

Aptima™ HIV-1 Quant Dx Assay

Bestemd voor *in-vitro* diagnostiek.

Alleen voor export uit VS.

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| Algemene informatie | 2 |
| Beoogd gebruik | 2 |
| Samenvatting en uitleg van de test | 2 |
| Principes van de procedure | 3 |
| Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen | 4 |
| Vereisten voor opslag en hantering van reagentia | 7 |
| Monstername en -opslag | 8 |
| Op het Panther System geladen monsters | 11 |
| Vervoer van monsters | 11 |
| Panther System | 12 |
| Geleverde reagentia en materialen | 12 |
| Benodigde, maar apart geleverde materialen | 13 |
| Optionele materialen | 14 |
| Testprocedure voor het Panther System | 15 |
| Procedurele opmerkingen | 19 |
| Kwaliteitscontrole | 20 |
| Assaykalibratie | 20 |
| Negatieve en positieve controles | 20 |
| Interne kalibrator/interne controle | 20 |
| Interpretatie van resultaten | 21 |
| Beperkingen | 22 |
| Prestaties | 23 |
| Detectielimiet (LOD) op basis van de 3e internationale WHO-norm voor HIV-1 | 23 |
| Aantoonbaarheidsgrens in HIV-1-subtypen en -groepen | 24 |
| Lineair bereik | 25 |
| Lineariteit in HIV-1-subtypen en -groepen | 26 |
| Ondergrens van kwantificering (LLOQ) op basis van de 3e internationale WHO-norm voor HIV-1 | 27 |
| Verificatie van LLOQ in HIV-1-subtypen en -groepen | 28 |
| Precisie | 29 |
| Potentieel storende stoffen | 29 |
| Specificiteit | 31 |
| Analytische specificiteit | 32 |
| Herhaalbaarheid van klinische monsters | 33 |
| Monsterverdunning met gebruik van monsterverdunner | 34 |
| Correlatie tussen methoden | 35 |
| Diagnostische overeenkomst | 36 |
| Kruisbesmetting | 36 |
| Seroconversiepanel | 37 |
| Equivalentiestudie serum/plasma | 38 |
| Bibliografie | 39 |

Algemene informatie

Beoogd gebruik

De Aptima HIV-1 Quant Dx Assay is een *in vitro* nucleïnezuuramplificatietest voor de detectie en kwantificering van RNA-groepen M, N en O van het humaan immunodeficiëntievirus type 1 (HIV-1) op het volledig geautomatiseerde Panther™-systeem. De assay is bestemd voor gebruik als hulp bij de diagnose van HIV-1-infectie, als bevestiging van HIV-1-infectie en als hulp bij de klinische behandeling van patiënten die met HIV-1 zijn geïnfecteerd.

De Aptima HIV-1 Quant Dx Assay kan worden gebruikt als hulp bij de diagnose van HIV-1-infectie, met inbegrip van acute of primaire infectie. Aanwezigheid van HIV-1-RNA in het plasma of serum van patiënten zonder antistoffen tegen HIV-1 is een indicatie van acute of primaire HIV-1-infectie. De Aptima HIV-1 Quant Dx Assay kan worden gebruikt als supplementaire test voor monsters die bij herhaling reactieve resultaten leveren met goedgekeurde HIV-immunoassays. Als het monster reactief is in de Aptima HIV-1 Quant Dx Assay, is de HIV-1-infectie hiermee bevestigd.

De Aptima HIV-1 Quant Dx Assay kan ook worden gebruikt in combinatie met klinische symptomen en andere laboratoriummarkers voor ziekteprognose bij personen die met HIV-1 zijn besmet. De Aptima HIV-1 Quant Dx Assay kan worden gebruikt als hulp bij het volgen van het effect van een antiretrovirale behandeling door de gewijzigde HIV-1-RNA-concentratie in plasma te meten.

Wanneer de Aptima HIV-1 Quant Dx Assay wordt gebruikt als hulp bij de diagnose van HIV-1-infectie, worden de prestaties van de assay voor kwalitatieve resultaten vastgesteld met zowel plasma- als serummonsters. Wanneer de assay wordt gebruikt als hulp bij het volgen van het effect van een antiretrovirale behandeling, worden de prestaties van de assay voor kwantitatieve resultaten vastgesteld met plasmamonsters alleen. Serummonsters mogen niet worden gebruikt voor kwantitatieve resultaten.

Deze assay is niet bestemd voor gebruik bij het screenen van bloed- of plasmadonoren.

Samenvatting en uitleg van de test

Epidemiologische studies hebben humaan immunodeficiëntievirus type 1 (HIV-1) geïdentificeerd als het etiologische agens van verworven immunodeficiëntiesyndroom (AIDS) (1-7). HIV kan worden overgedragen via seksueel contact, blootstelling aan geïnfecteerd(e) bloed of bloedproducten, of via overdracht van moeder op kind (8). Binnen 3 tot 6 weken na blootstelling aan HIV ontstaat er bij geïnfecteerde personen over het algemeen een kort, acuut syndroom dat is gekenmerkt door griepachtige symptomen en gepaard gaat met hoge viremie in het perifere bloed (9-12). Bij de meeste geïnfecteerde personen wordt deze vroege fase gevolgd door een HIV-specifieke immunrespons en een afname van plasmaviremie, gewoonlijk binnen 4 tot 6 weken na aanvang van de symptomen (13-14). Na seroconversie begint bij geïnfecteerde personen meestal een klinisch stabiele, asymptomatische fase die jaren kan duren (15-17). De asymptomatische periode wordt gekenmerkt door aanhoudende, lage plasmaviremie (18) en een geleidelijke depletie van CD4+-T-lymfocyten. Deze depletie leidt tot ernstige immunodeficiëntie, meerdere opportunistische infecties, maligniteiten en overlijden (19). Hoewel de virusconcentratie in het perifere bloed relatief laag is tijdens de asymptomatische fase van de infectie, blijken virusreproductie en -klaring dynamische processen te zijn waarbij zeer snelle virusproductie en infectie van CD4+-cellen wordt gecompenseerd door net zo snelle virusklaring, afsterving van geïnfecteerde cellen en aanvulling van CD4+-cellen, met als gevolg dat zowel plasmaviremie als het aantal CD4+-cellen op een stabiel niveau blijven (20-22).

Kwantitatieve metingen van HIV in het perifere bloed hebben aangetoond dat hogere virusconcentraties kunnen worden gecorreleerd met een verhoogd risico van klinische progressie van met HIV gepaard gaande aandoeningen en dat verlaging van de virusconcentratie in plasma in verband kan worden gebracht met een verminderd risico van klinische progressie (23-25). De virusconcentratie in het perifere bloed kan worden bepaald door meting van het HIV-p24-antigeen in serum, door de kwantitatieve kweek van HIV uit plasma of door directe meting van viraal RNA in plasma met gebruik van nucleïnezuur-amplificatie of signaal-amplificatietechnologie (26-30).

De huidige aantoonbaarheid van HIV-1-infectie is hoofdzakelijk gebaseerd op serologische tests op antistoffen en/of p24-antigeen door een immunoassay. De Amerikaanse (VS) Centers for Disease Control raden het gebruik aan van een antistof- en RNA-test voor de diagnose van acute HIV-infecties (31). Hoewel de gevoeligheid van HIV-1-antistof- en p24-antigeen-aantoonbaarheid is verbeterd, is er nog steeds een kritieke periode tussen het tijdstip van infectie en het tijdstip van aantoning door serologische markers. Deze kritieke periode is afhankelijk van de gevoeligheid van de gebruikte serologietest. Naar schatting (32) zijn p24-antigeen-/antistofassays van de 4e generatie wellicht in staat een infectie aan te tonen als de HIV-1-RNA-concentratie 14 000 kopieën/ml bereikt. De Aptima HIV-1 Quant Dx Assay heeft een aantoonbaarheidsgrens die aanzienlijk lager is dan 14 000 kopieën/ml en is in staat om de aanwezigheid van HIV-1 eerder aan te tonen dan HIV-immunoassays.

Moleculaire technieken zoals via transcriptie gemedieerde amplificatie (TMA) worden wijdverspreid gebruikt bij de amplificatie van nucleïnezuuren (31). Bij TMA wordt gebruik gemaakt van specifieke targetcapture en isothermale amplificatie ter detectie van nucleïnezuuren bij meerdere infectieuze pathogenen (32).

De Aptima HIV-1 Quant Dx Assay maakt, door middel van TMA, gebruik van meerdere, lange primers die diverse regio's van het HIV-1-genoom aanpakken om de hoge mutatiesnelheid en meerdere potentiële mutaties in de targetregio te compenseren.

Principes van de procedure

De Aptima HIV-1 Quant Dx Assay bestaat uit drie hoofdstappen die alle plaatsvinden in één buis op het Panther System: target capture, targetamplificatie door transcriptiegemedieerde amplificatie (transcription-mediated amplification, TMA) en aantoning van de amplificatieproducten (amplicon) door de fluorescent gelabelde probes (fluorescerende probes).

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

Doelamplificatie treedt op via TMA, een via transcriptie gemedieerde nucleïnezuuramplificatiemethode waarbij twee enzymen, MMLV (Moloney-muizenleukemievirus)-reverse-transcriptase en T7 RNA-polymerase, worden gebruikt. De reverse-transcriptase wordt gebruikt voor het maken van een (promotorsequentie voor T7 RNA-polymerase bevattende) DNA-kopie van de targetsequentie. Door de T7 RNA-polymerase worden meerdere kopieën RNA-amplicon uit het DNA-kopiesjabloon gemaakt. De Aptima HIV-1 Quant Dx-assay maakt gebruik van de TMA-methode voor amplificatie van twee regio's van HIV-1-RNA (polymerase en LTR). Amplificatie van deze specifieke gebieden wordt verkregen met gebruik van specifieke primers die bestemd zijn om HIV-1-groepen M, N en O te amplificeren. Het


primerontwerp en de dubbele targetbenadering waarborgen de nauwkeurige aantoning en bepaling van HIV-1.

Aantoonbaarheid wordt verkregen met gebruik van fluorescerende probes van enkelstrengs nucleïnezuur die aanwezig zijn tijdens de amplificatie van het target en die specifiek aan het amplicon hybridiseren in real time. Elke fluorescerende probe heeft een fluorofoor en een quencher. Wanneer de fluorescerende probe niet aan het amplicon is gehybridiseerd, bevindt de quencher zich in de onmiddellijke nabijheid van de fluorofoor en onderdrukt dan de fluorescentie. Wanneer de fluorescerende probe zich aan het amplicon bindt, wordt de quencher verder van de fluorofoor verwijderd en zendt een signaal uit op een specifieke golflengte wanneer hij door een lichtbron wordt geëxciteerd. Naarmate meerdere fluorescerende probes aan het amplicon hybridiseren, ontstaat een hoger fluorescent signaal. De tijd die verstrijkt totdat het fluorescente signaal een gespecificeerde drempel bereikt, is evenredig met de beginconcentratie van HIV-1. Elke reactie heeft een interne kalibrator/interne controle (IC) die controleert op variaties in monsterverwerking, amplificatie en aantoning. De concentratie van een monster wordt bepaald door de Panther System Software met gebruik van de HIV-1- en IC-signalen voor elke reactie en door deze te vergelijken met kalibratiegegevens.

Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen

- A. Bestemd voor *in-vitro* diagnostiek.
- B. Om het risico van ongeldige resultaten te verkleinen, dient u zorgvuldig de gehele bijsluiter en de *Panther System Operator's Manual* (gebruikershandleiding van het Panther System) te lezen alvorens deze assay uit te voeren.

Met betrekking op het laboratorium

-  C. LET OP: De controles voor deze assay bevatten humaan plasma. Het plasma is negatief voor HBsAg (Hepatitis B surface Antigen), antistoffen tegen HCV, antistoffen tegen HIV-1 en HIV-2, en HIV-antigeen wanneer getest met door de Amerikaanse (VS) Food and Drug Administration geautoriseerde procedures. Daarnaast is het plasma niet-reactief voor HCV-RNA en HIV-1-RNA wanneer getest met geautoriseerde nucleïnezuurtests met gebruik van gepoolde monsters. Alle van humaan bloed afkomstige materiaal dient te worden beschouwd als potentieel besmettelijk en moet worden gehanteerd met universele voorzorgsmaatregelen (35-37).
- D. Alleen personeel dat adequaat is opgeleid in het gebruik van de Aptima HIV-1 Quant Dx Assay en in het hanteren van potentieel besmettelijk materiaal, mag deze procedure uitvoeren. Als er materiaal is gemorst, desinfecteer dan onmiddellijk volgens de gepaste procedures van de instelling.
- E. Gebruik alleen de geleverde of aangegeven wegwerp-laboratoriumartikelen.
- F. Gebruik de normale laboratoriumvoorzorgsmaatregelen. Niet met de mond pipetteren. Eet, drink of rook niet in de aangeduide werkgebieden. Draag poederloze wegwerphandschoenen, oogbescherming en labjassen tijdens het hanteren van monsters en pakketreagentia. Was de handen grondig na het hanteren van monsters en pakketreagentia.
- G. Werkoppervlakken, pipetten en overige apparatuur moeten regelmatig worden ontsmet met 2,5% tot 3,5% (0,35 M tot 0,5 M) natriumhypochlorietoplossing.

- H. Voer alle materiaal af dat in contact is gekomen met monsters en reagentia volgens lokale, regionale en landelijke voorschriften (35-38). Reinig en desinfecteer grondig alle werkoppervlakken.
- I. De controles bevatten het bewaarmiddel natriumazide. Gebruik geen metalen buizen om reagentia over te brengen. Als oplossingen die natriumazideverbindingen bevatten, worden afgevoerd in een sanitaire installatie, moeten ze worden verdund en doorgespoeld met ruime hoeveelheden stromend water. Deze voorzorgsmaatregelen worden aanbevolen om te voorkomen dat afzettingen zich ophopen in metalen buizen waarin explosieve omstandigheden kunnen ontstaan.
- J. Goede standaardpraktijken voor moleculaire laboratoria omvatten controle van de laboratoriumomgeving. De volgende procedure wordt gesuggereerd voor het controleren van een laboratoriumomgeving.
1. Pak een wattenstaafje en voeg het bij de Aptima Specimen Aliquot Tube (SAT-buis).
 2. Label elke SAT-buis op passende wijze.
 3. Vul elke SAT-buis met 1 ml Aptima-monsterverdunner.
 4. Bevochtig een staafje lichtjes met nucleasevrij gedeïoniseerd water om de oppervlakmonsters te nemen.
 5. Neem een monster van het betreffende oppervlak af met een verticale beweging van het staafje van boven naar beneden. Draai het staafje ongeveer een halve slag terwijl u het monster afneemt.
 6. Plaats het afgenomen monster onmiddellijk in de buis en roer het wattenstaafje voorzichtig met wervelende bewegingen door de verdunner om potentieel afgenomen materiaal te extraheren. Druk het staafje tegen de binnenkant van de transportbuis om zo veel mogelijk vloeistof te onttrekken. Werp het staafje weg en doe een dop op de buis.
 7. Herhaal de stappen voor de resterende afgenomen monsters.
 8. Test het monster met een moleculaire assay.

Met betrekking op monsters

- K. De monsters kunnen besmettelijk zijn. Gebruik universele voorzorgsmaatregelen (35-37) bij het uitvoeren van deze assay. De juiste methoden voor hantering en afvoer moeten worden vastgesteld in overeenstemming met plaatselijke voorschriften (38). Alleen personeel dat adequaat is opgeleid in het gebruik van de Aptima HIV-1 Quant Dx Assay en in het hanteren van besmettelijk materiaal, mag deze procedure uitvoeren.
- L. Zorg dat de monsters worden verzonden onder de juiste opslagomstandigheden om hun integriteit te waarborgen. De stabiliteit van de monsters in andere dan de aanbevolen verzendingsomstandigheden is niet geëvalueerd.
- M. Voorkom kruisbesmetting tijdens de stappen waarin de monsters worden gehanteerd. Wees vooral voorzichtig als u de doppen van de monsters losmaakt of verwijdert om besmetting door de verspreiding van aerosolen te voorkomen. De monsters kunnen uiterst veel organismen bevatten. Zorg ervoor dat monsterrecipiënten niet met elkaar in contact komen en voer gebruikt materiaal niet over open recipiënten af. Vervang uw handschoenen als deze met een monster in contact komen.

Met betrekking op assays


- N. De kwantitatieve resultaten van de Aptima HIV-1 Quant Dx Assay zijn met plasma geëvalueerd. Er mag geen serum worden gebruikt om kwantitatieve resultaten te verkrijgen. De kwalitatieve resultaten zijn geëvalueerd met zowel plasma als serum.
- O. Gebruik het reagenspakket, de kalibrator of de controles niet na de houdbaarheidsdatum.
- P. Verwissel, meng of combineer geen assayreagentia uit pakketten met verschillende hoofdpartijnummers. De assayvloeistoffen kunnen afkomstig zijn van verschillende partijnummers. De controles en de kalibrator kunnen afkomstig zijn van verschillende partijnummers.
- Q. Voorkom microbiële en nucleaseverontreiniging van de reagentia.
- R. Doe een dop op alle assayreagentia bij gespecificeerde temperaturen en sla ze op. Gebruik van verkeerd opgeslagen reagentia kan de prestaties van de assay verstoren. Zie *Vereisten voor opslag en hantering van reagentia* en *Testprocedure voor het Panther System* voor meer informatie.
- S. Combineer geen assayreagentia of vloeistoffen zonder specifieke aanwijzingen. Vul reagentia of vloeistoffen niet af. Het Panther System verifieert het peil van de reagentia.

Vereisten voor opslag en hantering van reagentia

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

| Reagens | Ongeopend Opslag | Open pakket (gereconstitueerd) | |
|------------------------------------------------|-------------------|--------------------------------|---------------------------------------------------------|
| | | Opslag | Stabiliteit |
| qHIV-1-amplificatiereagens | 2 °C tot 8 °C | | |
| qHIV-1-amplificatiereconstitutieplossing | 2 °C tot 8 °C | 2 °C tot 8 °C | 30 dagen ^a |
| qHIV-1-enzymreagens | 2 °C tot 8 °C | | |
| qHIV-1-enzymreconstitutieplossing | 2 °C tot 8 °C | 2 °C tot 8 °C | 30 dagen ^a |
| qHIV-1-promotorreagens | 2 °C tot 8 °C | | |
| qHIV-1-promotorreconstitutieplossing | 2 °C tot 8 °C | 2 °C tot 8 °C | 30 dagen ^a |
| qHIV-1 target capture reagens | 2 °C tot 8 °C | 2 °C tot 8 °C | 30 dagen ^a |
| qHIV-1 NC CONTROL – (negatieve controle) | -15 °C tot -35 °C | 15 °C tot 30 °C | Flesje voor eenmalig gebruik Binnen 20 uur gebruiken |
| qHIV-1 LPC CONTROL + (laag-positieve controle) | -15 °C tot -35 °C | 15 °C tot 30 °C | Flesje voor eenmalig gebruik Binnen 20 uur gebruiken |
| qHIV-1 HPC CONTROL + (hoog-positieve controle) | -15 °C tot -35 °C | 15 °C tot 30 °C | Flesje voor eenmalig gebruik Binnen 20 uur gebruiken |
| qHIV-1 PCAL (positieve kalibrator) | -15 °C tot -35 °C | 15 °C tot 30 °C | Flesje voor eenmalig gebruik Binnen 20 uur gebruiken |

^a Wanneer reagentia af het Panther System worden gehaald, moeten zij onmiddellijk opnieuw op hun gepaste opslagtemperatuur worden gebracht.

- B. Voer ongebruikte gereconstitueerde reagentia en target capture reagens (Target Capture Reagent, TCR) af na 30 dagen of na de houdbaarheidsdatum van de hoofdpartij, indien eerder.
- C. Op het Panther System geladen en opgeslagen reagentia zijn er 72 uur stabiel. Reagentia kunnen maximaal vijfmaal op het Panther System worden geladen. Het Panther System registreert elke keer dat de reagentia worden geladen.
- D. Na ontdooiing van de kalibrator moet de oplossing helder zijn, d.w.z. niet troebel of zonder neerslag.
-  E. Het promotorreagens en het gereconstitueerde promotorreagens zijn lichtgevoelig. Bescherm deze reagentia tegen licht tijdens opslag of voorbereiding voor gebruik.

Monstername en -opslag

Opmerking: *Behandel alle monsters alsof ze potentieel besmettelijke agentia bevatten. Gebruik universele voorzorgsmaatregelen.*

Opmerking: *Vermijd kruisbesmetting tijdens de stappen waarin de monsters worden gehanteerd. Voer gebruikt materiaal bijvoorbeeld niet over open buizen af.*

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

Voor kwantitatieve metingen:

- buizen die de anticoagulantia EDTA of zure citraatglucose (Acid Citrate Dextrose, ACD) bevatten, of
- PPT-buizen (Plasma Preparation Tubes).

Voor kwalitatieve bepaling:

- buizen die de anticoagulantia EDTA of ACD bevatten, of
- PPT-buizen of
- serumbuizen of
- SST-buizen (Serum Separator Tubes).

Serum kan pas verder verwerkt worden na stolselvorming.

A. Monstername

Volbloed kan worden bewaard bij 2 °C tot 30 °C en moet binnen 24 uur na monstername worden gecentrifugeerd. Scheid het plasma of serum van de neergeslagen rode bloedcellen volgens de aanwijzingen van de fabrikant van de gebruikte buis. Plasma of serum kan op het Panther-systeem in de primaire buis worden getest of overgezet naar de secundaire Aptima-SAT-buis (Specimen Aliquot Tube) en dan op het Panther-systeem worden getest. De minimumhoeveelheid plasma of serum voor primaire afnamebuizen is 1200 µl en voor SAT-buizen is de minimumhoeveelheid 700 µl voor een reactiehoeveelheid van 500 µl.

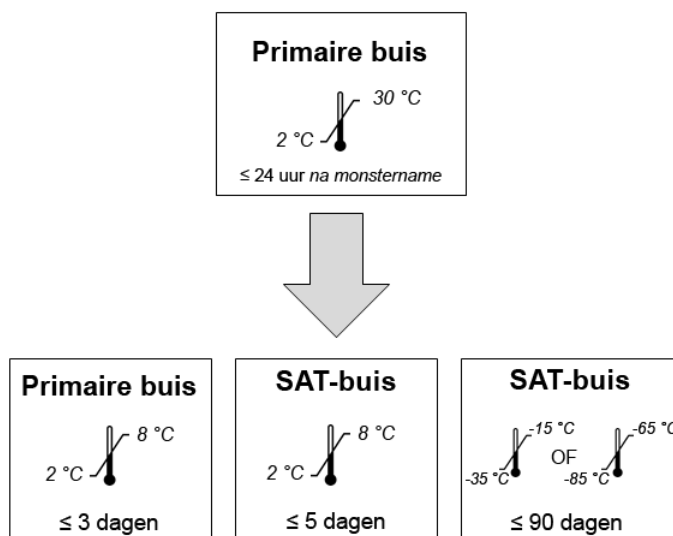
Bij niet onmiddellijk testen kunnen plasma en serum worden bewaard volgens onderstaande specificaties. Bij overzetting in een SAT-buis kan plasma bij -20 °C of -70 °C worden ingevroren, en serum bij -20 °C. Voer niet meer dan drie vries-dooicycli uit om beïnvloeding van het resultaat te voorkomen. Bevries de monsters niet in primaire EDTA-, ACD- of serumafnamebuizen.

B. Opslagomstandigheden voor monsters

1. EDTA- en ACD-plasmamonsters

Tot maximaal 24 uur na monstername kunnen primaire buizen met gecentrifugeerd plasma worden bewaard bij 2 °C tot 30 °C (afbeelding 1, bovenste vak). Na 24 uur kan plasma langere tijd worden bewaard onder een van de volgende omstandigheden (afbeelding 1, onderste vakken):

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

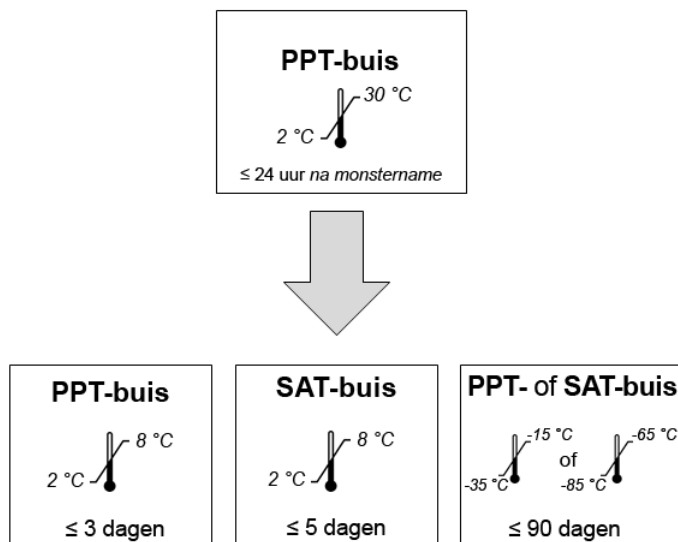


Afbeelding 1. Bewaarcondities voor EDTA-/ACD-buizen

2. PPT-monsters

Tot maximaal 24 uur na monstername kunnen PPT-buizen met gecentrifugeerd plasma worden bewaard bij 2 °C tot 30 °C (afbeelding 2, bovenste vak). Na 24 uur kan plasma langere tijd worden bewaard onder een van de volgende omstandigheden (afbeelding 2, onderste vakken):

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

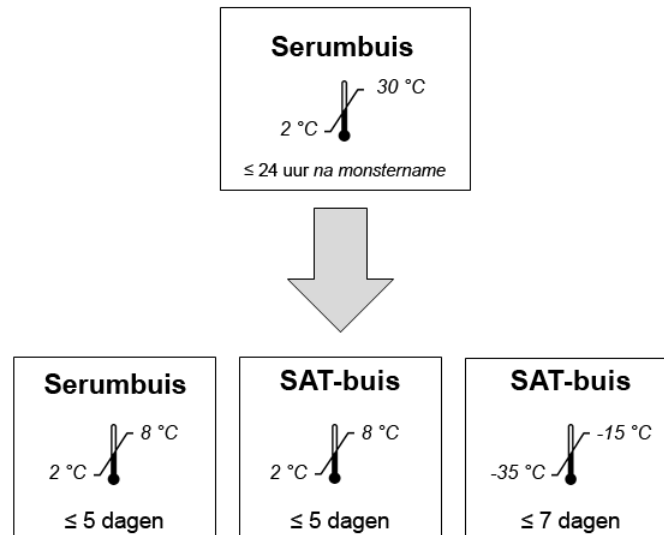


Afbeelding 2. Opslagomstandigheden voor PPT-buizen

3. Serumbuismonsters

Tot maximaal 24 uur na monstername kunnen serumbuizen met gecentrifugeerd serum worden bewaard bij 2 °C tot 30 °C (afbeelding 3, bovenste vak). Na 24 uur kan serum langere tijd worden bewaard onder een van de volgende omstandigheden (afbeelding 3, onderste vakken):

- tot maximaal 5 dagen in de serumbuis bij 2 °C tot 8 °C,
- tot maximaal 5 dagen in de SAT-buis bij 2 °C tot 8 °C of
- tot maximaal 7 dagen in de SAT-buis bij -20 °C.

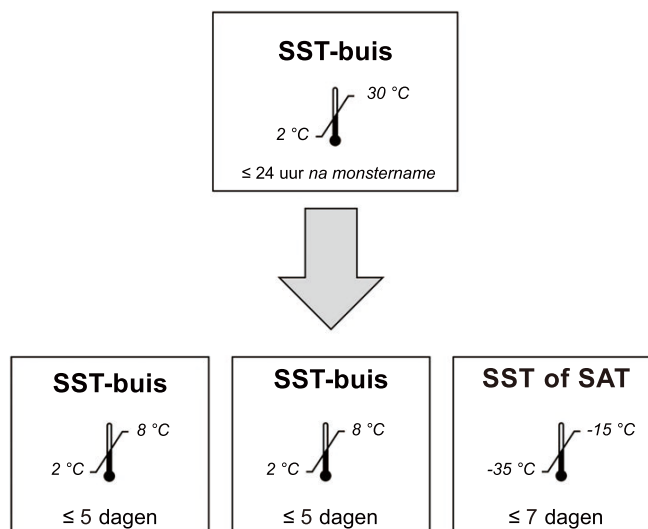


Afbeelding 3. Opslagomstandigheden voor serumbuizen

4. SST-monsters

Tot maximaal 24 uur na monstername kunnen SST-buizen met gecentrifugeerd serum worden bewaard bij 2 °C tot 30 °C (afbeelding 4, bovenste vak). Na 24 uur kan serum langere tijd worden bewaard onder een van de volgende omstandigheden (afbeelding 4, onderste vakken):

- tot maximaal 5 dagen in de SST-buis bij 2 °C tot 8 °C,
- tot maximaal 5 dagen in de SAT-buis bij 2 °C tot 8 °C of
- In de SAT- of SST-buis bij -20 °C gedurende maximaal 7 dagen.



Afbeelding 4. Opslagomstandigheden voor SST-buizen

C. Verdunning van plasmamonsters

Een plasmamonster mag in de SAT worden verdund voor onderzoek met het Panther-systeem. Zie *Testprocedure voor het Panther System*, stap E.6 hieronder voor meer informatie.

Let op: Als een monster wordt verdund, moet het onmiddellijk na verdunning worden getest. Vries een verdund monster niet in.

⚠ *Plasmamonsters mogen alleen worden verdund voor kwantitatieve resultaten. Verdun plasmamonsters niet voor diagnostische uitslagen.*

Op het Panther System geladen monsters

Monsters die niet van een dop zijn voorzien, kunnen tot 8 uur in totaal op het Panther System aanwezig zijn. Monsters kunnen af het Panther System worden gehaald en getest zolang ze niet langer dan 8 uur in totaal op het systeem geladen zijn voorafgaand aan het pipetteren van het monster door het Panther System.

Vervoer van monsters

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

Opmerking: De monsters moeten worden vervoerd volgens de toepasselijke nationale, internationale en regionale transportvoorschriften.

Panther System

Reagentia voor de Aptima HIV-1 Quant Dx Assay worden hieronder vermeld voor het Panther System. Naast de naam van het reagens worden tevens de identificatiesymbolen weergegeven.

Geleverde reagentia en materialen

Opmerking: Informatie over eventuele gevarenaanduidingen en veiligheidsmaatregelen die met reagentia in verband worden gebracht, vindt u in de Safety Data Sheet Library (bibliotheek met veiligheidsinformatiebladen) op www.hologic.com/sds.

Aptima HIV-1 Quant Dx Assay-pakket, 100 tests, cat. nr. PRD-03000 (1 assaydoos, 1 kalibratorpakket, en 1 controlepakket)

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

Aptima HIV-1 Quant Dx Assay-doos
(na ontvangst bewaren bij 2 °C tot 8 °C)

| Symbol | Onderdeel | Hoeveelheid |
|-------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|
| A | qHIV-1-amplificatiereagens <i>Niet-besmettelijke nucleïnezuren gedroogd in gebufferde oplossing.</i> | 1 flesje |
| E | qHIV-1-enzymreagens <i>Reverse-transcriptase en RNA-polymerase gedroogd in HEPES-gebufferde oplossing.</i> | 1 flesje |
| PRO | qHIV-1-promotorreagens <i>Niet-besmettelijke nucleïnezuren gedroogd in gebufferde oplossing.</i> | 1 flesje |
| AR | qHIV-1-amplificatiereconstitutieoplossing <i>Waterige oplossing die glycerol en bewaarmiddelen bevat.</i> | 1 x 7,2 ml |
| ER | qHIV-1-enzymreconstitutieoplossing <i>HEPES-gebufferde oplossing met een surfactant en glycerol.</i> | 1 x 5,8 ml |
| PROR | qHIV-1-promotorreconstitutieoplossing <i>Waterige oplossing die glycerol en bewaarmiddelen bevat.</i> | 1 x 4,5 ml |
| TCR | qHIV-1 target capture reagens <i>Nucleïnezuren in een gebufferde zoutoplossing die vastefase-, niet-besmettelijke nucleïnezuren bevat, en een interne kalibrator.</i> | 1 x 72,0 ml |
| | Reconstitutiekragen | 3 |
| | Streepjescodeblad hoofdpakket | 1 blad |

Aptima HIV-1 Quant Dx-kit met kalibrator (cat. nr. PRD-03001)
(na ontvangst bewaren bij -15 °C tot -35 °C)

| Symbol | Onderdeel | Hoeveelheid |
|--------|----------------------------------------------------------------------------------|-------------|
| PCAL | qHIV-1-positieve kalibrator <i>Transcript in gebufferde oplossing.</i> | 5 x 2,5 ml |
| | Streepjescodelabel kalibrator | — |

Aptima HIV-1 Quant Dx-controlepakket (cat. nr. PRD-03002)
(na ontvangst bewaren bij -15 °C tot -35 °C)

| Symbol | Onderdeel | Hoeveelheid |
|--------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|
| NC | qHIV-1-negatieve controle <i>HIV-1-negatief gedefibrineerd humaan plasma dat de bewaarmiddelen gentamicine en 0,2% natriumazide bevat.</i> | 5 x 1,5 ml |
| LPC | qHIV-1-laag-positieve controle <i>Niet-besmettelijk HIV-1 Armored RNA in gedefibrineerd humaan plasma dat de bewaarmiddelen gentamicine en 0,2% natriumazide bevat.</i> | 5 x 1,5 ml |
| HPC | qHIV-1-hoog-positieve controle <i>Niet-besmettelijk HIV-1 Armored RNA in gedefibrineerd humaan plasma dat de bewaarmiddelen gentamicine en 0,2% natriumazide bevat.</i> | 5 x 1,5 ml |
| | Steepjescodelabel controle | — |

Benodigde, maar apart geleverde materialen

Opmerking: Voor materialen die bij Hologic verkrijgbaar zijn, is het catalogusnummer vermeld, tenzij ze op andere wijze zijn gespecificeerd.

| Materiaal | Cat. nr. |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------|
| Panther System | — |
| Panther uitvoerpakket voor realtime assays (alleen voor realtime assays) | PRD-03455 (5000 tests) |
| <i>Aptima Assay-vloeistofpakket (ook bekend als universele vloeistofkit) bevat Aptima-wasoplossing, Aptima-buffer voor deactiveringsvloeistof en Aptima-oliereagens</i> | 303014 (1000 tests) |
| <i>Apparaten voor meerdere buizen (multi-tube units, MTU's)</i> | 104772-02 |
| <i>Panther-afvalzakpakket</i> | 902731 |
| <i>Panther-afvalbakdeksel</i> | 504405 |
| Of, Panther Systeem uitvoerpakket <i>(tijdens het uitvoeren van niet-realtime-TMA-assays parallel met realtime -TMA-assays) bevat MTU's, afvalzakken, afvalbakdeksels, autom. detect. en assayvloeistoffen</i> | 303096 (5000 tests) |
| Punten, 1000 µl, geleidend, voor detectie van vloeistofpeil | 10612513 (Tecan) |
| Bleekmiddel, 5% tot 7% (0,7 M tot 1,0 M) natriumhypochlorietoplossing | — |
| Poederloze wegwerphandschoenen | — |

| | |
|--------------------------------------------------------------|---------------------|
| Vervangende niet-doorprikbare doppen | 103036A |
| Vervangende doppen voor reagentia | |
| <i>Reagensreconstitutieflessen voor amplificatie,</i> | |
| <i>enzymen en promoters</i> | CL0041 (100 doppen) |
| <i>TCR-fles</i> | CL0040 (100 doppen) |
| Laboratoriumtafelafdekkingen met een plastic achterkant | — |
| Pluisvrije doekjes | — |
| Pipet | — |
| Punten | — |
| Er kunnen primaire afnamebuizen (ACD, EDTA, PPT, SST, serum) | — |
| met de volgende afmetingen worden gebruikt: | |
| 13 mm x 100 mm | |
| 13 mm x 75 mm | |
| 16 mm x 100 mm | |
| Centrifuge | — |
| Vortexmixer | — |

Optionele materialen

| Materiaal | Cat. nr. |
|--------------------------------------------------------------------------|-----------------|
| Aptima-SAT-buizen (100 stuks) | 503762 |
| Dop voor transportbuizen (100 stuks) | 504415 |
| <i>dop voor SAT-buizen</i> | |
| Aptima-monsterverdunner | PRD-03003 |
| Aptima-monsterverdunnerkit | PRD-03478 |
| <i>bevat monsterverdunner, 100 SAT-buizen en 100 doppen</i> | |
| Transferpipetten | — |
| In de handel verkrijgbare panels, bijvoorbeeld: | — |
| <i>HIV-1 van QCMD (Quality Control for Molecular Diagnostics) of CAP</i> | |
| <i>(College of American Pathologists)-onderzoekspanel van virale</i> | |
| <i>HIV-lading of SeraCare ACCURUN HIV Panels</i> | |
| Wattenstaafjes | — |
| Schudapparaat voor buizen | — |

Testprocedure voor het Panther System

Opmerking: Raadpleeg de *Panther System Operator's Manual* (gebruikershandleiding van het Panther System) voor aanvullende informatie over procedures.

A. Voorbereiding werkgebied

1. Reinig de werkoppervlakken waar reagentia worden voorbereid. Veeg de werkoppervlakken af met 2,5% tot 3,5% (0,35 M tot 0,5 M) natriumhypochlorietoplossing. Laat de natriumhypochlorietoplossing ten minste 1 minuut in contact met de oppervlakken en spoel ze vervolgens af met gedeïoniseerd (DI) water. Laat de natriumhypochlorietoplossing niet opdrogen. Bedek het tafelloppervlak waarop de reagentia en monsters worden voorbereid, met schone, absorberende laboratoriumtafelafdekking met een plastic achterkant.
2. Reinig een afzonderlijk werkoppervlak voor het voorbereiden van monsters. Gebruik de hierboven beschreven procedure (stap A.1).
3. Reinig de pipetten. Gebruik de hierboven beschreven procedure (stap A.1).

B. Voorbereiding kalibrator en controles

Laat de kalibrator en de controles als volgt op 15 °C tot 30 °C komen alvorens ze te verwerken:

1. Haal de kalibrator en de controles uit opslag (-15 °C tot -35 °C) en breng ze in 15 °C tot 30 °C. Keer tijdens het gehele ontdooiproces elke buis voorzichtig om, om de inhoud goed te mengen. Controleer vóór gebruik of de inhoud van de buis volledig ontdooit is.

Optie. Kalibrator- en controlebuizen kunnen op een schudapparaat voor buizen worden geplaatst om de inhoud goed te mengen. Controleer vóór gebruik of de inhoud van de buis volledig ontdooit is.

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

2. Droog na ontdooiing van de buisinhoud de buitenkant van de buis met een schoon, droog wegwerpdoekje af.
3. Ter preventie van contaminatie dient u de buizen op dit moment niet te openen.

C. Reagensrestitutie/voorbereiding van een nieuw pakket

Opmerking: De reconstitutie van reagentia moet plaatsvinden voorafgaand aan gebruik van het Panther System.

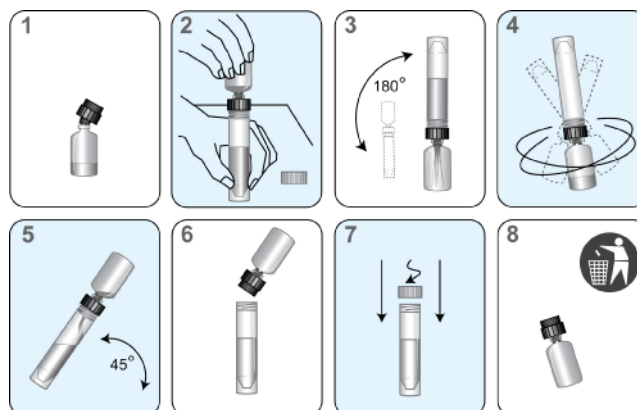
1. Ga als volgt te werk om het target capture reagens (TCR) voor te bereiden:
 - a. Haal het TCR uit opslag (2 °C tot 8 °C). Controleer of het partijnummer op de TCR-fles overeenstemt met het partijnummer op het streepjescodeblad van de hoofdpartij.
 - b. Schud de TCR-fles onmiddellijk tienmaal krachtig. Laat de TCR-fles bij 15 °C tot 30 °C ten minste 45 minuten opwarmen. Tijdens deze periode dient u de TCR-fles ten minste om de 10 minuten rond te zwenken en om te keren.

Optie. De TCR-fles kan op een schudapparaat voor buizen worden voorbereid volgens onderstaande aanwijzingen: haal het TCR uit opslag (2 °C tot 8 °C) en schud het onmiddellijk tienmaal krachtig. Plaats de TCR-fles op een schudapparaat voor buizen en laat het TCR bij 15 °C tot 30 °C ten minste 45 minuten opwarmen.

- c. Controleer vóór gebruik of alle precipitaat is opgenomen in de oplossing en de magnetische deeltjes in suspensie zijn overgegaan.

2. Ga als volgt te werk om amplificatie-, enzym- en promotorreagentia te reconstitueren:
 - a. Haal de gevriesdroogde reagentia en bijbehorende reconstitutieoplossingen uit opslag (2 °C tot 8 °C). Voeg elke reconstitutieoplossing toe aan het bijbehorende gevriesdroogde reagens.
 - b. Controleer of labels van de reconstitutieoplossing en het gevriesdroogde reagens dezelfde kleur hebben. Controleer de partijnummers op het streepjescodeblad van de hoofdpartij om u ervan te verzekeren dat de juiste reagentia bij elkaar worden gebruikt.
 - i. Open het gevriesdroogde reagensflesje door de metalen afdichting en de rubber stop eraf te halen.
 - ii. Steek het ingekeepte uiteinde van de reconstitutiekraag (zwart) goed in het flesje (afbeelding 5, stap 1).
 - iii. Open de bijbehorende reconstitutieoplossingsfles en leg de dop op een schoon, afgedekt werkoppervlak.
 - iv. Plaats de reconstitutieoplossingsfles op een stabiele ondergrond (bijvoorbeeld een tafel). Keer vervolgens het gevriesdroogde reagensflesje om over de reconstitutieoplossingsfles en bevestig de kraag goed aan de reconstitutieoplossingsfles (afbeelding 5, stap 2).
 - v. Keer de aan elkaar bevestigde flessen (reagensflesje bevestigd aan oplossingsfles) langzaam om, om de oplossing in het glazen flesje te laten leeglopen (afbeelding 5, stap 3).
 - vi. Pak de aan elkaar bevestigde flessen op en zwenk ze gedurende ten minste 10 seconden rond (afbeelding 5, stap 4).
 - vii. Wacht ten minste 30 minuten totdat het gevriesdroogde reagens in de oplossing is opgenomen.
 - viii. Zwenk nadat het gevriesdroogde reagens in de oplossing is opgenomen, de aan elkaar bevestigde flessen ten minste 10 seconden rond en schud de oplossing in het glazen flesje daarna lichtjes heen en weer om de inhoud goed te mengen.
 - c. Breng de aan elkaar bevestigde flessen weer langzaam schuin om alle oplossing terug in de reconstitutieoplossingsfles te laten leeglopen (afbeelding 5, stap 5).
 - d. Verwijder de reconstitutiekraag en het glazen flesje voorzichtig (afbeelding 5, stap 6).
 - e. Zet de dop weer op de fles. Noteer de initialen van de gebruiker en de datum van reconstitutie op het etiket (afbeelding 5, stap 7).
 - f. Gooi de reconstitutiekraag en het glazen flesje weg (afbeelding 5, stap 8).

Waarschuwing: Voorkom overmatige schuimvorming bij het reconstitueren van reagentia. Schuim stoort het Panther System bij de detectie van het vloeistofpeil.



Afbeelding 5. Proces voor de reconstitutie van reagentia

D. Voorbereiding van reagentia met betrekking tot eerder voorbereide reagentia

1. Haal de eerder voorbereide reagentia uit opslag (2 °C tot 8 °C).
2. Eerder bereide amplificatie-, enzym- en promotorreagentia en TCR moeten op 15 °C tot 30 °C worden gebracht voorafgaand aan de aanvang van de assay.
3. Voer voor eerder voorbereid TCR stap C.1 hierboven uit alvorens het op het systeem te laden.
4. Om de amplificatie-, enzym- en promotorreagentia goed te mengen alvorens ze op het systeem te laden, dient u ze rond te zwenken en om te draaien. Voorkom overmatige schuimvorming bij het omkeren van de reagentia.
5. Vul reagensflessen niet af. Aangevulde flessen worden door het Panther System herkend en afgekeurd.

E. Monsters hanteren

1. Controleer altijd of bevroren monsters goed gedood zijn. Meng de ontdooide monsters gedurende 3 tot 5 seconden goed op de vortexmixer.
2. Laat de monsters op 15 °C tot 30 °C komen alvorens ze te verwerken. Zie *Op het Panther System geladen monsters* voor aanvullende informatie over op het systeem geladen monsters.
3. Controleer of elke primaire afnamebuis ten minste 1200 µl monster bevat. Controleer of elke Aptima-SAT-buis ten minste 700 µl monster bevat. Als het monster moet worden verdund, zie dan stap E.6 hieronder voor aanvullende informatie.
4. Meng monsters in SAT-buizen gedurende 3 tot 5 seconden goed op de vortexmixer.
5. Net voordat u de monsters in een monsterrek laadt, centrifugeert u elk monster gedurende 10 minuten op 1000 tot 3000g. Verwijder de doppen niet. Bellen in de buis storen het Panther System bij de detectie van het vloeistofpeil.

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

6. Een plasmamonster in de SAT-buis verdunnen

Een plasmamonster mag in de SAT-buis worden verdund voor onderzoek met het Panther-systeem.

- ⚠ Verdunde plasmamonsters mogen uitsluitend worden gebruikt voor kwantitatieve resultaten. Verdun plasmamonsters niet voor diagnostische resultaten.

Opmerking: Een verdund monster moet onmiddellijk na verdunning worden getest.

a. Verdunning van laagvolumemonsters

Het volume van plasmamonsters kan worden verhoogd tot het vereiste minimumvolume (700 µl) met de Aptima-monsterverdunner. Monsters met ten minste 240 µl plasma kunnen als volgt worden verdund met twee delen monsterverdunner (d.w.z. een verhouding van 1 op 3):

- i. Doe 240 µl monster in de SAT-buis.
- ii. Voeg 480 µl monsterverdunner toe.
- iii. Doe een dop op de buis.
- iv. Draai de buis voorzichtig vijfmaal om, om de inhoud te mengen.

Monsters verdund in een verhouding van 1 op 3 kunnen worden getest met de 1-op-3-optie van het Panther System (zie de *Panther System Operator's Manual* [gebruikershandleiding van het Panther System] voor meer informatie). De software rapporteert automatisch het resultaat voor het onverdunde monster door de verdunningsfactor toe te passen. Deze monsters worden gemarkeerd als verdunde monsters.

b. Verdunning van monsters met een hoge titer

Als het resultaat van een monster hoger is dan de bovenste bepalingsgrens, kan het als volgt worden verdund met 99 delen Aptima-monsterverdunner (d.w.z. een verhouding van 1 op 100):

- i. Doe 30 µl monster in de SAT-buis.
- ii. Voeg 2970 µl monsterverdunner toe.
- iii. Doe een dop op de buis.
- iv. Draai de buis voorzichtig vijfmaal om, om de inhoud te mengen.

Monsters verdund in een verhouding van 1 op 100 kunnen worden getest met de 1-op-100-optie van het Panther-systeem (zie de *gebruikershandleiding van het Panther-systeem* voor meer informatie). De software rapporteert automatisch het resultaat voor het verdunde monster door de verdunningsfactor toe te passen. Deze monsters worden gemarkeerd als verdunde monsters.

Opmerking: De resultaten van verdunde monsters met nettoconcentraties hoger dan de bovengrens van kwantificering zullen worden vermeld in de wetenschappelijke notatie.

F. Voorbereiding systeem

1. Stel het systeem op volgens de aanwijzingen in de *Panther System Operator's Manual* (gebruikershandleiding van het Panther System) en de *Procedurele opmerkingen*. Zorg ervoor dat u reagensrekken en TCR-adapters van het juiste formaat gebruikt.
2. Laad de monsters in het monsterrek. Voer voor elke monsterbuis (monster en, wanneer nodig, kalibrator en controles) de volgende stappen uit:
 - a. Maak één monsterdop los, maar verwijder de dop nog niet.

Opmerking: Wees vooral voorzichtig om besmetting door de verspreiding van aerosolen te voorkomen. Maak de doppen op de monsters voorzichtig los.

- b. Laad de monsterbuis in het monsterrek.
- c. Herhaal stap 2.a en 2.b voor elk resterend monster.
- d. Wanneer de monsters in het monsterrek zijn geladen, dient u de dop van elke monsterbuis in één monsterrek af te halen en af te voeren. Voer een dop niet over een ander monsterrek of andere monsterbuis af om besmetting te voorkomen.
- e. Gebruik zo nodig een nieuwe wegwerptransferpipet om luchtbellen of schuim te verwijderen.
- f. Wanneer de laatste dop eraf is gehaald, plaatst u het monsterrek in het monstervak.

Opmerking: Als u tegelijkertijd andere assays met andere monstertypes uitvoert, zet de monsterhouder dan vast voordat u het monsterrek in het monstervak plaatst.

- g. Herhaal stap 2.a t/m 2.f voor het volgende monsterrek.

Procedurele opmerkingen

A. Kalibrator en controles

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

B. Handschoenpoeder

Net als bij elk reagenssysteem kan overmatig poeder van sommige handschoenen geopende buizen besmetten. Aanbevolen wordt poederloze handschoenen te gebruiken.

Kwaliteitscontrole

Het resultaat van een testreeks of monster kan door een bediener ongeldig worden verklaard als technische, bedienings- of instrumentproblemen zijn waargenomen tijdens de uitvoering van de assay en deze zijn genoteerd. In dit geval moeten de monsters opnieuw worden getest.

Assaykalibratie

Om geldige resultaten te verkrijgen, moet de assay worden gekalibreerd. Eén enkele positieve kalibrator wordt in drievoud uitgevoerd telkens wanneer een reagenskit in het Panther-systeem wordt geplaatst. Zodra die is vastgesteld, is de kalibratie maximaal 24 uur geldig. De software op het Panther System maakt de bediener erop attent wanneer een kalibratie vereist is. De bediener scant een kalibratiecoëfficiënt van het streepjescodeblad van de hoofdpartij dat met elk reagenspakket is meegeleverd.

Bij verwerking worden criteria voor het accepteren van de kalibrator automatisch geverifieerd door de software op het Panther System. Als minder dan twee van de kalibratorreplicaties geldig is, beschouwt de software de testreeks automatisch als ongeldig. Monsters in een ongeldige testreeks moeten opnieuw worden getest met een vers voorbereide kalibrator en vers voorbereide controles.

Negatieve en positieve controles

Om geldige resultaten te verkrijgen, moet een set assaycontroles worden getest. Eén replica van de negatieve controle, de laag-positieve controle en de hoog-positieve controle moet telkens wanneer een reagenskit in het Panther-systeem wordt geplaatst, worden getest. Zodra die zijn vastgesteld, zijn de controles maximaal 24 uur geldig. De software op het Panther System maakt de bediener erop attent wanneer controles vereist zijn.

Bij verwerking worden criteria voor het accepteren van de controles automatisch geverifieerd door de software op het Panther System. Voor geldige resultaten moet de negatieve controle het resultaat 'Niet aangetroffen' opleveren en de resultaten van de positieve controles moeten binnen de vooraf gedefinieerde parameters vallen. Als één van de controles een ongeldig resultaat levert, beschouwt de software de testreeks automatisch als ongeldig. Monsters in een ongeldige testreeks moeten opnieuw worden getest met een vers voorbereide kalibrator en vers voorbereide controles.

Interne kalibrator/interne controle

Elk monster bevat een interne kalibrator/interne controle (IC). Bij verwerking worden criteria voor het accepteren van de IC automatisch geverifieerd door de Panther System Software. Als een IC-resultaat ongeldig is, wordt het monsterresultaat als ongeldig beschouwd. Elk monster met een ongeldig IC-resultaat moet opnieuw worden getest om een geldig resultaat te verkrijgen.

De software op het Panther-systeem is ontworpen om processen nauwkeurig te verifiëren wanneer procedures worden uitgevoerd volgens de instructies in de bijsluiters en de *gebruikershandleiding van het Panther-systeem*.

Interpretatie van resultaten

Opmerking: Kwantitatieve resultaten van de Aptima HIV-1 Quant Dx Assay zijn met plasma geëvalueerd. Er mag geen serum worden gebruikt om kwantitatieve resultaten te verkrijgen. De kwalitatieve resultaten zijn geëvalueerd met zowel plasma als serum.

Het Panther System bepaalt automatisch de HIV-1-RNA-concentratie voor monsters en controles door de resultaten te vergelijken met een kalibratiecurve. HIV-1-RNA-concentraties worden gerapporteerd in kopieën/ml en \log_{10} kopieën/ml. De interpretatie van de resultaten staat in tabel 1. Als een verdunning van 1:3 of 1:100 wordt gebruikt voor verdunde monsters, berekent het Panther-systeem automatisch de HIV-1-concentratie voor het onverdunde monster door de verdunde concentratie met de verdunningsfactor te vermenigvuldigen, en verdunde monsters worden aangemerkt als verdund.

Opmerking: Resultaten van verdunde monsters met de vermelding 'Niet aangetroffen' of '<30 aangetroffen' kunnen worden gegenereerd door verdunning van een monster met een concentratie hoger dan, maar in de buurt van de LOD (detectielimiet) of de LLOQ (ondergrens van kwantificering). Aanbevolen wordt nog een onverdund monster af te nemen en te testen als er geen kwantitatief resultaat wordt verkregen.

Het Panther System levert geen kwalitatief resultaat (d.w.z. 'reactief' of 'niet-reactief') voor diagnostisch gebruik. De bediener moet de gerapporteerde HIV-1-RNA-concentratie interpreteren om een kwalitatief resultaat te verkrijgen (tabel 1). Monsters met het resultaat 'niet-aangetoond' zijn niet-reactief voor HIV-1-RNA. Monsters met het resultaat '< 30 aangetoond' of monsters waarvan het resultaat binnen het lineaire bereik ligt, wijzen erop dat HIV-1-RNA is aangetoond en dat deze monsters reactief zijn voor HIV-1-RNA.

Tabel 1: Interpretatie van de resultaten

| Gemelde resultaten Aptima HIV-1 Quant Dx Assay | | Interpretatie van HIV-1-RNA-concentratie | Diagnostische kwalitatieve interpretatie door de gebruiker ^c |
|------------------------------------------------|----------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------|
| Kopieën/ml ^a | Log ₁₀ -waarde ^b | | |
| Niet-aangetoond | Niet-aangetoond | HIV-1-RNA niet-aangetoond. | Niet-reactief voor HIV-1-RNA |
| <30 aangetoond | <1,47 | HIV-1-RNA is aangetroffen maar in een concentratie lager dan de LLOQ. | Reactief voor HIV-1-RNA |
| 30 tot 10 000 000 | 1,47 tot 7,00 | HIV-1-RNA-concentratie ligt binnen het lineaire bereik van 30 tot 10 000 000 kopieën/ml. | Reactief voor HIV-1-RNA |
| >10 000 000 | >7,00 | HIV-1-RNA-concentratie is hoger dan de bovenste bepalingsgrens (upper limit of quantitation, ULOQ). | Reactief voor HIV-1-RNA |
| Ongeldig ^d | Ongeldig ^d | Er is een fout opgetreden tijdens het verkrijgen van het resultaat. Monster moet opnieuw worden getest. | Ongeldig |

^a De factor voor het omrekenen van kopieën in internationale eenheden (IE) voor de 3e internationale standaard voor HIV-1 RNA (10/152) is 0,35 kopieën/IE.

^b Waarde is afgerond op twee decimalen.

^c Een diagnostische interpretatie is mogelijk op basis van serum- of plasmamonsters die niet zijn verdund.

^d Ongeldige uitslagen worden in het blauw weergegeven.

Beperkingen

- A. Alleen personeel dat is opgeleid in de procedure, mag deze assay gebruiken. Niet-naleving van de aanwijzingen in deze bijsluiter kan leiden tot verkeerde resultaten.
- B. Betrouwbare resultaten zijn afhankelijk van adequate monstername, adequaat vervoer en adequate opslag en verwerking.
- C. Deze assay is gevalideerd voor gebruik als kwantitatieve assay uitsluitend met humaan plasma.
- D. Deze assay is gevalideerd voor gebruik als kwalitatieve assay met humaan plasma en serum.
- E. Hoewel zeldzaam kunnen mutaties in sterk geconserveerde gebieden van het virale genoom bestreken door de primers en/of probes in de Aptima HIV-1 Quant Dx Assay resulteren in te lage kwantificatie of niet-aantoonbaarheid van het virus.

Prestaties

Detectielimiet (LOD) op basis van de 3^e internationale WHO-norm voor HIV-1

De aantoonbaarheidsgrens (limit of detection, LOD) wordt gedefinieerd als de HIV-1-RNA-concentratie die wordt aangetoond met een waarschijnlijkheid van 95% of hoger conform CLSI EP17-A2 (39). De LOD is bepaald door het testen van panels bestaande uit verdunningen van de 3^e internationale standaard voor HIV-1 van de WGO (subtype B, NIBSC-code: 10/152) in HIV-1-negatief plasma. Dertig replicaties van elke verdunning zijn verwerkt op drie Panther Systems met gebruik van drie reagenspartijen, wat neerkomt op 90 replicaties in totaal voor elke verdunning. De resultaten uit de reagenspartij met de hoogste concentratie voor de voorspelde aantoonbaarheidsgrens worden conform CLSI EP17-A2 gedefinieerd als LOD. Ze worden weergegeven in tabel 2. Door probitanalyse is de LOD voor de Aptima HIV-1 Quant Dx Assay 12 kopieën/ml (35 IE/ml; 0,35 kopieën = 1 IE).

Tabel 2: Aantoonbaarheidsgrens van de Aptima HIV-1 Quant Dx Assay met gebruik van de 3^e internationale standaard voor HIV-1 van de WGO

| Voorspelde aantoonbaarheidsgrens | Concentratie (kopieën/ml) |
|-------------------------------------|------------------------------|
| 10% | 1,2 |
| 20% | 1,6 |
| 30% | 2,0 |
| 40% | 2,5 |
| 50% | 3,1 |
| 60% | 3,8 |
| 70% | 4,8 |
| 80% | 6,2 |
| 90% | 9,0 |
| 95% | 12,1 |

Aantoonbaarheidsgrens in HIV-1-subtypen en -groepen

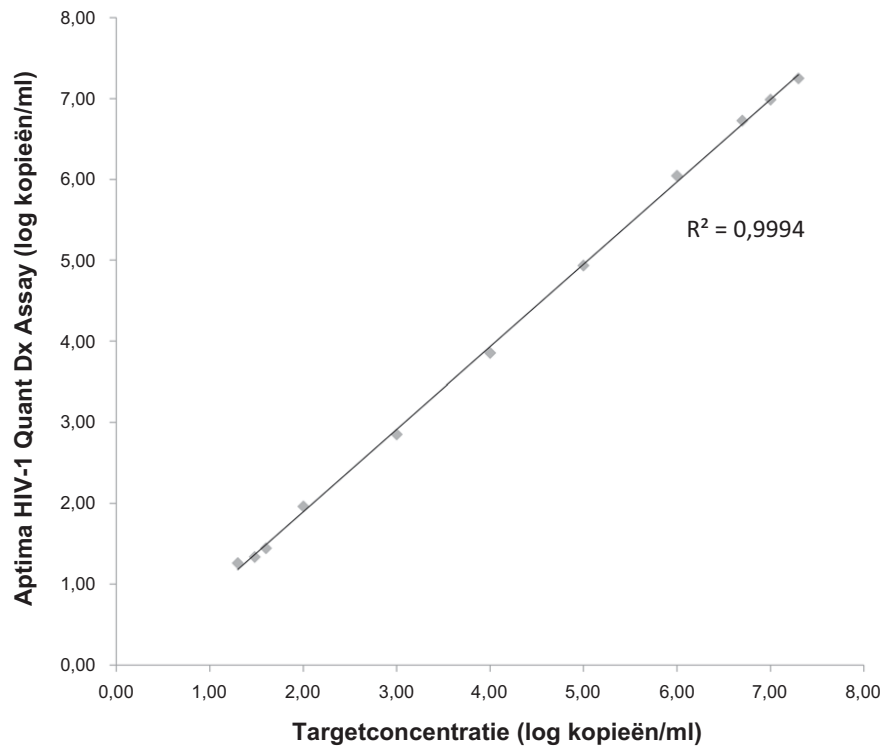
Voor HIV-1-groep M (subtypen A, C, D, F, G, CRF01_AE, CRF02_AG) en groepen N en O zijn zeven panels gemaakt door gekweekt HIV-1-virus of positieve klinische monsters te spiken in HIV-1-negatief humaan plasma (0 tot 40 kopieën/ml). Elk panel member is getest in 30 replicaties met twee reagenspartijen, wat neerkomt op 60 replicaties in totaal per panel member. Toewijzing van de concentratie voor klinische monsters of gekweekte virusstocks is bepaald met gebruik van een comparatorassay. Probitanalyse is verricht om 50% en 95% voorspelde aantoonbaarheidsgrenzen te verkrijgen. De resultaten uit de reagenspartij met de hoogste concentratie voor de voorspelde aantoonbaarheidsgrens worden conform CLSI EP17-A2 (39) gedefinieerd als LOD. Ze worden weergegeven in tabel 3.

Tabel 3: Aantoonbaarheidsgrens in HIV-1-subtypen en -groepen

| Subtype/groep | Voorspelde aantoonbaarheidsgrens | Concentratie (kopieën/ml) |
|---------------|----------------------------------|---------------------------|
| A | 50% | 3,0 |
| | 95% | 12,3 |
| CRF01_AE | 50% | 1,8 |
| | 95% | 6,2 |
| CRF02_AG | 50% | 3,4 |
| | 95% | 15,4 |
| C | 50% | 2,0 |
| | 95% | 10,7 |
| D | 50% | 3,7 |
| | 95% | 14,0 |
| F | 50% | 2,1 |
| | 95% | 8,3 |
| G | 50% | 3,1 |
| | 95% | 17,5 |
| N | 50% | 1,2 |
| | 95% | 7,8 |
| O | 50% | 1,8 |
| | 95% | 8,0 |

Lineair bereik

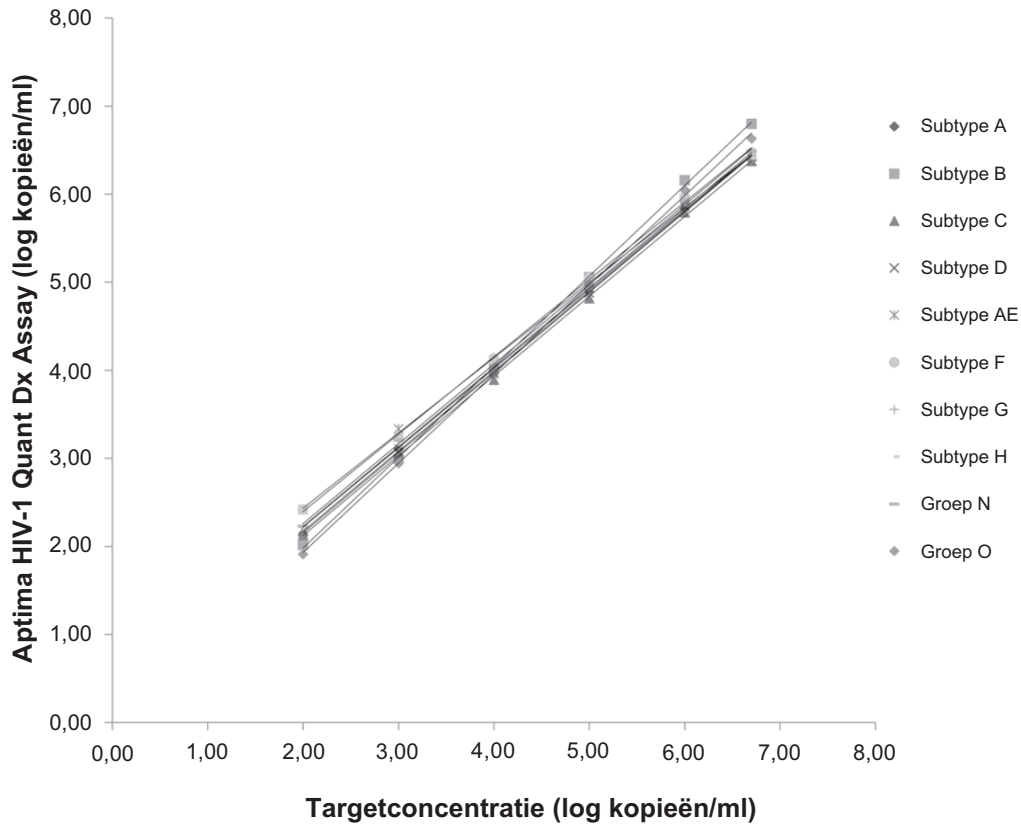
Het lineaire bereik van de Aptima HIV-1 Quant Dx Assay is bepaald door het testen van panels bestaande uit gekweekt virus HIV-1 subtype B verdund in HIV-1-negatief humaan plasma conform CLSI EP06-A (40). Panels varieerden in concentratie van 1,30 tot 7,30 log kopieën/ml. Tests zijn uitgevoerd op zeven Panther Systems met twee reagenspartijen Aptima HIV-1 Quant Dx Assay. Zoals getoond in afbeelding 6 vertoont de Aptima Quant Dx Assay lineariteit in het gehele geteste bereik.



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

Lineariteit in HIV-1-subtypen en -groepen

De lineaire respons van de Aptima HIV-1 Quant Dx Assay in groep M (subtypen A, B, C, D, F, G, H, CRF01_AE) en groepen N en O is bevestigd door het testen van panels bestaande uit HIV-1-transcript verdund in buffer in een concentratie die varieert van 2,00 tot 6,70 log kopieën/ml. Tests zijn uitgevoerd op vier Panther Systems en zes testreeksen. Lineariteit is aangetoond in het gehele geteste bereik (afbeelding 7).



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

Ondergrens van kwantificering (LLOQ) op basis van de 3^e internationale WHO-norm voor HIV-1

De onderste bepalingsgrens (LLOQ) wordt gedefinieerd als de laagste concentratie waarbij HIV-1-RNA op betrouwbare wijze kan worden bepaald binnen een 'totale fout' (Total Error, TE) conform CLSI EP17-A2 (39). TE werd berekend met behulp van het Westgard-model ($TE = |\text{bias}| + 2SD$). Om de nauwkeurigheid en precisie van de metingen te garanderen, is de TE van de Aptima HIV-1 Quant Dx Assay ingesteld op 1 log kopieën/ml (d.w.z. dat bij LLOQ het verschil tussen twee metingen van meer dan 1 log kopieën/ml statistisch significant is).

LLOQ is bepaald door het testen van panels bestaande uit verdunningen van de 3^e internationale standaard voor HIV-1 van de WGO (subtype B, NIBSC-code: 10/152) in HIV-1-negatief plasma. Conform CLSI EP17-A2 zijn de panels getest met drie reagenspartijen in replicaties van 30 voor elke partij uit 23 testreeksen. De resultaten staan in tabel 4. De hoogste LLOQ voor de drie partijen die zijn getest met de Aptima HIV-1 Quant Dx Assay met behulp van de 3^e internationale WHO-norm voor HIV-1 is 15 kopieën/ml (1,17 log kopieën/ml) (tabel 5).

Tabel 4: Bepaling van LLOQ van de Aptima HIV-1 Quant Dx Assay met gebruik van de 3^e internationale standaard voor HIV-1 van de WGO

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

SD = standaarddeviatie

Tabel 5: Samenvatting van LLOQ met gebruik van de 3^e internationale standaard voor HIV-1 van de WGO (3 reagenspartijen)

| Reagenspartij | LLOQ (log kopieën/ml) | LLOQ (kopieën/ml) |
|---------------|--------------------------|----------------------|
| 1 | 0,94 | 8,7 |
| 2 | 1,17 | 15 |
| 3 | 0,98 | 9,5 |

Verificatie van LLOQ in HIV-1-subtypen en -groepen

LLOQ in HIV-1-subtypen en -groepen is geverifieerd conform CLSI EP17-A2 (39). Voor elke HIV-1-groep M (subtypen A, B, C, D, F, G, CRF01_AE, CRF02_AG) en groepen N en O zijn panels gemaakt door gepoold HIV-1-negatief humaan plasma te spiken met natuurlijk geïnfecteerde monsters of klinische isolaten. Tests betroffen 30 replicaties in totaal per panel member. De gegevens in tabel 6 tonen de laagste concentratie voor elk subtype of elke groep waarbij TE kleiner was dan 1 log kopieën/ml. De hoogste LLOQ voor alle geteste subtypen en groepen was 30 kopieën/ml; deze hogere waarde is daarom geselecteerd als de LLOQ voor de Aptima HIV-1 Quant Dx Assay.

Tabel 6: Verificatie van LLOQ volgens HIV-1-subtype of -groep

| Panel | LLOQ (kopieën/ml) |
|------------------|----------------------|
| Subtype A | 30 |
| Subtype CRF01_AE | 10 |
| Subtype CRF02_AG | 30 |
| Subtype B | 10 |
| Subtype C | 30 |
| Subtype D | 15 |
| Subtype F | 15 |
| Subtype G | 30 |
| Groep N | 10 |
| Groep O | 15 |

Precisie

Precisie van de Aptima HIV-1 Quant Dx Assay is geëvalueerd door een panel dat was gemaakt door gekweekt virus HIV-1 subtype B te spiken in HIV-1-negatief plasma, gedurende 20 dagen te testen door drie bedieners met gebruik van drie reagenspartijen op drie Panther Systems (tabel 7). Het panel bestond uit één HIV-1-negatief panel member en acht HIV-1-positieve panel members. Toewijzing van de concentratie voor klinische monsters of gekweekte virusstocks is bepaald met gebruik van een comparatorassay.

Tabel 7: Precisie van de Aptima HIV-1 Quant Dx Assay

| Aantal geldige replicaties | Gemiddelde concentratie (log kopieën/ml) | Tussen instrumenten | | Tussen bedieners | | Tussen partijen | | Tussen testreeksen | | Binnen testreeksen | | Totaal | |
|----------------------------|------------------------------------------|---------------------|--------|------------------|--------|-----------------|--------|--------------------|--------|--------------------|--------|--------|--------|
| | | SD | VC (%) | SD | VC (%) | SD | VC (%) | SD | VC (%) | SD | VC (%) | SD | VC (%) |
| 137 | 1,80 | 0,00 | 0,00 | 0,03 | 1,72 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,16 | 8,93 | 0,16 | 9,10 |
| 157 | 2,37 | 0,00 | 0,00 | 0,05 | 2,08 | 0,01 | 0,36 | 0,08 | 3,33 | 0,15 | 6,19 | 0,17 | 7,34 |
| 160 | 2,47 ^a | 0,00 | 0,00 | 0,03 | 1,37 | 0,03 | 1,35 | 0,07 | 2,97 | 0,12 | 5,03 | 0,15 | 6,15 |
| 162 | 2,95 | 0,00 | 0,00 | 0,08 | 2,57 | 0,02 | 0,61 | 0,10 | 3,29 | 0,09 | 3,04 | 0,15 | 5,20 |
| 162 | 3,80 | 0,01 | 0,32 | 0,03 | 0,80 | 0,02 | 0,48 | 0,06 | 1,49 | 0,07 | 1,80 | 0,10 | 2,53 |
| 159 | 4,93 | 0,00 | 0,00 | 0,02 | 0,37 | 0,04 | 0,77 | 0,05 | 1,10 | 0,04 | 0,71 | 0,08 | 1,56 |
| 162 | 5,69 | 0,00 | 0,00 | 0,02 | 0,27 | 0,04 | 0,66 | 0,03 | 0,58 | 0,07 | 1,29 | 0,09 | 1,58 |
| 162 | 6,71 | 0,00 | 0,00 | 0,01 | 0,22 | 0,04 | 0,52 | 0,04 | 0,60 | 0,05 | 0,78 | 0,08 | 1,13 |

CV = variatiecoëfficiënt, SD = standaarddeviatie

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

Let op: Variabiliteit van sommige factoren kan numeriek negatief zijn, wat kan optreden als de variabiliteit als gevolg van die factoren zeer klein is. Wanneer dit optreedt, is SD = 0 en VC = 0%. Het totale aantal geteste replicaties was 162 voor elk panel; alleen replicaties met een numerieke waarde zijn geanalyseerd.

Potentieel storende stoffen

De gevoeligheid van de Aptima HIV-1 Quant Dx Assay voor interferentie door een verhoogd gehalte van endogene stoffen en door geneesmiddelen die veelal worden voorgeschreven voor HIV-1-geïnfecteerde personen, is geëvalueerd. HIV-1-negatieve humane plasmamonsters en monsters gespiket tot een concentratie van 3 log kopieën/ml HIV-1-RNA, zijn getest.

Er is geen interferentie in de prestaties van de Aptima HIV-1 Quant Dx Assay waargenomen in aanwezigheid van albumine (90 mg/ml), hemoglobine (5 mg/ml), triglyceriden (30 mg/ml) of niet-geconjugeerd bilirubine (0,2 mg/ml).

Er is geen interferentie in de prestaties van de Aptima HIV-1 Quant Dx Assay waargenomen in aanwezigheid van de in tabel 8 vermelde exogene stoffen in een concentratie van ten minste driemaal de C_{max} (humaan plasma).

Tabel 8: Exogene stoffen

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

De in tabel 9 vermelde klinische plasmamonsters afkomstig van patiënten met een verhoogd gehalte van de gedefinieerde stoffen of van patiënten met de vermelde aandoeningen, zijn getest met de Aptima HIV-1 Quant Dx Assay met en zonder aanwezigheid van 3 log kopieën van HIV-1-RNA. Er is geen interferentie in de prestaties waargenomen.

Tabel 9: Geteste klinische monstertypen

| Klinische monstertypen | |
|------------------------|------------------------------------------|
| 1 | Reumatoïde factor (RF) |
| 2 | Antinucleaire antistoffen (ANA) |
| 3 | Anti-Jo-1-antistoffen (JO-1) |
| 4 | Systemische lupus erythematoses (SLE) |
| 5 | Reumatoïde artritis (RA) |
| 6 | Multiple sclerose (MS) |
| 7 | Hyperglobulinemie |
| 8 | Verhoogde alanine-aminotransferase (ALT) |
| 9 | Alcoholcirrose (AC) |
| 10 | Multipel myeloom (MM) |
| 11 | Lipemisch (verhoogde lipiden) |
| 12 | Icterisch (verhoogde bilirubine) |
| 13 | Gehemolyseerd (verhoogde hemoglobine) |
| 14 | Verhoogde eiwitten/albumine |
| 15 | HCV-antistoffen |
| 16 | HBV-antistoffen |
| 17 | HIV-2-antistoffen |

Specificiteit

De specificiteit van de Aptima HIV-1 Quant Dx Assay is bepaald met gebruik van 120 verse en 510 bevroren HIV-1-negatieve plasmamonsters en met gebruik van 120 verse en 510 bevroren HIV-1-negatieve serummonsters. Alle resultaten waren niet-reactief (specificiteit van 100%; 95% BI: 99,4-100%).

Tabel 10: Specificiteit in plasma- en serummonsters

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

BI = betrouwbaarheidsinterval

Analytische specificiteit

Potentiële kruisreactiviteit tegen pathogenen (tabel 11) is in de Aptima HIV-1 Quant Dx Assay geëvalueerd in aanwezigheid of afwezigheid van 3 log kopieën/ml HIV-1-RNA in HIV-1-negatief plasma. Er is geen interferentie in de prestaties van de assay waargenomen in aanwezigheid van de pathogenen.

Tabel 11: Pathogenen getest op analytische specificiteit

| Pathoog | Concentratie |
|-------------------------------------|-------------------------------|
| Hepatitis-A-virus | 100 000 pve/ml ^a |
| Hepatitis-B-virus | 100 000 IE/ml ^b |
| Hepatitis-C-virus | 100 000 IE/ml |
| Hepatitis-G-virus | 100 000 kopieën/ml |
| Herpes-simples-virus 1 (HSV-1) | 100 000 pve/ml |
| Herpes-simples-virus 2 (HSV-2) | 75 000 pve/ml |
| Humaan herpesvirus 6 | 100 000 kopieën/ml |
| Humaan herpesvirus 8 | 42 000 pve/ml |
| HIV-2 | 5 500 pve/ml |
| Humaan T-cel-lymfotroopvirus (HTLV) | 100 000 vp/ml ^c |
| West-Nijlvirus | 100 000 kopieën/ml |
| Parvovirus B19 | 100 000 IE/ml |
| Cytomegalovirus | 100 000 kopieën/ml |
| Epstein-barrvirus | 100 000 kopieën/ml |
| Adenovirus type 5 | 100 000 pve/ml |
| Knokkelkoortsvirus | 100 000 kopieën/ml |
| Influenza-A-virus | 100 000 pve/ml |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 1 000 000 kve/ml ^d |
| <i>Propionibacterium acnes</i> | 1 000 000 kve/ml |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i> | 1 000 000 kve/ml |
| <i>Neisseria gonorrhoeae</i> | 1 000 000 kve/ml |
| <i>Chlamydia trachomatis</i> | 300 000 ive/ml ^e |
| <i>Candida albicans</i> | 1 000 000 kve/ml |

^a pve/ml = plaquevormende eenheden per ml.

^b IE/ml = internationale eenheden per ml.

^c vp/ml = virusdeeltjes per ml.

^d kve/ml = kolonievormende eenheden per ml.

^e ive/ml = inclusievormende eenheden per ml.

Herhaalbaarheid van klinische monsters

Er zijn tien klinische plasmamonsters getest in drie replicaties met de Aptima HIV-1 Quant Dx Assay. De gemiddelde concentratie en standaarddeviatie worden weergegeven in tabel 12.

Tabel 12: Herhaalbaarheid van klinische monsters

| Monster | Gemiddelde concentratie (log kopieën/ml) | SD |
|---------|------------------------------------------|------|
| 1 | 2,57 | 0,06 |
| 2 | 3,20 | 0,03 |
| 3 | 3,24 | 0,06 |
| 4 | 3,97 | 0,02 |
| 5 | 4,20 | 0,05 |
| 6 | 4,85 | 0,01 |
| 7 | 5,17 | 0,04 |
| 8 | 5,51 | 0,06 |
| 9 | 5,84 | 0,02 |
| 10 | 6,64 | 0,00 |

Monsterverdunning met gebruik van monsterverdunner

De monsterverdunning is geëvalueerd door een panel bestaande uit 11 monsters met concentraties over het gehele lineaire bereik van de Aptima HIV-1 Quant Dx Assay en bestaande uit twee monsters hoger dan de bovenste bepalingsgrens van de assay onverdund en verdund (in een verhouding van 1 op 3 of 1 op 100 in monsterverdunner) in drievoud te testen (tabel 13).

Tabel 13: Monsterverdunning

| Verdunning | Gemiddelde onverdunde concentratie (log kopieën/ml) | Gemiddelde gerapporteerde concentratie ^a (log kopieën/ml) | Vershil |
|--------------|-----------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|---------|
| | 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 |
| 1:3 | 4,85 | 4,81 | -0,04 |
| | 5,17 | 5,08 | -0,08 |
| | 5,51 | 5,32 | -0,19 |
| | 5,84 | 5,94 | 0,10 |
| | 6,64 | 6,66 | 0,02 |
| | 2,46 ^b | 2,19 | -0,27 |
| 1:100 | >7,00 (7,16 ^c) | 7,48 | 0,32 |
| 1:100 | >7,00 (7,40 ^c) ^b | 7,39 | -0,01 |

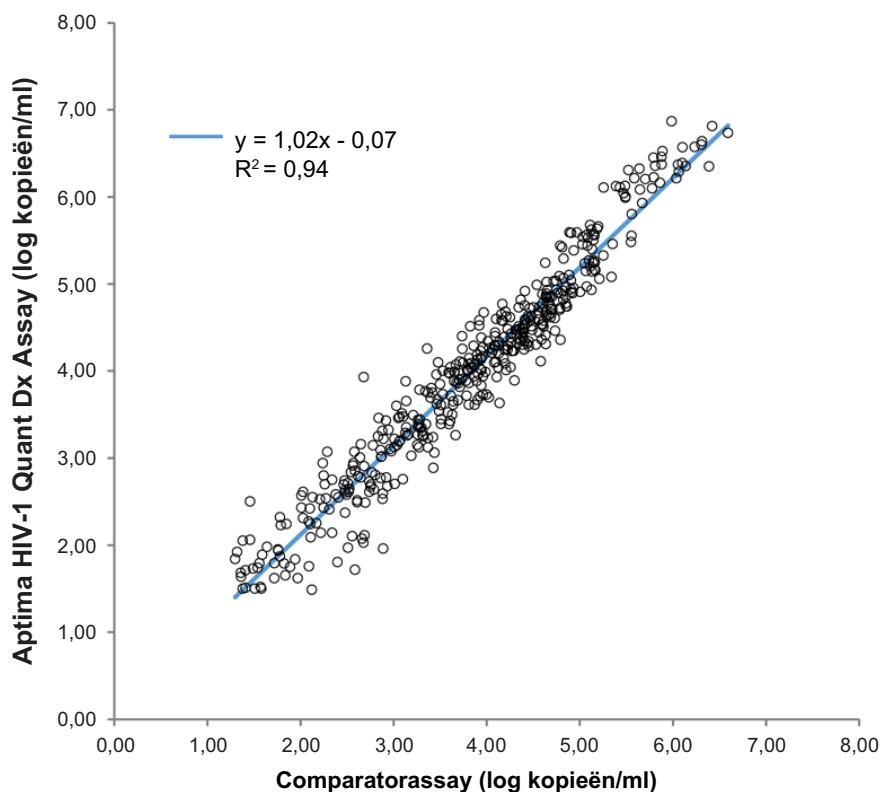
^a De gerapporteerde concentratie is de waarde die is gemeld door het Panther-systeem nadat de verdunningsfactor is toegepast.

^b Gespiket monster.

^c Alle resultaten >7,00 log kopieën/ml zijn berekend met gebruik van aanvullende analyse.

Correlatie tussen methoden

De prestaties van de Aptima HIV-1 Quant Dx Assay zijn vergeleken met een comparatorassay met CE-markering door onverdunde klinische plasmamonsters afkomstig van HIV-1-geïnfecteerde patiënten te testen op vier Panther Systems met twee reagenspartijen. In totaal zijn 342 bevroren en 108 verse plasmamonsters met kwantificeerbare resultaten gebruikt in de Aptima HIV-1 Quant Dx Assay en de comparatorassay voor de lineaire regressie (afbeelding 8). De monsters omvatten HIV-1-groep M (subtypen A, B, C, D, F, G, H, CRF01_AE, CRF02_AG).



Afbeelding 8. Correlatie tussen de Aptima HIV-1 Quant Dx Assay en de comparatorassay

Diagnostische overeenkomst

Diagnostische overeenkomst is geëvalueerd door monsters afkomstig van HIV-1-positieve personen te testen met de Aptima HIV-1 Quant Dx Assay en een HIV-1 kwalitatieve comparatorassay met CE-markering: 414 monsters leverden geldige resultaten (tabel 14). De resultaten voor beide assays zijn als volgt geclassificeerd. Resultaten met kwantificeerbaar of aantoonbaar target zijn geclassificeerd als 'aangetoond'. Resultaten met niet-aangetoond target zijn gecategoriseerd als 'target niet-aangetoond'.

Tabel 14: Diagnostische overeenkomst tussen Aptima HIV-1 Quant Dx Assay en comparatorassay

| | | Aptima HIV-1 Quant Dx Assay | |
|-----------------|------------------------|-----------------------------|------------------------|
| | | Aangetoond | Target niet-aangetoond |
| Comparatorassay | Aangetoond | 214 | 0 |
| | Target niet-aangetoond | 0 | 200 |

Kruisbesmetting

Om vast te stellen dat het Panther System het risico van fout-positieve resultaten als gevolg van kruisbesmetting minimaliseert, is een analytische studie met meerdere testreeksen uitgevoerd met gebruik van gespikete panels op twee Panther Systems. Vermenging werd bepaald met behulp van met HIV-1 gespikete monsters met een hoge titer (7 log kopieën/ml) in een dambordpatroon tussen HIV-1-negatieve monsters. Er zijn tests uitgevoerd over vijf testreeksen. De totale kruisbesmetting was 0% (n = 469).

Seroconversiepanel

Er zijn negentien HIV-1-seroconversiepanelsets bestaande uit 204 monsters, getest met de Aptima HIV-1 Quant Dx Assay. Aantoonbaarheid van HIV-1-RNA is vergeleken met aantoonbaarheid met p24-antigeentests en met HIV-1/2-antistofftests. Het aantal dagen tot het eerste reactieve resultaat bij gebruik van p24-antigeentests, anti-HIV-1/2-antistofftests en de Aptima HIV-1 Quant Dx Assay is weergegeven in tabel 15. De Aptima HIV-1 Quant Dx Assay trof gemiddeld 5,58 en 11,16 dagen voorafgaand aan p24-antigeen- en anti-HIV 1/2-antistoffentests HIV-1 RNA aan.

Tabel 15: Samenvatting gegevens seroconversiepanels

| Panel-id | Aantal geteste panel members | Aantal reactieve panel members | | | Aantal dagen tot eerste reactief resultaat | | | Verschil in dagen tot eerste reactief resultaat (op basis van de datum van het bloedmonster) | |
|---------------------|------------------------------|--------------------------------|------------------|-----------------------|--------------------------------------------|------------------|-----------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|
| | | Aptima HIV-1 Quant Dx | HIV-p24-antigeen | Anti-HIV-1/2-antistof | Aptima HIV-1 Quant Dx | HIV-p24-antigeen | Anti-HIV-1/2-antistof | Aantal dagen eerder aantoonbaar dan met HIV-p24-antigeen | Aantal dagen eerder aantoonbaar dan met 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 |
| Totaal | 204 | 82 | 51 | 20 | Gemiddelde | | | 5,58 | 11,16 |
| | | | | | Mediaan | | | 7 | 12 |

^a Alle bloedmonsters in dit panel waren niet-reactief voor anti-HIV-1/2-antistof. De dag van het laatste bloedmonster is gebruikt als het 'aantal dagen tot eerste reactief resultaat'.

Anti-HIV-1/2-antistofftests zijn uitgevoerd met Abbott Anti-HIV 1/2, met volgende uitzonderingen:

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

HIV-1-p24-antigeentests zijn uitgevoerd met Coulter HIV-1 p24 Ag, met volgende uitzonderingen:

^b panels PRB974, PRB975, en PRB978 zijn getest met BioMerieux p24 Ag.

Equivalentiestudie serum/plasma

Equivalentie is geëvalueerd door overeenstemmende sets serum en plasma (25 HIV-1-positief en 25 HIV-1-negatief) en 40 monsters die met gekweekt HIV-1 waren gespiket (50-1 000 000 kopieën/ml in HIV-1-negatief plasma en serum), te testen met de Aptima HIV-1 Quant Dx Assay. De negatieve overeenkomst was 100,0% (95% BI: 97,0%-100,0%). De positieve overeenkomst was 98,4% (95% BI: 95,4%-99,5%).

Bibliografie

1. **Barre-Sinoussi, F., J. C. Chermann, F. Rey, M. T. Nugeyre, S. Chamaret, J. Gruest, C. Dauguet, C. Axler-Blin, F. Vezinet-Brun, C. Rouziuz, W. Rozenbaum, and L. Montagnier.** 1983. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS). *Science* **220**:868–871.
2. **Popovic, M., M. G. Sarngadharan, E. Read, and R. C. Gallo.** 1984. Detection, isolation, and continuous production of cytopathic retroviruses (HTLV-III) from patients with AIDS and pre-AIDS. *Science* **224**:497–500.
3. **Gallo R. C., S. Z. Salahuddin, M. Popovic, G. M. Streater, M. Kaplan, D. F. Haynas, T. J. Palker, R. Redfield, J. Oleske, B. Safai, G. White, P. Foster, and P. D. Markham.** 1984. Frequent detection and isolation of cytopathic retroviruses (HTLV III) from patients with AIDS and at risk for AIDS. *Science* **224**:500–503.
4. **Piot, P., F. A. Plummer, F. S. Mhalu, J-L. Lamboray, J. Chin, and J. M. Mann.** 1988. AIDS: An international perspective. *Science* **239**:573–579.
5. **Sarngadharan, J. G., M. Popovic, L. Broch, J. Scupbach, and R. C. Gallo.** 1984. Antibodies reactive with human T-lymphotropic retroviruses (HTLV-III) in the serum of patients with AIDS. *Science* **224**:506–508.
6. **Gallo, D., J. S. Kimpton, and P. J. Dailey.** 1987. Comparative studies on use of fresh and frozen peripheral blood lymphocyte specimens for isolation of human immunodeficiency virus and effects of cell lysis on isolation efficiency. *J. Clin. Microbiol.* **25**:1291–1294.
7. **Clavel, F., D. Guetard, F. Brun-Vezinet, S. Chamaret, M. Rey, M. O. Santos-Ferraira, A. G. Laurent, C. Dauguet, C. Katlama, C. Rouzioux, D. Klatzmann, J. L. Champalimaud, and L. Montagnier.** 1986. Isolation of a new human retrovirus from West African patients with AIDS. *Science* **233**:343–346.
8. **Curran, J. W., H. W. Jaffe, A. M. Hardy, W. M. Morgan, R. M. Selik, and T. J. Dondero.** 1988. Epidemiology of HIV Infection and AIDS in the United States. *Science* **239**:610–616.
9. **Gaines, H., M. A. von Sydow, and L.V. von Stedingk.** 1990. Immunological changes in primary HIV-1 infection. *AIDS* **4**:995–999.
10. **Tindall, B., and D. A. Cooper.** 1991. Primary HIV-1 infection: host responses and intervention strategies. *AIDS* **5**:1–14.
11. **Daar, E. S., T. Moudgil, R. D. Meyer, and D. D. Ho.** 1991. Transient high levels of viremia in patients with primary human immunodeficiency virus type 1 infection. *N. Engl. J. Med.* **324**:961–964.
12. **Clark, S. J., M. S. Saag, and W. D. Decker.** 1991. High titers of cytopathic virus in plasma of patients with symptomatic primary HIV-1 infection. *N. Engl. J. Medicine* **324**:954–960.
13. **Albert J., B. Abrahamsson, K. Nagy, E. Aurelius, H. Gaines, G. Nystrom, and E. M. Fenyo.** 1990. Rapid development of isolate-specific neutralizing antibodies after primary HIV-1 infection and consequent emergence of virus variants which resist neutralization by autologous sera. *AIDS* **4**:107–112.
14. **Horsburgh, C. R. Jr., C. Y. Ou, J. Jason, S. D. Holmberg, I. M. Longini Jr., C. Schable, K. H. Mayer, A. R. Lifson, G. Schochetman, J. W. Ward, et al.** 1989. Duration of human immunodeficiency virus infection before detection of antibody. *Lancet* **16**:637–640.
15. **Schnittman, S. M., M. C. Psallidopoulos, H. C. Lane, L. Thompson, M. Baseler, F. Massari, C. H. Fox, N. P. Salzman, and A. S. Fauci.** 1989. The reservoir for HIV-1 in human peripheral blood is a T cell that maintains expression of CD4. *Science* **245**:305–308. Erratum in: *Science* 1989 **245**, preceding 694.
16. **Schnittman, S. M., J. J. Greenhouse, M. C. Psallidopoulos, M. Baseler, N. P. Salzman, A. S. Fauci, and H. C. Lane.** 1990. Increasing viral burden in CD4+ T cells from patients with human immunodeficiency virus (HIV) infection reflects rapidly progressive immunosuppression and clinical disease. *Ann. Intern. Med.* **113**:438–443.
17. **Pantaleo, G., C. Graziosi, and A. S. Fauci.** 1993. New concepts in the immunopathogenesis of human immunodeficiency virus (HIV) infection. *N. Engl. J. Med.* **328**:327–335.
18. **Piatak, M. Jr., M. S. Saag, L. C. Yang, S. J. Clark, J. C. Kappes, K. C. Luk, B. H. Hahn, G. M. Shaw, and J. D. Lifson.** 1993. High levels of HIV-1 in plasma during all stages of infection determined by competitive PCR. *Science* **259**:1749–1754.
19. **Fauci, A. S., S. M. Schnittman, G. Poli, S. Koenig, and G. Pantaleo.** 1991. NIH conference: immunopathogenic mechanisms in human immunodeficiency virus (HIV) infection. *Ann. Intern. Med.* **114**:678–693.
20. **Coffin, J. M.** 1995. HIV-1 population dynamics in vivo: implications for genetic variation, pathogenesis, and therapy. *Science* **267**:483–489.
21. **Ho, D. D., A. U. Neumann, A. S. Perelson, W. Chen, J. M. Leonard, and M. Markowitz.** 1995. Rapid turnover of plasma virions and CD4 lymphocytes in HIV-1 infection. *Nature* **373**:123–126.
22. **Wei, X., S. K. Ghosh, M. E. Taylor, V. A. Johnson, E. A. Emini, P. Deutsch, J. D. Lifson, S. Bonhoeffer, M. A. Nowak, B. H. Hahn et al.** 1995. Viral dynamics in human immunodeficiency virus type 1 infection. *Nature* **373**:117–122.
23. **O'Brien, W. A., P. M. Hartigan, D. Martin, J. Esinhart, A. Hill, S. Benoit, M. Rubin, M. S. Simberkoff, and J. D. Hamilton.** 1996. Changes in plasma HIV-1 RNA and CD4 lymphocyte counts and the risk of progression to AIDS. Veterans Affairs Cooperative Study Group on AIDS. *N. Engl. J. Med.* **334**:426–431.
24. **Welles, S. L., J. B. Jackson, B. Yen-Lieberman, L. Demeter, A. J. Japour, L. M. Smeaton, V. A. Johnson, D. R. Kuritzkes, R. T. D'Aquila, P. A. Reichelderfer, D. D. Richman, R. Reichman, M. Fischl, R. Dolin, R. W. Coombs, J. O. Kahn, C. McLaren, J. Todd, S. Kwok, and C. S. Crumpacker.** 1996. Prognostic value of plasma Human Immunodeficiency Virus Type I (HIV-1) RNA

- levels in patients with advanced HIV-1 disease and with little or no zidovudine therapy. AIDS Clinical Trials Group Protocol 116A/116B/117 Team. *J. Infect. Dis.* **174**:696–703.
25. **Coombs, R. W., S. L. Welles, C. Hooper, P. S. Reichelderfer, R. T. D'Aquila, A. J. Japour, V. A. Johnson, D. R. Kuritzkes, D. D. Richman, S. Kwok, J. Todd, J. B. Jackson, V. DeGruttola, C. S. Crumpacker, and J. Kahn.** 1996. Association of plasma Human Immunodeficiency Virus Type I RNA level with risk of clinical progression in patients with advanced infection. AIDS Clinical Trials Group (ACTG) 116B/117 Study Team. ACTG Virology Committee Resistance and HIV-1 RNA Working Groups. *J. Infect. Dis.* **174**:704–712.
 26. **Hammer, S., C. Crumpacker, R. D'Aquila, B. Jackson, J. Lathey, D. Livnat, and P. Reichelderfer.** 1993. Use of virologic assays for detection of human immunodeficiency virus in clinical trials: Recommendations of the AIDS Clinical Trials Group Virology Committee. *J. Clin. Microbiol.* **31**:2557–2564.
 27. **Schochetman, G., and J. R. George,** ed. 1994. *AIDS Testing: A Comprehensive Guide To Technical, Medical, Social, Legal and Management Issues*, 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. Schukink, D. van Strijp, L. T. Malek, R. Sooknanan, H. G. Huisman, and P. Lens.** 1993. Quantification of HIV-1 RNA in plasma using NASBA during HIV-1 primary infection. *J. Virol. Methods* **43**:177–187.
 31. **Centers for Disease Control and Association of Public Health Laboratories.** 2014. Laboratory testing for the diagnosis of HIV infection: Updated recommendations.
 32. **Pandori, M. W., J. Hackett Jr., B. Louie, A. Vallari, T. Dowling, S. Liska, and J. D. Klausner.** 2009. Assessment of the ability of a fourth-generation immunoassay for human immunodeficiency virus (HIV) antibody and p24 antigen to detect both acute and recent HIV infections in a high-risk setting. *J. Clin. Microbiol.* **47**:2639–2642.
 33. **Gill, P. and Ghaemi, A.** 2008. Nucleic acid isothermal amplification technologies: a review. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids.* **27**(3):224–43.
 34. **Hill, C.** 2001. Molecular diagnostic testing for infectious diseases using TMA technology. *Expert Rev. Mol. Diagn.* **1**(4): 445–455
 35. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2005. *Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods; Approved Guideline.* CLSI Document MM13-A. Wayne, PA.
 36. **29 CFR Part 1910.1030.** Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens; current version.
 37. **Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health.** *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL); current version.*
 38. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2002. *Clinical Laboratory Waste Management.* CLSI Document GP5-A2. Villanova, PA.
 39. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2012. *Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline—Second Edition.* CLSI Document EP17-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
 40. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2003. *Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline.* CLSI document EP06-A. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.



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

Klantenservice: +1 844 Hologic (+1 844 465 6442)
customersupport@hologic.com

Technische ondersteuning: +1 888 484 4747
molecularsupport@hologic.com

Ga voor meer informatie naar www.hologic.com.



Emergo Europe
Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague
The Netherlands

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

Armored RNA is een handelsmerk van Asuragen, Inc.

Alle andere handelsmerken die mogelijk op deze bijsluiters vernoemd zijn, zijn de eigendom van hun respectieve eigenaars.

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

© 2014-2017 Hologic, Inc. Alle rechten voorbehouden.

AW-11853-1501 Rev. 003

06-17