive resultater, forårsaget af overførselskontaminering. Overførsel blev evalueret med høj titer HIV-1 prøver med tilsætning (7 log₁₀ kopier/ml) fordelt over HIV-1-negative prøver i et skakbrætmønster. Testningen blev udført over fem kørsler. Den samlede overførselsrate var 0 % (= 469).

Serokonverteringspanel

Nitten HIV-1 serokonverteringspanelsæt, bestående af 204 prøver, blev testet ved anvendelse af Aptima HIV-1 Quant Dx assay. Detektion af HIV-1 RNA blev sammenlignet med detektion med p24-antigen-tests og med HIV-1/2-antistof-tests. Antallet af dage til det første reaktive resultat ved brug af p24-antigen-tests, anti-HIV 1/2-antistof-tests og Aptima HIV-1 Quant Dx assay er angivet i Tabel 16. Aptima HIV-1 Quant Dx-assayet detekterede HIV-1 RNA i gennemsnit hhv. 5,58 og 11,16 dage før p24 antigen og anti-HIV 1/2 antistof-tests.

Tabel 16: Oversigt over serokonverteringspaneldata

Panel-id	Antal testede panelmedlemmer	Antal reaktive panelmedlemmer			Dage til første reaktive resultat			Forskel i dage til første reaktive resultat (baseret på dato for blodprøve)	
		Aptima HIV-1 Quant Dx	HIV p24-antigen	Anti HIV 1/2-antistof	Aptima HIV-1 Quant Dx	HIV p24-antigen	Anti HIV 1/2-antistof	Dage tidligere detektion end HIV p24-antigen	Dage tidligere detektion end Anti HIV 1/2-antistof
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
I alt	204	82	51	20		Middel Median		5,58 7	11,16 12

^a Alle blodprøver i dette panel var ikke-reaktive for anti-HIV 1/2-antistof. Den sidste dag med blodprøver blev brugt som "Dage til første reaktive resultat."

Anti-HIV-1/2-antistof-testning blev udført med Abbot Anti-HIV 1/2, med følgende undtagelser:

^b Panelerne PRB974, PRB975 og PRB978 blev testet med Siemens Anti-HIV 1/2-test.

HIV-1 p24-antigentest blev udført med Coulter HIV-1 p24 Ag, med følgende undtagelser:

^b Panelerne PRB974, PRB975 og PRB978 blev testet med BioMerieux p24 Ag-test.

Undersøgelse af ækvivalens for serum, plasma

For at vurdere ækvivalensen blev matchede sæt af serum og plasma (25 HIV-1-positive og 25 HIV-1-negative) og 40 prøver, der var tilsat dyrket HIV-1 (50–1.000.000 kopier/ml i HIV-1-negativt plasma og serum), testet med Aptima HIV-1 Quant Dx-assayet. Den negative overensstemmelse var 100,0 % (95 % CI: 97,0 %–100,0 %). Den positive overensstemmelse var 98,4 % (95 % CI: 95,4 % - 99,5 %).

Reproducerbarhedsundersøgelser

Reproducerbarhed i plasmaprøver

Reproducerbarhed for Aptima HIV-1 Quant Dx assay i plasmaprøver blev vurderet i 3 eksterne laboratorier. To operatører udførte testning i hvert laboratorium. Hver operatør udførte 2 kørsler pr. dag over 3 dage ved brug af 3 reagenslot i løbet af testningen. Hver kørsel havde 3 replikater af hvert panelmedlem.

Reproducerbarheden blev testet ved anvendelse af panelmedlemmer, der bestod af HIV-1-negativt EDTA-plasma. De positive panelmedlemmer blev fremstillet ved at tilsætte dyrket virus (HIV-1 undertype B) til det negative plasma i koncentrationer, der strakte sig over det lineære område for Aptima HIV-1 Quant Dx assay.

Tabel 17 viser assayresultaternes reproducerbarhed og præcision for hvert positivt panelmedlem mellem laboratorier, mellem operatører, mellem lot, mellem dage, mellem kørsler, inden for kørsler og i alt. Når det kun var prøver med resultater over den nedre kvantiteringsgrænse (LLoQ), der blev inkluderet (prøver med resultater under LLoQ blev ekskluderet), var den samlede SD $\leq 0,2 \log_{10}$ kopier/ml for alle panelmedlemmer. Når alle prøver med detekterbart HIV-1 RNA blev inkluderet, forblev de samlede SD-værdier uændrede med undtagelse af panelmedlem 1, hvis samlede SD var $0,3 \log_{10}$ kopier/ml.

Overensstemmelsesværdierne var 100 % for alle HIV-1-positive panelmedlemmer. For det HIV-1-negative panelmedlem blev 108 replikater testet, og HIV-1 RNA blev ikke detekteret i alle 108 replikater (negativ overensstemmelse = 100 %, 95 % Score CI: 96,6 % til 100 %).

Tabel 17: Reproducerbarhed og præcision for Aptima HIV-1 Quant Dx-assayet på Panther System i panelmedlemmer med positivt plasma

Panel	N ^a	Middel Log ₁₀ Kopier/ml	Mellem laboratorier		Mellem operatører		Mellem lots		Mellem dage		Mellem kørsler		Inden for kørsler		I alt	
			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=standardafvigelse

^a Antal gyldige testresultater med detekterbart HIV-1 RNA.

^b Inkluderer 22 replikater rapporteret som <1,47 log₁₀ kopier/ml. Denne prøve havde en tildelt værdi på 1,176 log₁₀ kopier/ml.

^c Antal gyldige resultater inden for assayets lineære område.

^d Inkluderer én replikat rapporteret som >7 log₁₀ kopier/ml. Denne prøve havde en tildelt værdi på 7,18 log₁₀ kopier/ml.

Bemærk: Variabiliteten pga. visse faktorer kan være numerisk negative. Dette kan forekomme, hvis variabiliteten pga. disse faktorer er meget lille (mindre end 0,01). I disse tilfælde vises SD og CV som 0.

Reproducerbarhed i serumprøver

Reproducerbarhed for Aptima HIV-1 Quant Dx assay i serumprøver blev vurderet i 3 eksterne laboratorier. To operatører udførte testning i hvert laboratorium. Hver operatør udførte 1 kørsel pr. dag over 5 dage ved brug af 1 reagenslot i løbet af testningen. Hver kørsel havde 3 replikater af hvert panelmedlem.

Reproducerbarhed blev testet ved brug af panelmedlemmer klargjort med HIV-1-negativt serum. To positive panelmedlemmer blev lavet ved at tilsætte 3X-5X LoD og 10X LoD koncentrationer af dyrket virus (HIV-1 undertype B) til den negative serummatrix.

Tabel 18 viser assayresultaternes reproducerbarhed og præcision for hvert positivt panelmedlem mellem laboratorier, mellem operatører, mellem dage, mellem kørsler, inden for kørsler og i alt.

Overensstemmelsesværdierne var 100 % for alle HIV-1-positive panelmedlemmer. For det HIV-1-negative panelmedlem blev 90 replikater testet, og HIV-1 RNA blev ikke detekteret i 89/90 replikater (negativ overensstemmelse = 98,9 %, 95 % Score CI: 94,0 % til 99,8 %).

Tabel 18: Reproducerbarhed og præcision for Aptima HIV-1 Quant Dx-assayet på Panther System i panelmedlemmer med positivt serum

Panel	N	Gennemsnitlig Log ₁₀ kopier/ ml	Mellem laboratorier		Mellem operatører		Mellem dage		Mellem kørsler		Inden for kørsler		I alt	
			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=standardafvigelse (log₁₀ kopier/ml).

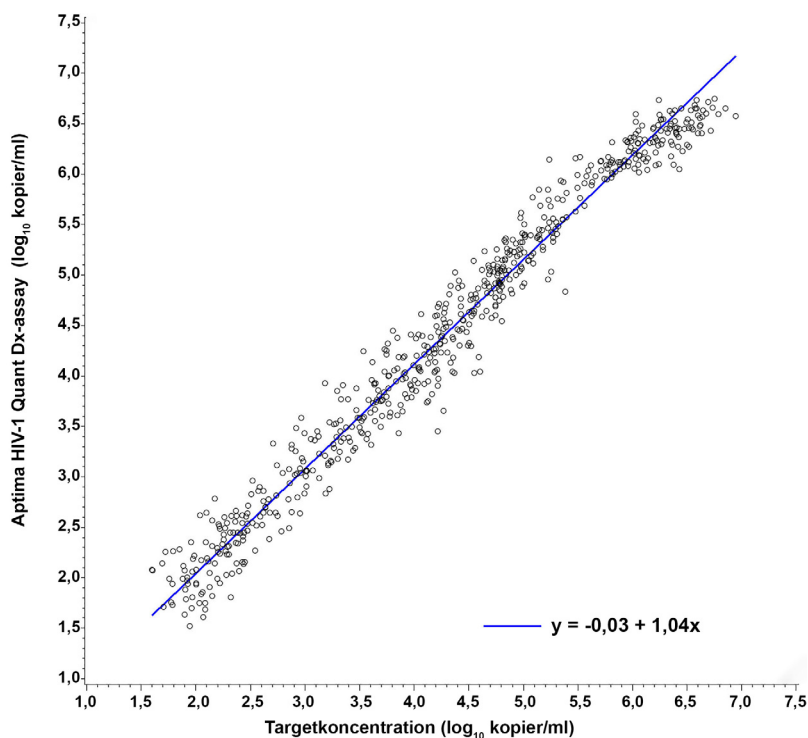
Bemærk: Variabilitet pga. visse faktorer kan være numerisk negativ. Dette kan forekomme, hvis variabiliteten pga. disse faktorer er meget lille. I disse tilfælde vises SD og CV som 0,00.

Klinisk præstation

Validering af viral load-kvantitering

Kvantitering af HIV-1 RNA blev sammenlignet mellem Aptima HIV-1 Quant Dx assay og et komparatorassay. Undersøgelsen omfattede tests af kliniske EDTA-plasmaprøver (opbevaret i frisk eller frosen tilstand) og konstruerede prøver (dyrket virus tilsat negative kliniske plasmaprøver). Hver prøve blev testet i duplikat med Aptima HIV-1 Quant Dx assayet og komparatorassayet. Aptima HIV-1 Quant Dx assaytestning blev udført i 3 eksterne laboratorier, hvor hvert laboratorium anvendte 3 reagenskitlot; komparatorassaytestning blev udført i et eksternt laboratorium.

628 matchede prøvesæt (inden for det lineære område for begge assays) fra 484 tilmeldte forsøgspersoner og 144 konstruerede prøver blev testet med Aptima HIV-1 Quant Dx-assayet og komparatorassayet. Figur 8 viser resultaterne af Deming-regressionsanalysen ($y = -0,03 + 1,04x$).



Figur 8. Korrelation mellem Aptima HIV-1 Quant Dx-assayet og komparatorassayet

Undersøgelse af klinisk specificitet

Klinisk specificitet i HIV-1-negative prøver

Tidligere frosne HIV-1-negative EDTA-plasmaprøver fra frivillige fuldblodsdonorer blev testet med Aptima HIV-1 Quant Dx assay. Tests blev udført med 3 reagenskitlot i 3 eksterne laboratorier. Klinisk specificitet blev beregnet som procentdelen af HIV-1-negative prøver med resultater for "Not Detected" (Ikke detekteret). Seks hundrede (600) HIV-1-negative plasmaprøver blev testet, og der blev ikke detekteret HIV-1 RNA i alle 600 prøver. Specificiteten i negative plasmaprøver var 100 % (600/600, 95 % Score CI: 99,4 % til 100 %).

Klinisk specificitet i lavrisikopopulation

Prøver, der tidligere var frosne, udtaget fra førstegangs-bloddonorer og ikke-bloddonorer med lav risiko for HIV-1-infektion blev testet med Aptima HIV-1 Quant Dx assay. Tests blev udført med 1 reagenskitlot i 1 eksternt laboratorium. Klinisk specificitet blev beregnet ved at sammenligne Aptima HIV-1 Quant Dx-assayresultater med NAT-assayresultater.

Tabel 19 viser Aptima HIV-1 Quant Dx-assayets specificitet i en lavrisikopopulation efter prøvetype.

Tabel 19: Aptima HIV-1 Quant Dx-assayets kliniske specificitet i en lavrisikopopulation efter prøvetype

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

CI = confidence interval (konfidensinterval), FN = false negative (falsk negativ), FP = false positive (falsk positiv), TN = true negative (sand negativ), TP = true positive (sand positiv).

^a Clopper-Pearson CI.

^b 1 ud af 2 serumprøver med falsk positive resultater var positive, når de blev testet med et 4. generations HIV-1/HIV-2 antigen/antistof-kombinationsimmunoassay.

Undersøgelse af klinisk sensitivitet

Klinisk sensitivitet i HIV-1-positive prøver

HIV-1-positive prøver, der tidligere var frosne, blev testet med Aptima HIV-1 Quant Dx assay. Tests blev udført med 2 reagenskitlot i 3 laboratorier, herunder 2 eksterne laboratorier.

Tabel 20 viser Aptima HIV-1 Quant Dx-assayets sensitivitet i positive prøver efter prøvetype.

Tabel 20: Aptima HIV-1 Quant Dx-assayets kliniske sensitivitet i HIV-1-positive prøver efter prøvetype

Prøvetype	n	TP	FN	Sensitivitet % (95 % CI) ^a
Alle	1.572	1.565	7	99,6 (99,1, 99,8)
Serum	524	520	4	99,2 (98,1, 99,8)
Plasma	1.048	1.045	3	99,7 (99,2, 99,9)

CI = confidence interval (konfidensinterval), FN = false negative (falsk negativ), TP = true positive (sand positiv).

^a Clopper-Pearson CI.

Klinisk sensitivitet i højrisikopopulation

Prospektivt udtagne prøver fra personer med høj risiko for HIV-1-infektion blev testet med Aptima HIV-1 Quant Dx assay. Tests blev udført med 1 reagenskitlot i 3 laboratorier, herunder 2 eksterne laboratorier. Klinisk sensitivitet blev beregnet ved at sammenligne Aptima HIV-1 Quant Dx assayresultater med NAT-assayresultater.

Ud af de 498 prøver, der var evaluerbare, var 332 plasmaprøver og 166 serumprøver. Den kliniske sensitivitet var 100 % (1/1, 95 % CI: 20,7 % til 100 %) i serumprøver. Sensitiviteten kunne ikke vurderes i plasmaprøver, da der ikke blev iagttaget prøver med sandt positive eller falsk negative assayresultater.

Positivitet i serodiskordante prøver

Tidligere frosne serodiskordante prøver (dvs. gentagne gange reaktive på et indledende HIV-immunoassay og ubestemte eller negative på et supplerende immunoassay) blev udtaget fra bloddonorer, og ikke-bloddonorer blev testet med Aptima HIV-1 Quant Dx assay. Ud af 473 evaluerbare prøver blev 76 udvalgt fra serokonverteringspaneler. Tests blev udført med 2 reagenskitlot i 1 internt laboratorium. Positiviteten blev beregnet for serodiskordante prøver, testet med Aptima HIV-1 Quant Dx assay.

Tabel 21 viser Aptima HIV-1 Quant D-assayets positivitet i serodiskordante prøver efter prøvegruppe, supplerende testtype for HIV og supplerende testresultat for HIV.

Tabel 21: Aptima HIV-1 Quant Dx-assayets positivitet i serodiskordante prøver

Supplerende Testtype	Supplerende Testresultat	Positivitet % (n/N) 95 % CI ^a		
		Ikke-serokonvertering Panelgruppe		Serokonvertering Panelgruppe
		3. Gen	4. Gen	4. Gen
HIV-1/2 immunokromatografisk	Negativ	N/A	0,0 (0/11) 0,0-25,9	100 (6/6) 61,0-100
HIV-1/2 immunokromatografisk	Ubestemt	N/A	100 (1/1) 20,7-100	100 (1/1) 20,7-100
HIV-1/2 Rapid	Negativ	N/A	0,0 (0/11) 0,0-25,9	100 (24/24) 86,2-100
HIV-1/2 Rapid	Ubestemt	N/A	0,0 (0/2) 0,0-65,8	N/A
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	Ubestemt	0,0 (0/128) 0,0-2,9	100 (1/1) 20,7-100	100 (10/10) 72,2-100

3. Gen=tredjegerations immunoassay, 4. Gen=fjerdegenerations immunoassay, CI=konfidensinterval, IFA=indirekte immunofluorescerende assay, N/A=ikke tilgængelig, WB=Western blot.

^a Score CI.

Bibliografi

1. Barre-Sinoussi, F., J. C. Chermann, F. Rey, M. T. Nugeyre, S. Chamaret, J. Gruest, C. Daugey, C. Axler-Blin, F. Vezinet-Brun, C. Rouzioux, W. Rozenbaum og 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 og 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 og 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 og J. M. Mann. 1988. AIDS: An international perspective. *Science* **239**:573–579.
5. Sarngadharan, J. G., M. Popovic, L. Broch, J. Scupbach og 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 og P. J. Dailey. 1987. Comparative studies on use of fresh and frozen peripheral blood lymphocyte specimens for isolation of human immunodeficiency virus and effects of cell lysis on isolation efficiency. *J. Clin. Microbiol.* **25**:1291–1294.
7. Clavel, F., D. Guetard, F. Brun-Vezinet, S. Chamaret, M. Rey, M. O. Santos-Ferraira, A. G. Laurent, C. Daugey, C. Katlama, C. Rouzioux, D. Klatzmann, J. L. Champalimaud og 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 og L.V. von Stedingk. 1990. Immunological changes in primary HIV-1 infection. *AIDS* **4**:995–999.
10. Tindall, B. og 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 og 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 og 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 og 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 og 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**, før 694.
16. Schnittman, S. M., J. J. Greenhouse, M. C. Psallidopoulos, M. Baseler, N. P. Salzman, A. S. Fauci og 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 og 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 og 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 og 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 og 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 og 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 og 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 og 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 og 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. og 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 og 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 og 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 og 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. og 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.

Kontaktoplysninger og revisionshistorik



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



Hologic BV
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

Australsk sponsor

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

For e-mailadresse og telefonnummer til landespecifik teknisk support og kundeservice henvises til www.hologic.com/support.

Alvorlige hændelser, der opstår i forbindelse med anordningen i Den Europæiske Union, skal rapporteres til producenten og den kompetente myndighed i det medlemsland, hvor brugeren og/eller patienten er etableret.

Hologic, Aptima, Panther, Panther Fusion og tilhørende logoer er varemærker eller registrerede varemærker, tilhørende Hologic, Inc. og/eller dets datterselskaber i USA og/eller andre lande.

Armored RNA er et varemærke, tilhørende Asuragen, Inc.

Alle andre varemærker, der måtte findes i denne indlægsseddel, tilhører deres respektive ejere.

Dette produkt kan være omfattet af et eller flere amerikanske patenter, der kan findes på www.hologic.com/patents.

© 2020–2025 Hologic, Inc. Alle rettigheder forbeholdes.

AW-28214-1901 Rev. 002

2025-10

Revisionshistorik	Dato	Beskrivelse
AW-28214-1901 Rev. 001	April 2025	• Første udgivelse opfyldelse af IVDR-kravene.
AW-28214-1901 Rev. 002	Oktober 2025	• Denne version er i overensstemmelse med AW-28214-001 Rev. 002 og Rev. 003 (This version aligns with AW-28214-001 Rev. 002 & Rev. 003).