

Aptima™ Zika Virus Assay

Voor *in-vitro*diagnostiek.
Uitsluitend voor export uit de VS.

Algemene informatie	2
Beoogd gebruik	2
Samenvatting en uitleg van de test	2
Uitgangspunten van de procedure	2
Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen	3
Eisen voor opslag en verwerking van reagentia	6
Monsterafname en -opslag	7
Panther™-systeem	9
Geleverde reagentia en materialen	9
Benodigde maar apart geleverde materialen	10
Optionele materialen	11
Testprocedure voor het Panther-systeem	11
Procedurele opmerkingen	17
Kwaliteitscontrole	18
Criteria voor acceptatie voor de Aptima Zika Virus Assay	18
Criteria voor acceptatie voor kalibratie en berekening van cutoff	18
Interpretatie van resultaten	21
Beperkingen	22
Prestaties	23
Analytische gevoeligheid	23
Reproduceerbaarheid	24
Interferentie	26
Kruisreactiviteit	28
Klinische evaluatie	29
Literatuur	31

Algemene informatie

Beoogd gebruik

De Aptima Zika Virus assay (Aptima zikavirus-assay) is een via transcriptiegemedieerde amplificatietest bedoeld voor de kwalitatieve detectie van RNA van het zikavirus in serum, plasma of bewerkte urine. Monsters worden onderzocht met het Panther™-systeem voor geautomatiseerde verwerking, amplificatie en detectie van monsters. De resultaten worden gebruikt voor het identificeren van RNA van het zikavirus.

Samenvatting en uitleg van de test

Het zikavirus (ZIKV) is een RNA-virus uit de *Flaviviridae*-familie en het geslacht *Flavivirus*.¹ Het wordt overgedragen op mensen door muggen van het geslacht *Aedes*.² ZIKV werd voor het eerst vastgesteld bij een geïnfecteerde resusmakaak in 1947 in het Zikawoud in Oeganda. Daarna werden de eerste meldingen bij mensen gemaakt in Oeganda en de Verenigde Republiek Tanzania in 1952.³ Sindsdien zijn sporadisch uitbraken van ZIKV gemeld in verschillende gebieden in Afrika en zuidoost Azië. De eerste uitbraak van ZIKV buiten Azië of Afrika deed zich voor in 2007 op het eiland Yap in de Federale Staten van Micronesia in de Stille Oceaan.⁴

In 2013 en 2014 werd in Frans-Polynesië een grote uitbraak van zikakoorts gepaard met klinische complicaties gemeld.⁵ In mei 2015 werden de eerste lokaal ontstane gevallen van ZIKV-infectie in Amerika bevestigd in Brazilië.^{6,7} Vanaf december 2016 meldde de Wereldgezondheidsorganisatie dat 75 landen en gebieden bewijs hebben gemeld van door muggen overgedragen ZIKV-transmissie sinds 2007 en 69 van deze landen meldden dit nog na 2015.⁸ ZIKV wordt meestal geassocieerd met menselijke ziekten die gaan van subklinische infecties tot milde griepachtige ziekten, maar ZIKV-infectie kan ook gepaard gaan met ernstige en soms fatale gevallen van het syndroom van Guillain-Barré.⁹ Het virus werd ook al gelinkt aan microcefalie en andere aangeboren afwijkingen bij kinderen die bij hun geboorte een geïnfecteerd moeder hadden.¹⁰ Hoewel de primaire besmettingsweg een muggenbeet lijkt te zien, is overdracht via seks¹¹ en mogelijk via transfusie¹² van het zikavirus ook al gemeld.

Uitgangspunten van de procedure

De Aptima Zika Virus assay is gericht op twee goed geconserveerde gebieden in de NS2- en NS4/NS5-gebieden voor meer tolerantie voor potentiële mutaties. De assay houdt drie stappen in, die plaatsvinden in een enkel buisje op het geautomatiseerde Panther-systeem: voorbereiding monster, ZIKV-RNA-doelamplificatie door via transcriptiegemedieerde amplificatie (TMA)¹³ en detectie van de geamplificeerde producten (amplicon) door hybridisatie-beschermingsassay (HPA).¹⁴ De assay omvat een interne controle (IC) om te controleren op de capture, amplificatie en detectie van nucleïnezuur evenals op fouten van de gebruiker of het instrument.

Tijdens de voorbereiding van het monster wordt RNA geïsoleerd uit de monsters via doelcapture. Het monster wordt behandeld met een detergenten om de virusenvelop oplosbaar te maken, de eiwitten te denatureren en viraal genomisch RNA af te geven. Oligonucleotiden ("capture oligonucleotiden") die homoloog zijn tot sterk geconserveerde gebieden van ZIKV, worden gehybridiseerd tot het ZIKV-RNA-doel - indien aanwezig - in het testmonster. De gehybridiseerde target wordt dan gevangen op magnetische microdeeltjes die in een magnetisch veld van het monster worden gescheiden. Wasstappen worden gebruikt voor het verwijderen van vreemde componenten uit de reageerbuis. Magnetische separatie en wasstappen worden uitgevoerd met een doelcapturesysteem.

Targetamplificatie treedt op via TMA, een via transcriptiegebaseerde nucleïnezuuramplificatiemethode waarbij twee enzymen, MMLV-reverse-transcriptase en T7 RNA-polymerase, worden gebruikt. De reverse-transcriptase wordt gebruikt voor het maken van een DNA-kopie (met een promotorsequentie voor T7 RNA-polymerase) van de target-RNA-sequentie. Het T7 RNA-polymerase maakt meerdere kopieën van RNA-amplicon aan op basis van het DNA-kopiesjabloon. De Aptima Zika Virus assay maakt gebruik van de TMA-methode om gebieden van ZIKV-RNA uit te vergroten.

De detectie komt tot stand met HPA gebruik makend van enkelstrengige nucleïnezuurtests met chemiluminescerende etiketten die het amplicon aanvullen. De geëtiketteerde nucleïnezuurtests hybridiseren specifiek aan het amplicon. Het selectiereagens maakt een onderscheid tussen gehybridiseerde en ongehybridiseerde monsters door het etiket op ongehybridiseerde monsters te deactiveren. Tijdens de detectiestap wordt het door de gehybridiseerde sonde geproduceerde chemiluminescerende signaal gemeten in een luminometer en wordt gerapporteerd als RLU's (relative light units, relatieve lichteenheden).

Aan elk testmonster wordt interne controle (IC) toegevoegd alsook assaykalibrator via het werkend target capture reagent. De interne controle in het Aptima Zika Virus assay omvat de stappen voor verwerking, amplificatie en detectie van monsters. Het signaal van de interne controle wordt onderscheiden van het ZIKV-sigitaal door de differentiële kinetiek van lichtemissie uit sondes met verschillende labels.¹⁴ Een amplicon dat specifiek is voor de interne controle wordt gedetecteerd met behulp van een sonde met een snelle emissie van licht (flashersignaal). Een amplicon dat specifiek is voor ZIKV wordt gedetecteerd met behulp van sondes met relatief langzamer kinetiek van lichtemissie (glowersignaal). De duale kinetische assay (DKA) is een methode die wordt gebruikt om een onderscheid te maken tussen de signalen van flasher- en gloweretiketten.¹⁵

De Aptima Zika Virus assay-kalibrators worden gebruikt om de assay-cutoff te bepalen en de geldigheid van de assayrun bij elke run te evalueren. Zie *Kwaliteitscontrole* voor meer informatie.

Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen

- A. Voor *in-vitro*diagnostiek.
- B. Ter verkleining van het risico van ongeldige resultaten dient u de gehele bijsluiter en de *Gebruikershandleiding bij het Panther-systeem* zorgvuldig te lezen voor u deze assay gebruikt.

Met betrekking tot het laboratorium

- C. Alleen personeel dat adequaat is opgeleid in het gebruik van de Aptima Zika Virus assay en in het omgaan met potentieel besmettelijk materiaal, mag deze procedure uitvoeren. Als er materiaal is gemorst, desinfecteer dan onmiddellijk volgens de toepasselijke procedures binnen de instelling.
- D. Gebruik alleen de meegeleverde of aangegeven wegwerpartikelen voor in het laboratorium.
- E. Pas de normale voorzorgsmaatregelen voor een laboratorium toe. Niet met de mond pipetteren. Eet, drink of rook niet in de aangegeven werkgebieden. Draag poederloze wegwerphandschoenen, oogbescherming en labjassen tijdens het verwerken van monsters en reagentia. Was de handen grondig na het verwerken van monsters en reagentia.

- F. Werkoppervlakken, pipetten en overige apparatuur moeten regelmatig worden ontsmet met 2,5% tot 3,5% (0,35 M tot 0,5 M) natriumhypochlorietoplossing.
- G. Gooi alle materiaal weg dat in contact is gekomen met monsters en reagentia volgens de lokale en federale wetgevingen.^{16,17,18,19} Reinig en desinfecteer alle werkoppervlakken grondig.
- H. De enzymreagens bevat natriumazide als conserveringsmiddel. Gebruik geen metalen buizen om reagentia over te zetten. Als oplossingen met natriumazideverbindingen via de gootsteen worden afgevoerd, moeten ze worden verdund en doorgespoeld met ruime hoeveelheden stromend water. Deze voorzorgsmaatregelen worden aanbevolen om te voorkomen dat afzettingen zich ophopen in metalen buizen waarin explosieve situaties kunnen ontstaan.





Met betrekking tot het monster

- I. De monsters kunnen besmettelijk zijn. Gebruik universele voorzorgsmaatregelen^{16,17,18} bij het uitvoeren van deze assay. De juiste methoden voor verwerking en afvoer moeten worden vastgesteld in overeenstemming met plaatselijke voorschriften.¹⁹ Alleen personeel dat adequaat is opgeleid in het gebruik van de Aptima Zika Virus assay en in het omgaan met besmettelijk materiaal, mag deze procedure uitvoeren.
- J. Procedures voor monsterafname, transport, opslag en verwerking die zijn beschreven in deze bijsluiter, zijn vereist voor de optimale uitvoering van deze test. Onjuiste afname, transport of opslag van de monsters kan tot onjuiste resultaten leiden.
- K. 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.
- L. Voorkom kruisbesmetting tijdens de stappen waarin de monsters worden verwerkt. Wees vooral voorzichtig als u de doppen van de monsters losmaakt of verwijdert om besmetting via verspreiding van aerosolen te voorkomen. De monsters kunnen uitermate 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 tot de assay

- M. Gebruik de reagenskit of kalibrators niet na de vervaldatum.
- N. Verwissel, meng of combineer geen assayreagentia uit kits met verschillende hoofdpartijnummers. De assayvloeistoffen kunnen afkomstig zijn van verschillende partijnummers.
- O. Voorkom microbiële en nucleaseverontreiniging van de reagentia.
- P. Doe een dop op alle assayreagentia bij gespecificeerde temperaturen en sla ze op. Gebruik van verkeerd opgeslagen reagentia kan de uitslag van de assay negatief beïnvloeden. Zie *Eisen voor opslag en verwerking van reagentia* en *Testprocedure voor het Panther-systeem* voor meer informatie.

- Q. Combineer geen assayreagentia of vloeistoffen zonder specifieke aanwijzingen. Flessen voor reagentia of vloeistoffen mogen niet helemaal worden gevuld. Het Panther-systeem verifieert het peil van de reagentia.
- R. Enkele reagentia van deze kit zijn geëtiketteerd met risico- en veiligheidssymbolen en moeten dienovereenkomstig worden behandeld.

	<p>Amplificatiereagens WAARSCHUWING H315 - Veroorzaakt huidirritatie H319 - Veroorzaakt ernstige oogirritatie</p>
	<p>Enzymreagens WAARSCHUWING H315 - Veroorzaakt huidirritatie H319 - Veroorzaakt ernstige oogirritatie H412 - Schadelijk voor in het water levende organismen, met langdurige gevolgen</p>
 	<p>Selectiereagens <i>Boorzuur 1 - 5%</i> <i>Natriumhydroxide <1%</i> WAARSCHUWING H315 - Veroorzaakt huidirritatie H319 - Veroorzaakt ernstige oogirritatie H371 - Kan schade aan organen veroorzaken H373 - Kan schade aan organen veroorzaken door langere of herhaalde blootstelling P264 - Was het gezicht, de handen en blootgestelde huid grondig na de omgang P280 - Draag beschermende handschoenen / beschermende kleding / oogbescherming / gezichtsbescherming P305 + P351 + P338 - INDIEN IN DE OGEN: Spoel minutenlang voorzichtig met water. Verwijder eventuele contactlenzen als dit gemakkelijk gaat. Ga door met spoelen. P337 + P313 - Als de oogirritatie aanhoudt: Vraag om medisch advies/hulp P302 + P352 - INDIEN OP DE HUID: Was met veel zeep en water P332 + P313 - Indien huidirritatie optreedt: Vraag om medisch advies/hulp P362 - Verwijder besmette kleding en was deze alvorens te opnieuw te gebruiken.</p>

Let op: 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.


Eisen voor opslag en verwerking van reagentia

- A. In de volgende tabel worden de opslagomstandigheden en stabiliteit voor reagentia en kalibrators weergegeven.

Reagens	Ongeopend bewaard	Open kit (ontdooid) ^a	
		Opslag	Stabiliteit
Amplificatiereagens	-35°C tot -15°C	2°C tot 8°C	30 dagen ^b
Enzymreagens	-35°C tot -15°C	2°C tot 8°C	30 dagen ^b
Probereagens	-35°C tot -15°C	2°C tot 8°C	30 dagen ^b
Interne controle	-35°C tot -15°C	15°C tot 30°C	8 uur voor het combineren met TCR
Target Capture Reagent (TCR)	2°C tot 8°C	N.v.t.	N.v.t.
Werkend target capture reagent (wTCR)	N.v.t.	2°C tot 8°C	30 dagen ^b
Selectiereagens	15°C tot 30°C	15°C tot 30°C	30 dagen ^b
NCAL (negatieve kalibrator)	-35°C tot -15°C	N.v.t.	Wegwerpflacon Binnen 8 uur gebruiken
PCAL (positieve kalibrator)	-35°C tot -15°C	N.v.t.	Wegwerpflacon Binnen 8 uur gebruiken

^a Bewaring van de open kit en stabiliteitsvoorwaarden zijn gebaseerd op gelijkaardige gevalideerde assays.

^b Wanneer reagentia uit het Panther-systeem worden gehaald, moeten ze onmiddellijk opnieuw op de juiste opslagtemperatuur worden gebracht.

- B. Gooi alle ongebruikte, eerder bereide reagentia en werkend target capture reagent na 30 dagen weg.
- C. Reagentia in het Panther-systeem blijven daarin 120 uur (cumulatief) stabiel. Het Panther-systeem registreert elke keer dat de reagentia worden geladen.
- D. Als er zich neerslag vormt in de target capture reagent (TCR) tijdens de bewaring, zie instructies onder *Bereiding van een nieuwe kit*. NIET VORTEXEN. TCR MAG NIET WORDEN INGEVROREN.
- E. Interne controle, amplificatie, enzym en monsterreagentia na initiële ontdooring niet opnieuw invriezen.
- F. Kalibrators gebruiken flacons voor eenmalig gebruik en moeten na gebruik worden weggegooid.
- G. Als er zich neerslag vormt in de selectiereagens, monsterreagens, negatieve kalibrator of positieve kalibrator, zie instructies onder *Testprocedure voor het Panther-systeem*.
- H. Wijzigingen in de fysieke verschijning van de geleverde reagens kan duiden op instabiliteit of bederf van deze materialen. Als wijzigingen in de fysieke verschijning van de reagentia worden waargenomen (bv. duidelijke wijzigingen in de troebelheid of kleur van de reagens duiden op microbiële besmetting) mogen deze niet worden gebruikt.
- I. Na ontdooring van de kalibrators moet de oplossing helder zijn, dus niet troebel en zonder neerslag.
-  J. De monsterreagens is fotosensitief. Bescherm de reagens tegen licht tijdens opslag of voorbereiding voor gebruik.

Monsterafname en -opslag

De Aptima Zika Virus assay kan worden gebruikt met serum, plasma en behandelde urinemonsters.

Een behandeld urinemonster is onverdunde urine die is toegevoegd aan urinetransportvloeistof in een transportbuisje voor urinemonsters van Aptima.

Let op: *behandel alle monsters alsof ze potentieel besmettelijke stoffen bevatten. Pas universele voorzorgsmaatregelen toe.*

Let op: *voorkom kruisbesmetting tijdens de stappen waarin de monsters worden verwerkt. Voer gebruikt materiaal bijvoorbeeld niet over open buizen af. Fout-positieve resultaten kunnen zich voordoen wanneer kruisbesmetting van monsters niet voldoende onder controle wordt gehouden tijdens de omgang met en de verwerking van monsters.*

Let op: *De minimumhoeveelheid serum of plasma voor primaire afnamebuisen is 1200 µl en voor SAT-buisen is de minimumhoeveelheid 700 µl voor een reactiehoeveelheid van 500 µl.*

A. Instructies voor afname

Raadpleeg de bijsluiters van de betreffende monsterafnamekit voor instructies.

1. Plasma- en serummonsters

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

- Buisen met de antistollingsmiddelen ethyleendiaminetetra-azijnzuur (EDTA) of zuur-citraat-dextrose-adenine (ACD-A) of met natriumcitraat (NAC)
- PPT-buisen (Plasma Preparation Tubes)
- Serumbuisen
- SST-buisen (serumseparatorbuisen)

Serum kan pas verder verwerkt worden na stolselvorming.

2. Urinemonsters

Urinemonsters moeten worden afgenomen volgens de instructies van de fabrikant.

B. Transport en opslag van monsters voorafgaand aan tests

1. Plasma- en serummonsters

Plasma en serum kunnen maximaal 13 dagen worden opgeslagen vanaf de dag van afname tot het moment van testen, onder de volgende voorwaarden:

- Volbloedmonsters moeten binnen 72 uur na afname worden gecentrifugeerd.
 - De monsters moeten worden bewaard bij 2°C tot 8°C tenzij bevroren. Echter mogen de monsters 72 uur worden bewaard bij temperaturen tot 25°C en tot 24 uur tijdens de 72 uur bij temperaturen tot 30°C.
- a. Als een langere opslag nodig is, mogen plasma en serum afzonderlijk van de cellen worden ingevroren en bewaard bij -20°C of -70°C. Vries volbloed niet in.
 - b. Er werd geen negatief effect op de assaydoeltreffendheid vastgesteld wanneer plasma- en serummonsters drie cycli doormaakten van bevroren en ontdooien.
 - c. Zorg ervoor dat plasma- en serummonsters voldoende monstervolume boven de gelscheiding of rodecelinterface hebben.
 - d. Monsters met zichtbare neerslag of fibrineus materiaal moeten worden geklaard door centrifugering gedurende 10 minuten bij 1000 tot 3000g vóór het testen.

2. Urinemonsters

- a. Urine moet worden overgebracht naar een Aptima transportbuisje voor urinemonsters dat urinetransportvloeistof bevat en moet binnen 72 uur grondig worden gemengd. Zie de betreffende bijsluiters voor de afnamekit.
- b. Bewaar het gemengde, bewerkte urinemonster bij 2°C tot 30°C en test het binnen 30 dagen na afname. Als langere opslag nodig is, kan het bewerkte urinemonster worden ingevroren bij -20°C of -70°C.
- c. Er werd geen negatief effect op de assaydoeltreffendheid vastgesteld wanneer bewerkte urine drie cycli doormaakte van bevriezen en ontdooien.
- d. Zorg ervoor dat de monsters voldoende monstervolume hebben.
- e. Monsters met zichtbare neerslag of fibrineus materiaal moeten worden geklaard door centrifugering gedurende 10 minuten bij 1000 tot 3000g vóór het testen.

C. Monsteropslag na tests

1. Monsters waarop een assay is uitgevoerd moeten rechtop in een rek worden bewaard.
2. De monsterbuizen moeten worden afgedekt met een nieuwe, schone plastic folie of foliebarrière.
3. Indien assaymonsters moeten worden ingevroren of verzonden, moeten nieuwe doppen op de monsterbuisjes worden geplaatst. Als monsters moeten worden vervoerd voor tests bij een andere locatie, dan moeten de aanbevolen temperaturen behouden blijven. Voordat de dop van eerder geteste en weergesloten monsters wordt gehaald, moeten monsterbuisjes kortstondig worden gecentrifugeerd (5 minuten bij 500g) om al de vloeistof naar de bodem van het busje te brengen. **Vermijd opspatten en kruisbesmetting.**

Let op: de monsters moeten worden vervoerd volgens de toepasselijke nationale, internationale en regionale transportvoorschriften.

Panther™-systeem

Hieronder staan reagentia voor de Aptima Zika Virus Assay voor het Panther-systeem vermeld. Naast de naam van het reagens worden tevens de identificatiesymbolen weergegeven.

Geleverde reagentia en materialen

Let op: 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 Zika Virus kalibratorkits moeten afzonderlijk worden aangekocht. Zie het individuele catalogusnummer hieronder.

Aptima Zika Virus Assay Kit, 1000 tests (4 x 250 tests) Cat. Nr. PRD-04232
(3 assaydozen)

Aptima Zika Virus Assay-doos
(bewaren op -35°C tot -15°C na ontvangst)

Symbol	Onderdeel	Hoeveelheid
A	Amplificatiereagens <i>Niet-besmettelijke nucleïnezuren in gebufferde oplossing.</i>	4 x 26 ml
E	Enzymreagens <i>Reverse-transcriptase en RNA-polymerase in met HEPES gebufferde oplossing.</i>	4 x 13,4 ml
P	Probereagens <i>Chemiluminescerende monsters in succinaat gebufferde oplossing.</i>	4 x 34,7 ml
IC	Interne controlereagens <i>Een HEPES gebufferde oplossing die detergent en een RNA-transcript bevat.</i>	4 x 2,8 ml
	Streepjescodeblad hoofdpertij	1 blad

Aptima Zika Virus Assay-doos
(bewaren op 15°C tot 30°C na ontvangst)

Symbol	Onderdeel	Hoeveelheid
S	Selectiereagens <i>600 mM in boraat gebufferde oplossing met surfactans.</i>	4 x 91 ml

Aptima Zika Virus Assay-doos
(bewaren op 2°C tot 8°C na ontvangst)

Symbol	Onderdeel	Hoeveelheid
TCR	Target Capture Reagent <i>Een gebufferde zoutoplossing met vastefase-, niet-besmettelijke nucleïnezuren.</i>	4 x 161 ml

Benodigde maar apart geleverde materialen

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

Materiaal	Cat. nr.
Panther-systeem	—
Aptima-kit met assayvloeistof (ook bekend als universele vloeistofkit) <i>bevat Aptima-wasoplossing, Aptima-buffer voor deactiveringsvloeistof en Aptima-oliereagens</i>	303014 (1000 tests)
Aptima auto detect kit	303013 (1000 tests)
Uit meerdere buisjes bestaande verpakkingen (MTU's)	104772-02
Panther-afvalzakkit	902731
Panther-afvalbakdeksel	504405
Of runkit voor het Panther-systeem <i>bevat MTU's, afvalzakken, afvalbakdeksels, automatische detecties en assayvloeistof</i>	303096 (5.000 tests)
Punten, 1000 µl, geleidend, vloeistofdetectie	10612513 (Tecan)
Aptima Zika Virus kalibratorkit <i>NCAL. Negatieve kalibrator, gebufferde oplossing die detergent bevat, 15 x 2,2 ml</i> <i>PCAL. Positieve kalibrator, RNA-transcript in gebufferde oplossing die detergent bevat, 15 x 2,2 ml</i>	PRD-04233
Bleekmiddel, 5% tot 7% (0,7 M tot 1,0 M) natriumhypochlorietoplossing	—
Poederloze wegwerphandschoenen	—
Vervangende niet-doorprikbare doppen	103036A
Vervangende reagensdopjes voor 250 testflessen <i>Amplificatie en monsterreagentia</i> <i>Enzymereagens</i> <i>TCR en selectiereagentia</i>	CL0042 (100 doppen) 501619 (100 doppen) CL0039 (100 doppen)
Laboratoriumtafelvlakken met plastic achterkant	—
Pluisvrije doekjes	—
Pipet	—
Punten	—
Er kunnen primaire bloedafnamebuisen met de volgende afmetingen worden gebruikt: <i>13 mm x 100 mm</i> <i>13 mm x 75 mm</i> <i>16 mm x 100 mm</i>	—
Centrifuge	—
Vortexmixer	—

Optionele materialen

Materiaal	Cat. nr.
Aptima-SAT-buizen (100 stuks)	503762
Dop voor transportbuizen (100 stuks) <i>dop voor SAT-buis</i>	504415
Transferpipetten	—
Wattenstaafjes	—
Schudmachine	—
Aptima urinemonsterafnamekit	301040
Of Aptima urinemonstertransportbuizen	105575
SB100™ Reagensequilibratiesysteem (SB100-RES)	—
Waterbad	—

Testprocedure voor het Panther-systeem

Let op: raadpleeg de gebruikershandleiding van het Panther-systeem voor aanvullende informatie over procedures.

Let op: Zie applicatieblad bij het SB100 reagensequilibratiesysteem voor optionele informatie over reagensbereiding.

A. Voorbereiding werkgebied

1. Reinig de werkoppervlakken waar reagentia worden bereid. 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 intrekken en spoel de werkoppervlakken vervolgens af met gedeïoniseerd (DI) water. De natriumhypochlorietoplossing mag niet opdrogen. Bedek het tafelblad met schone, absorberende laboratoriumtafelkleden met een plastic achterkant.
2. Reinig een apart deel van het werkoppervlak waar reagentia worden bereid. Gebruik de hierboven beschreven procedure (stap A.1).
3. Reinig de pipetten. Gebruik de hierboven beschreven reinigingsprocedure (stap A.1).

B. Bereiding van een nieuwe kit

Waarschuwing: Voorkom overmatige schuimvorming in reagentia. Schuim verstoort detectie van het vloeistofpeil door het Panther-systeem.

Let op: Monsterreagens is fotosensitief. Bescherm deze tegen licht tijdens opslag en tijdens de omgang met de reagens.

Let op: Amplificatie-, enzym- en monsterreagentia mogen maximaal 24 uur worden ontdooid bij 2°C tot 8°C vóór de bereiding van de reagens.

Let op: Interne controle kan maximaal 24 uur worden ontdooid bij 2°C tot 8°C of maximaal 8 uur op kamertemperatuur (15°C tot 30°C) vóór de wTCR-bereiding.

Bereiding van target capture reagent (TCR), amplificatie, enzym en monsterreagentia

1. Haal een nieuwe set reagentia uit de opslag. Controleer of de partijnummers op de reagensflessen overeenkomen met de partijnummers op het streepjescodeblad van de hoofdpartij.
2. Laat reagentia kamertemperatuur bereiken (15°C tot 30°C) door gebruik te maken van één van deze drie opties:

SB100-RES-bereiding (optie 1)

1. **Onmiddellijk** nadat ze uit de opslag (2°C tot 8°C) is gehaald, moet de TCR-fles krachtig worden omgedraaid om de gel in de oplossing te mengen (minstens 10 inversies en tot de gel weg is van de bodem). NIET VORTEXEN.
2. Bereid de TCR-, amplificatie-, enzym- en monsterreagentia door gebruik te maken van het SB100-RES-instrument.
3. Noteer bij het uitladen van de reagentia de dooidatum voor de amplificatie-, enzym- en monsterreagentia in de daarvoor op het etiket voorziene ruimte.

Waterbadbereiding (optie 2)

Waarschuwing: De temperatuur van het waterbad mag niet meer dan 30°C bedragen.

Let op: Zie instructies voor bereiding bij kamertemperatuur (15°C tot 30°C) voor de bereiding van TCR. Gebruik geen waterbad om TCR te bereiden.

1. Plaats bij het uit de opslag halen (-35°C tot -15°C of 2°C tot 8°C) amplificatie-, enzym- en monsterreagentia recht op in een speciaal waterbad op kamertemperatuur (15°C tot 30°C). Keer minstens om de 10 minuten de reagentia voorzichtig om zodat ze worden gemengd en voer een visuele controle uit om er zeker van te zijn dat de neerslag oplost. Ga door met het voorzichtig omkeren en visueel controleren tot al de neerslag weg is.
2. Zorg ervoor dat de neerslag is opgelost. Gebruik geen reagens in geval van gelvorming, neerslag of troebelheid.
3. Noteer de dooidatum voor de amplificatie-, enzym- en monsterreagentia in de daarvoor op het etiket voorziene ruimte.

Kamertemperatuurbereiding (optie 3)

Let op: Monsterreagens van -35°C tot -15°C opslag kan tot 4 uur duren om volledig te ontdooien bij kamertemperatuur (15°C tot 30°C) met voorzichtige omkering minstens elke 10 minuten.

1. Voer de volgende stappen uit om TCR te bereiden:
 - a. **Onmiddellijk** nadat ze uit de opslag (2°C tot 8°C) is gehaald, moet de TCR-fles krachtig worden omgedraaid om de gel in de oplossing te mengen (minstens 10 inversies en tot de gel weg is van de bodem). NIET VORTEXEN.
 - b. Laat de TCR-fles minstens 45 minuten op kamertemperatuur (15°C tot 30°C) blijven. Keer minstens om de 10 minuten de TCR-fles voorzichtig om (minstens 10 omkeringen) zodat ze worden gemengd en voer een visuele controle uit om er zeker van te zijn dat er geen geld meer is.
 - c. Controleer vóór gebruik of de gel is opgelost en de magnetische deeltjes zijn gesuspendeerd.

Let op: Indien er gel aanwezig is en dit aanhoudt, niet gebruiken. Plaats de TCR-fles in de opslag (2°C tot 8°C) voor later gebruik. Haal een nieuwe TCR-fles uit de opslag (2°C tot 8°C) en herhaal stappen 1.a tot 1.c.

2. Ga als volgt te werk om amplificatie-, enzym- en monsterreagentia te bereiden:
 - a. Plaats bij het uit de opslag halen (-35°C tot -15°C of 2°C tot 8°C) de reagentia rechttop bij kamertemperatuur (15°C tot 30°C). Keer minstens om de 10 minuten de reagentia voorzichtig om zodat ze worden gemengd en voer een visuele controle uit om er zeker van te zijn dat de neerslag oplost. Laat verder ontdooien tot er geen neerslag meer is.
3. Zorg ervoor dat de neerslag is opgelost. Gebruik geen reagens in geval van gelvorming, neerslag of troebelheid.
4. Noteer de doodatum voor de amplificatie-, enzym- en monsterreagentia in de daarvoor op het etiket voorziene ruimte.

Bereiding werkend target capture reagent (wTCR) en interne controle

Let op: Gebruik het SB100-RES-instrument niet voor het voorbereiden van interne controle.

1. Voer de volgende stappen uit om interne controle te bereiden:
 - a. Haal één buisje interne controle uit de opslag (-35°C tot -15°C of 2°C tot 8°C).
 - b. Laat de interne controle bij het uit de opslag halen (-35°C tot -15°C of 2°C tot 8°C) minstens 30 minuten op kamertemperatuur (15°C tot 30°C) komen.

Optie: Het buisje met interne controle kan in een waterbad op kamertemperatuur (15°C tot 30°C) worden geplaatst.

- c. Keer minstens om de 10 minuten het buisje met interne controle voorzichtig om zodat ze worden gemengd en voer een visuele controle uit op de aanwezigheid van gel. Zorg ervoor dat de gel vóór het gebruik is opgelost.

Optie: Het buisje met interne controle kan in een schudmachine worden geplaatst om grondig te mengen bij kamertemperatuurbereiding.

Let op: Als er zich gelvorming voordoet, moet de gel worden opgelost vóór het gebruik en binnen de dooiperiode van 8 uur op kamertemperatuur (15°C tot 30°C). Indien de gel niet weggaat, niet gebruiken. Gooi het buisje weg, neem een nieuw buisje met interne controle en herhaal de stappen 1.a tot 1.c.

2. Voer de volgende stappen uit om wTCR te bereiden:
 - a. Zodra de TCR klaar is voor gebruik, moet de volledige inhoud van het buisje met interne controle in de TCR-fles worden gegoten. Plaats een dop op de TCR-fles en keer voorzichtig om voor een grondige menging.
 - b. In de ruimte aangeduid op de TCR-fles, noteert u de datum waarop de interne controle is toegevoegd, de wTCR vervaldatum (de datum dat de interne controle is toegevoegd plus 30 dagen), het partijnummer van de interne controle (IC LOT) en de initialen van de gebruiker.
 - c. Bewaar het buisje van de interne controle; de barcode op het etiket moet verplicht in het Panther-systeem worden gescand.

Bereiding selectiereagens

Let op: Niet gebruiken in geval van neerslag of troebelheid.

1. Voer de volgende stappen uit om selectiereagens te bereiden:

- a. Haal een fles selectiereagens uit de opslag op kamertemperatuur (15°C tot 30°C). Controleer of het partijnummer op de reagensfles overeenkomt met het partijnummer op het streepjescodeblad van de hoofdpartij.
- b. Keer de fles voorzichtig om voor een grondige menging en controleer visueel om zeker te zijn dat er geen neerslag of troebelheid is.
- c. Noteer de datum van de eerste opening (opendatum) op de betreffende plaats op het etiket.

Let op: *Herstellen selectiereagens: Als de selectiereagens per ongeluk bij 2°C tot 8°C werd bewaard of de temperatuur in het laboratorium daalt tot onder 15°C, kan neerslag worden gevormd. Als neerslag wordt gevormd in de selectiereagens wordt gevormd tijdens de opslag, warm dan op tot 60°C ± 1°C voor maximaal 45 minuten en meng de fles regelmatig (om de 5 à 10 minuten). Zodra al de neerslag weer oplossing is geworden, plaatst u de fles in een waterbad op kamertemperatuur (15°C tot 30°C) en laat u de fles minstens 1 uur equilibreren.*

C. Kalibrator bereiden

Let op: *Voorkom overmatige schuimvorming bij het omkeren van kalibrators. Schuim verstoort detectie van het vloeistofpeil door het Panther-systeem.*

Let op: *Gebruik het SB100-RES-instrument niet voor het ontdooien van kalibrators.*

1. Laat de kalibrators bij het uit de opslag halen van de kalibrators (-35°C tot -15°C) minstens 30 minuten op kamertemperatuur (15°C tot 30°C) komen.

Optie: *Kalibrators kunnen in een waterbad op kamertemperatuur (15°C tot 30°C) worden geplaatst om te ontdooien.*

2. Keer tijdens het gehele ontdooiproces elke buis minstens om de 10 minuten rustig om zodat de inhoud goed wordt gemengd. Controleer vóór gebruik of de inhoud van de buis volledig ontdooid is.

Optie: *Kalibrators kunnen in een schudmachine worden geplaatst om grondig te mengen bij kamertemperatuurbereiding.*

3. Indien gelvorming wordt waargenomen, moet het buisje voorzichtig worden omgekeerd tot de gel niet langer aanwezig is.

Let op: *Als er zich gelvorming voordoet, moet de gel worden opgelost vóór het gebruik en binnen de dooiperiode van 8 uur op kamertemperatuur (15°C tot 30°C). Indien de gel niet weggaat, niet gebruiken. Gooi de betreffende buisjes weg, neem nieuwe buisjes met kalibrators en herhaal de stappen C.1 tot C.3.*

4. Droog na volledige ontdooiing van de inhoud de buitenkant van elke buis af met een schoon, droog wegwerpdoekje.
5. Open de kalibratorbuisjes niet om vervuiling te voorkomen.

D. Bereiding van reagentia voor eerder bereide reagentia

wTCR-, amplificatie-, enzym- en monsterreagentiabereiding

1. Haal wTCR en eerder bereide reagentia uit de opslag.
2. Laat reagentia kamertemperatuur bereiken (15°C tot 30°C) door gebruik te maken van één van deze drie opties:

SB100-RES-bereiding (optie 1)

1. **Onmiddellijk** nadat ze uit de opslag (2°C tot 8°C) is gehaald, moet de TCR-fles krachtig worden omgedraaid om de gel in de oplossing te mengen (minstens 10 inversies en tot de gel weg is van de bodem). NIET VORTEXEN.
2. Bereid de wTCR-, amplificatie-, enzym- en monsterreagentia door gebruik te maken van het SB100-RES-instrument.

Waterbadbereiding (optie 2)

Waarschuwing: De temperatuur van het waterbad mag niet meer dan 30°C bedragen.

Let op: Zie instructies voor bereiding bij kamertemperatuur (15°C tot 30°C) voor de bereiding van wTCR. Gebruik geen waterbad om wTCR te bereiden.

1. Plaats bij het uit de opslag halen (2°C tot 8°C) amplificatie-, enzym- en monsterreagentia recht op in een speciaal waterbad op kamertemperatuur (15°C tot 30°C). Keer minstens om de 10 minuten de reagentia voorzichtig om zodat ze worden gemengd en voer een visuele controle uit om er zeker van te zijn dat de neerslag oplost. Laat verder ontdooien tot er geen neerslag meer is.
2. Zorg ervoor dat de neerslag is opgelost. Gebruik geen reagens in geval van gelvorming, neerslag of troebelheid.

Kamertemperatuurbereiding (optie 3)

1. Voer de volgende stappen uit om wTCR te bereiden:
 - a. **Onmiddellijk** nadat ze uit de opslag (2°C tot 8°C) is gehaald, moet de wTCR-fles krachtig worden omgedraaid om de gel in de oplossing te mengen (minstens 10 inversies en tot de gel weg is van de bodem). NIET VORTEXEN.
 - b. Laat de wTCR-fles minstens 45 minuten op kamertemperatuur (15°C tot 30°C) blijven. Keer minstens om de 10 minuten de wTCR-fles voorzichtig om (minstens 10 omkeringen) zodat ze worden gemengd en voer een visuele controle uit om er zeker van te zijn dat er geen geld meer is.
 - c. Controleer vóór gebruik of de gel is opgelost en de magnetische deeltjes zijn gesuspendeerd.

Let op: Indien er gel aanwezig is en dit aanhoudt, niet gebruiken. Plaats de wTCR-fles en de overeenkomstige reagentia in de opslag (2°C tot 8°C) voor later gebruik.

2. Ga als volgt te werk om amplificatie-, enzym- en monsterreagentia te bereiden:
 - a. Bereid bij het uit de opslag halen (2°C tot 8°C) de reagentia recht op bij kamertemperatuur (15°C tot 30°C). Keer minstens om de 10 minuten de reagentia voorzichtig om zodat ze worden gemengd en voer een visuele controle uit om er zeker van te zijn dat de neerslag oplost. Laat verder ontdooien tot er geen neerslag meer is.
3. Zorg ervoor dat de neerslag is opgelost. Gebruik geen reagens in geval van gelvorming, neerslag of troebelheid.

Bereiding selectiereagens

Let op: Niet gebruiken in geval van neerslag of troebelheid.

1. Haal een overeenkomstige fles selectiereagens uit de opslag op kamertemperatuur (15°C tot 30°C).
2. Keer de fles voorzichtig om voor een grondige menging en controleer visueel om zeker te zijn dat er geen neerslag of troebelheid is.

Let op: Herstellen selectiereagens: Als de selectiereagens per ongeluk bij 2°C tot 8°C werd bewaard of de temperatuur in het laboratorium daalt tot onder 15°C, kan neerslag worden gevormd. Als neerslag wordt gevormd in de selectiereagens wordt gevormd tijdens de opslag, warm dan op tot 60°C ± 1°C voor maximaal 45 minuten en meng de fles regelmatig (om de 5 à 10 minuten). Zodra al de neerslag weer oplossing is geworden, plaatst u de fles in een waterbad op kamertemperatuur (15°C tot 30°C) en laat u de fles minstens 1 uur equilibreren.

E. Verwerking van monsters

1. Zorg dat de monsters en kalibrators zich tussen 15°C en 30°C bevinden vóór verwerking.
2. Zorg ervoor dat elk monster voldoende volume bevat voor elk monstertype en buistype.
3. Meng verse of ontdooide monsters grondig.
4. Vlak voordat u de monsters in een monsterrek plaatst, centrifugeert u elk monster gedurende 10 minuten op 1000 tot 3000g. Verwijder de doppen niet. Luchtbellen in de buis verstoren detectie van het vloeistofpeil door het Panther-systeem. Centrifugeringstijden en -snelheden voor het naar beneden trekken van alle vloeistof en neerslag moeten door de gebruiker worden gevalideerd. Als de neerslag niet opnieuw in oplossing verandert, verzeker u er dan visueel van dat de neerslag de levering van het monster niet verhindert.

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

F. Gereedmaken van het systeem

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

Let op: wees vooral voorzichtig om besmetting via verspreiding van aerosolen te voorkomen. Maak de doppen op de monsters voorzichtig los.
 - b. Plaats 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 geplaatst, dient u de dop van elke monsterbuis in één monsterrek eraf te halen en af te voeren. Houd een dop niet boven andere monsterrekken of monsterbuizen om vervuiling te voorkomen.

Let op: Doorprikbare doppen van het Aptima transportbuisje voor urinemonsters moeten ook worden verwijderd en weggegooid.
 - 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 een monstervak.

Let op: Als u tegelijkertijd andere assays met andere monstertypes uitvoert, zet de monsterhouder dan vast voordat u het monsterrek in het monstervak plaatst.
 - g. Herhaal stappen 2.a tot en met 2.f voor het volgende monsterrek.

Procedurele opmerkingen

A. Kalibrators

1. De kalibratorbuisjes kunnen op elke positie in het monsterrek en in elke lijn in een monstervak worden geplaatst. Monsters worden gepipetteerd wanneer aan een van de volgende twee voorwaarden is voldaan:
 - a. De kalibrators worden momenteel verwerkt door het systeem.
 - b. Geldige resultaten voor de kalibrator worden in het systeem geregistreerd.
2. Wanneer de kalibratorbuizen zijn gepipetteerd en voor de Aptima Zika Virus assay-reagenskit worden verwerkt, kunnen monsters tot maximaal 24 uur met de bijbehorende kit worden getest **behalve** in de volgende gevallen:
 - a. De resultaten voor de kalibrator zijn ongeldig.
 - b. de bijbehorende assay-reagenskit is uit het systeem verwijderd.
 - c. De bijbehorende assay-reagenskit heeft de stabiliteitsgrenzen overschreden.
3. Elke kalibratorbuis kan 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 vervuilen. Poederloze handschoenen worden daarom aanbevolen.

Kwaliteitscontrole

Criteria voor acceptatie voor de Aptima Zika Virus Assay

A. Geldigheid run

Een run (ook een worklist genoemd) is geldig indien het minimale aantal kalibrators voldoen aan hun criteria voor acceptatie en geldig zijn (zie *Criteria voor acceptatie voor kalibratie en berekening van cutoff*).

1. In een Aptima Zika Virus assayrun moeten minstens vier van de zes kalibratorreplica's geldig zijn. Minstens twee van de drie negatieve kalibratorreplica's en twee van de drie positieve kalibratorreplica's geldig zijn.
2. Kalibrator-acceptatiecriteria worden automatisch geverifieerd door de Panther-systeemsoftware. Als minder dan het minimale aantal kalibratorreplica's geldig is, beschouwt de Panther-systeemsoftware de run automatisch als ongeldig.
3. In een geldige run worden cutoff-waarden automatisch berekend voor interne controler (flasher) en analyt (glower).
4. Als een run ongeldig is, worden de monsterresultaten gemeld als ongeldig en moeten alle monsters opnieuw worden getest.

B. Geldigheid monster

1. In een geldige run is een monsterresultaat geldig wanneer het IC-sigitaal gelijk aan of groter dan de IC-cutoff is, behalve voor de volgende uitzonderingen:
 - a. Monsters met een analyt signaal (glower-sigitaal) groter dan de analyt-cutoff worden niet ongeldig, zelfs al is het signaal van de interne controle (IC) lager dan de cutoff.
 - b. Monsters met een IC-sigitaal boven 750.000 RLU worden ongeldig gemaakt door de software en hun reactieve status kan niet worden geëvalueerd. De software maakt ook automatisch positieve kalibrators ongeldig met een IC-sigitaal hoger dan 750.000 RLU.
2. Een monster kan ook ongeldig worden gemaakt door instrument- en resultaatverwerkingsfouten. Zie de *Gebruikershandleiding bij het Panther-systeem* voor meer informatie.
3. Alle individuele monsterresultaten die ongeldig zijn in een geldige run moeten opnieuw worden getest.

Criteria voor acceptatie voor kalibratie en berekening van cutoff

A. Criteria voor acceptatie negatieve kalibrator

De negatieve kalibrator (NC) wordt gerund in triplicaat in de Aptima Zika Virus assay. Elke individuele negatieve kalibrator replica moet een waarde voor interne controle (IC) hebben die groter is dan of gelijk is aan 50.000 RLU en kleiner is dan of gelijk is aan 500.000 RLU. Elke individuele negatieve kalibrator replica moet ook een analyte waarde hebben die kleiner is dan of gelijk is aan 40.000 RLU en groter is dan of gelijk is aan 0 RLU. Indien een van de negatieve kalibratorreplica-waarden ongeldig is door een IC-waarde of een analyte waarde buiten deze grenzen, wordt de gemiddelde negatieve kalibrator (NC_x) berekend op basis van de twee aanvaardbare waarden. De run is ongeldig en moet worden overgedaan indien twee of meer van de drie negatieve kalibratorreplica-waarden IC-waarden of analyte waarden hebben die buiten deze grenzen liggen.

Bepaling van het gemiddelde van de negatieve kalibratorwaarden (NC_x) voor interne controle [NC_x (interne controle)]

Voorbeeld:

Negatieve kalibrator	Interne controle Relatieve lichteenheden
1	235.000
2	200.000
3	210.000
Totaal interne controle RLU	= 645.000

$$NC_x (\text{interne controle}) = \frac{\text{Totaal interne controle RLU}}{3} = 215.000$$

Bepaling van het gemiddelde van de negatieve kalibratorwaarden (NC_x) voor analyt [NC_x (analyt)]

Voorbeeld:

Negatieve kalibrator	Analyt Relatieve lichteenheden
1	14.000
2	16.000
3	15.000
Totaal analyt RLU	= 45.000

$$NC_x (\text{analyt}) = \frac{\text{Totaal analyt RLU}}{3} = 15.000$$

B. Criteria voor acceptatie positieve kalibrator

De positieve kalibrator wordt gerund in triplicaat in de Aptima Zika Virus assay. Individuele positieve kalibrator (PC) analyt-waarden moeten kleiner dan of gelijk aan 4.000.000 RLU zijn en groter dan of gelijk aan 400.000 RLU. De IC-waarden mogen 750.000 RLU niet overschrijden. Indien een van de positieve kalibratorreplica-waarden zich buiten deze grenzen bevindt, wordt de gemiddelde positieve kalibrator (PC_x) berekend op basis van de twee aanvaardbare waarden van de positieve kalibrator. De run is ongeldig en moet worden overgedaan indien twee of meer van de drie positieve kalibrator analyte waarden hebben die buiten deze grenzen liggen.

Bepaling van het gemiddelde van de positieve kalibratorwaarden (PC_x) voor analyt [PC_x (analyt)]

Voorbeeld:

Positieve kalibrator	Analyt Relatieve lichteenheden
1	1.250.000
2	1.500.000
3	1.150.000
Totaal analyt RLU	= 3.900.000

$$PC_x (\text{analyt}) = \frac{\text{Totaal analyt RLU}}{3} = 1.300.000$$

C. Berekening van de interne controle cutoff-waarde

$$\text{Interne controle cutoff-waarde} = 0,5 \times [\text{NC}_x \text{ (interne controle)}]$$

Gebruik makend van voorbeelden uit het negatievekalibratorvoorbeeld hierboven:

$$\text{Interne controle cutoff-waarde} = 0,5 \times (215.000)$$

$$\text{Interne controle cutoff-waarde} = 107.500 \text{ RLU}$$

D. Berekening van de analyt cutoff-waarde voor zikavirus

$$\text{Analyt cutoff-waarde} = \text{NC}_x \text{ (analyt)} + [0,03 \times \text{PC}_x \text{ (analyt)}]$$

Gebruik makend van voorbeelden uit het negatieve-kalibrator- en positieve-kalibrator-voorbeeld hierboven:

$$\text{Analyt cutoff-waarde} = 15.000 + (0,03 \times 1.300.000)$$

$$\text{Analyte cutoff-waarde} = 54.000 \text{ RLU}$$

E. Samenvatting van criteria voor acceptatie voor de Aptima Zika Virus Assay

Criteria voor acceptatie	
Negatieve kalibrator	
Analyt	≥ 0 en ≤ 40.000 RLU
Interne controle	≥ 50.000 en ≤ 500.000 RLU
Positieve kalibrator	
Analyt	≥ 400.000 en $\leq 4.000.000$ RLU
Interne controle	≤ 750.000 RLU

F. Samenvatting van cutoff-berekeningen voor de Aptima Zika Virus Assay

$$\text{Cutoff analyt} = \text{NC analyt gemiddeld RLU} + [0,03 \times (\text{PC analyt gemiddeld RLU})]$$

$$\text{Interne controle-cutoff} = 0,5 \times (\text{negatieve kalibrator IC gemiddeld RLU})$$

Interpretatie van resultaten

Alle hierboven beschreven berekeningen worden uitgevoerd door de Panther-systeemsoftware. Voor elke assay worden twee cutoffs bepaald: een voor het analytsignaal (glower-signaal) genoemd analyt-cutoff en een voor het interne-controlesignaal (flasher-signaal) genoemd de interne-controle-cutoff. De berekening van deze cutoffs wordt hierboven weergegeven. Voor elk monster worden een analyt-signaal-RLU-waarde en een interne-controle-signaal-RLU-waarde bepaald. Analyt-signaal RLU verdeeld door de analyt-cutoff wordt afgekort als het analytsignaal/cutoff (S/CO) in het verslag.

Een monster is negatief als het analytsignaal minder bedraagt dan de analyt-cutoff (d.w.z. analyt S/CO < 1,00) en het signaal voor interne controle (IC) groter dan of gelijk aan de interne-controle-cutoff (IC Cutoff) is en minder dan of gelijk aan 750.000 RLU. Een monster is positief als het analytsignaal meer bedraagt dan of gelijk is aan de analyt-cutoff (d.w.z. analyt S/CO ≥ 1,00) en het IC-signaal minder is dan of gelijk is aan 750.000 RLU. De resultaten worden aangegeven door de software. Een monster is ongeldig als het analytsignaal minder bedraagt dan de analyt-cutoff (d.w.z. analyt S/CO < 1,00) en het interne-controle-signaal minder is dan de interne-controle-cutoff. Elk monster met interne-controle-waarden van meer dan 750.000 RLU wordt als ongeldig beschouwd.

Samenvatting van monsterinterpretatie

Monsterinterpretatie	Criteria
Negatief	Analyt S/CO < 1,00 en IC ≥ IC-cutoff en IC ≤ 750.000 RLU
Positief	Analyt S/CO ≥ 1,00 en IC ≤ 750.000 RLU*
Ongeldig	IC > 750.000 RLU of Analyt S/CO < 1,00 en IC < Cutoff

*Voor monsters met IC-signaal van meer dan 750.000 RLU wordt het monster door de software ongeldig gemaakt.

- A. Elk monster met een interpretatie van ongeldig in de Aptima Zika Virus assay moet opnieuw worden getest in enkele spectraallijn.
- B. Monsters met een geldige interne controle en met een analyt S/CO van minder dan 1,00 in de Aptima Zika Virus assay worden beschouwd als negatief voor ZIKV-RNA.
- C. Monsters met een analyt S/CO van meer dan of gelijk aan 1,00 met IC-signaal minder dan of gelijk aan 750.000 RLU worden beschouwd als positief voor ZIKV-RNA.

Beperkingen

- A. Alleen personeel dat is getraind in de procedure, mag deze assay gebruiken. Niet-naleving van de instructies in deze bijsluiters kan leiden tot foutieve resultaten.
- B. Betrouwbare resultaten zijn afhankelijk van adequate monsterafname, vervoer, opslag en verwerking.
- C. Het effect van opslag op lange termijn van monsters op de resultaten van de Aptima Zika Virus assay is nog niet volledig geëvalueerd.
- D. Hoewel het niet vaak voorkomt, kunnen mutaties in de sterk geconserveerde regio's van het virale genoom, die bedekt zijn door de primers en/of sondes in de Aptima Zika Virus assay, ervoor zorgen dat het virus niet wordt gedetecteerd.
- E. Deze assay is uitsluitend ontwikkeld voor gebruik met het Panther-systeem.
- F. Kruisbesmetting van monsters kan fout-positieve resultaten opleveren.
- G. Assays moeten worden uitgevoerd en resultaten moeten worden geïnterpreteerd volgens de meegeleverde procedures.
- H. Afwijkingen van deze procedures, afwijkingen van verzendings- en/of opslagvoorwaarden of gebruik van verouderde reagentia kan leiden tot onbetrouwbare resultaten.
- I. Het niet bereiken van de verwachte resultaten is een indicatie voor een ongeldige run. Mogelijke bronnen van fouten zijn slijtage van de testkit, fouten van de gebruiker, verkeerde handelingen of apparatuur, bederf van het monster of besmetting van reagentia.
- J. Deze assay is getest met behulp van uitsluitend de aangegeven monstertypen. Gebruik met andere monstertypen is niet geëvalueerd.
- K. Resultaten van de Aptima Zika Virus assay moeten worden geïnterpreteerd in combinatie met andere klinische gegevens die voor de arts beschikbaar zijn.
- L. Een negatief resultaat sluit een mogelijke infectie niet uit omdat resultaten afhankelijk zijn van een adequate monsterafname. Testresultaten kunnen worden beïnvloed door onjuiste monsterafname, technische fouten, verwisselen van monsters of doelniveaus die onder de detectielimiet van de assay liggen.
- M. De Aptima Zika Virus assay levert kwalitatieve resultaten. Er kan daarom geen correlatie worden getrokken tussen de sterkte van een positief assaysignaal en het aantal organismen in een monster.
- N. Klanten moeten onafhankelijk een LIS-overdrachtproces valideren.

Prestaties**Analytische gevoeligheid****Detectielimiet (LoD) voor plasmamonsters**

De detectielimiet (LoD) wordt gedefinieerd als de ZIKV-RNA-concentratie die is aangetroffen bij een waarschijnlijkheid van 95% of hoger volgens CLSI EP17-A2.²⁰ De LoD werd bepaald door het testen van een ZIKV-positief plasmamonster serieel verdund in gedefibrineerd, gedelipideerd menselijk plasma. Het positieve plasmamonster werd afgenomen van een bloeddonor tijdens de zika-uitbraak van 2015 in Brazilië. Twee partijen reagentia en drie Panther-instrumenten werden gebruikt voor het testen van 72 replica's van elk kopieerniveau per reagenspartij voor een totaal van 144 replica's per niveau, behalve voor het panellid met 90 kopieën/ml, wat getest werd bij 20 replica's per reagenspartij voor een totaal van 40 replica's. De resultaten zijn samengevat in Tabel 1.

Tabel 1: Detectie van ZIKV in plasma

Concentratie (kopieën/ml)	% positief (95% CI)		
	Partij 1 (n=72)	Partij 2 (n=72)	Gecombineerd (n=144)
90	100 (84 - 100) ^a	100 (84 - 100) ^a	100 (91 - 100) ^b
30	100 (95 - 100)	100 (95 - 100)	100 (97 - 100)
10	100 (95 - 100)	100 (95 - 100)	100 (97 - 100)
3	86 (76 - 92)	92 (83 - 96)	89 (83 - 93)
1	38 (28 - 50)	60 (48 - 71)	49 (41 - 57)
0,3	19 (12 - 30)	14 (8 - 24)	17 (12 - 24)
0,1	1 (0 - 7)	6 (2 - 14)	3 (1 - 7)
0	0 (0 - 5)	0 (0 - 5)	0 (0 - 3)

CI = betrouwbaarheidsinterval

^an=20.^bn=40.

De 50% en 95% detectiewaarschijnlijkheid van ZIKV in plasma werd bepaald door Probit-analyses gebruikmakend van gegevens uit de tests op analytische gevoeligheid. De detectiegrens voor ZIKV in de Aptima Zika Virus assay varieerde van 0,91 kopieën/ml tot 1,22 kopieën/ml bij de 50% detectiewaarschijnlijkheid en van 3,30 kopieën/ml tot 4,41 kopieën/ml bij de 95% detectiewaarschijnlijkheid (Tabel 2).

Tabel 2: Probit-analyse van ZIKV-detectie in plasma

Reagenspartij	50% detectiegrens (95% betrouwbaarheidsgrenzen)	95% detectiegrens (95% betrouwbaarheidsgrenzen)
Partij 1	1,22 (1,01 - 1,47)	4,41 (3,46 - 6,14)
Partij 2	0,91 (0,74 - 1,09)	3,30 (2,63 - 4,44)
Gecombineerd	1,06 (0,92 - 1,20)	3,87 (3,25 - 4,78)

Detectielimiet voor urinemonsters

De LoD werd bepaald door het testen van een ZIKV-positief plasmamonster serieel verdund in samengevoegde negatieve urine. De urinegevoelige panelleden werden bereid door ZIKV-positieve plasmamonsters aan de urine toe te voegen in de vermelde concentratie alvorens te mengen met UTM in een verhouding van 1:1 (bewerkte urine). Twee partijen reagentia en drie Panther-instrumenten werden gebruikt voor het testen van 30 replica's van elk kopieerniveau per reagenspartij voor een totaal van 60 replica's per niveau. De resultaten zijn samengevat in Tabel 3.

Tabel 3: Detectie van ZIKV in urine

Concentratie ^a (kopieën/ml)	% positief (95% CI)		
	Partij 1 (n=30)	Partij 2 (n=30)	Gecombineerd (n=60)
90	100 (89 - 100)	100 (89 - 100)	100 (94 - 100)
30	100 (89 - 100)	100 (89 - 100)	100 (94 - 100)
10	97 (84 - 100)	83 (66 - 92)	90 (80 - 95)
3	63 (45 - 78)	43 (27 - 60)	53 (41 - 65)
1	27 (14 - 45)	30 (17 - 48)	28 (18 - 40)
0,3	7 (2 - 22)	3 (0 - 16)	5 (2 - 14)
0,1	0 (0 - 11)	0 (0 - 11)	0 (0 - 6)
0	0 (0 - 11)	0 (0 - 11)	0 (0 - 6)

CI = betrouwbaarheidsinterval

^a Concentratie in urine voor de bewerking.

De 50% en 95% detectiewaarschijnlijkheid van ZIKV in urine werd bepaald door Probit-analyses gebruikmakend van gegevens uit de tests op analytische gevoeligheid. De detectiegrens voor ZIKV in de Aptima Zika Virus assay varieerde van 2,26 kopieën/ml tot 3,42 kopieën/ml bij de 50% detectiewaarschijnlijkheid en van 8,25 kopieën/ml tot 15,63 kopieën/ml bij de 95% detectiewaarschijnlijkheid (Tabel 4).

Tabel 4: Probit-analyse van ZIKV-detectie in urine^a

Reagenspartij	50% detectiegrens (95% betrouwbaarheidsgrenzen)	95% detectiegrens (95% betrouwbaarheidsgrenzen)
Partij 1	2,26 (1,67 - 3,00)	8,25 (5,89 - 13,53)
Partij 2	3,42 (2,42 - 4,64)	15,63 (10,70 - 27,30)
Gecombineerd	2,81 (2,23 - 3,47)	11,99 (9,17 - 17,04)

^a Concentratie in urine voor de bewerking.

Reproduceerbaarheid

Reproduceerbaarheid voor bloedmonsters

Reproduceerbaarheid van de Aptima Zika Virus assay op het Panther-systeem werd geëvalueerd door een ZIKV-panel te testen bestaande uit positieve panelleden met 100 kopieën/ml en 30 kopieën/ml, en een negatief panellid gemaakt van negatief plasma (Tabel 5). Positieve panelleden werden gecreëerd door ZIKV-positieve plasmamonsters aan negatief plasma toe te voegen. Het panel werd gedurende een periode van meerdere dagen getest door drie gebruikers met drie verschillende reagenspartijen en op drie Panther-

instrumenten. In totaal werden 27 runs gegenereerd met de Aptima Zika Virus assay. Elk panellid werd getest in 486 replica's in totaal. Het totale ongeldigheidspercentage was 0% (0/1458).

Reproduceerbaarheidsanalyses omvatten de evaluatie van procentuele overeenstemming en gemiddeld signaal tot cutoff (S/CO) verhoudingen voor panelleden, en evaluatie van standaardafwijking (SD) en procentuele coëfficiënt van variatie (%CV) van de S/CO-ratio's voor elk van de vijf variantiefactoren (Tabel 5). De gemiddelde S/CO-ratio's werden geanalyseerd voor de positieve panelleden en de gemiddelde interne-controle-S/CO-ratio's werden geanalyseerd voor het negatieve panellid. De procentuele overeenstemming tussen de assayresultaten en de echte status van elk panellid werd berekend met de analyt S/CO voor alle panelleden.

De totale procentuele overeenstemming van testresultaten was 100% voor positieve panelleden en 100% voor het negatieve panellid. Er werd geen correlatie van reactief percentage met de variantiefactoren getest in deze studie. Met betrekking tot signaalvariabiliteit, die binnen de run de grootste bijdrage leverde aan de totale variantie (gemeten door SD-waarden) in de Aptima Zika Virus assay.

Tabel 5: Reproduceerbaarheid van de Aptima Zika Virus Assay voor bloedmonsters

Panellid	N	#P	% A	Gemiddeld S/CO ^a	Tussen partijen		Tussen instrumenten		Tussen gebruikers		Tussen dagen		Binnen run		Totaal	
					SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV
Hoog (100 kopieën/ml)	486	486	100	33,22	0,02	0%	0,34	1%	0,17	1%	0,12	0%	1,33	4%	1,38	4%
Laag (30 kopieën/ml)	486	486	100	33,35	0,17	1%	0,27	1%	0,08	0%	0,08	0%	1,27	4%	1,31	4%
Negatief	486	0	100	1,94	0,02	1%	0,01	1%	0,01	0%	0,00	0%	0,05	2%	0,05	3%

N = aantal panelleden gecombineerd voor deze analyse; #P = aantal positieven; %A = percentage van overeenstemming; S/CO = signaal tot cutoff verhouding uitsluitend in reactieve replica's; SD = standaardafwijking; CV = coëfficiënt van variatie.

^a De gemiddelde S/CO voor de positieve panelleden (hoog en laag); de gemiddelde interne-controle-S/CO voor het negatieve panellid.

Reproduceerbaarheid voor urinemonsters

Reproduceerbaarheid van de Aptima Zika Virus assay op het Panther-systeem werd geëvalueerd door een ZIKV-panel te testen bestaande uit positieve panelleden met 100 kopieën/ml en 30 kopieën/ml, en een negatief panellid gemaakt van samengevoegde negatieve urine (Tabel 6). Positieve panelleden werden bereid door ZIKV-positieve plasmamonsters aan samengevoegde negatieve urine toe te voegen in de vermelde concentratie. Alle panelleden werden gemengd met UTM in een verhouding 1:1 om reproduceerbaarheidspanels van bewerkte urine te creëren. Het panel werd gedurende een periode van meerdere dagen getest door drie gebruikers met drie verschillende reagenspartijen en op drie Panther-instrumenten. In totaal werden 27 runs gegenereerd met de Aptima Zika Virus assay. Elk panellid werd getest in 486 replica's in totaal. Het totale ongeldigheidspercentage was 0% (0/1458).

Reproduceerbaarheidsanalyses omvatten de evaluatie van procentuele overeenstemming en gemiddeld signaal tot cutoff (S/CO) verhoudingen voor panelleden, en evaluatie van standaardafwijking (SD) en procentuele coëfficiënt van variatie (%CV) van de S/CO-ratio's voor elk van de vijf variantiefactoren (Tabel 6). De gemiddelde S/CO-ratio's werden geanalyseerd voor de positieve panelleden en de gemiddelde interne-controle-S/CO-ratio's werden geanalyseerd voor het negatieve panellid. De procentuele overeenstemming tussen de assayresultaten en de echte status van elk panellid werd berekend met de analyt S/CO voor alle panelleden.

De totale procentuele overeenstemming van testresultaten was 100% voor het hoge positieve panellid, 96,5% voor het lage positieve panellid en 100% voor het negatieve panellid. Er werd geen correlatie van reactief percentage met de variantiefactoren getest in deze studie. Met betrekking tot signaalvariabiliteit, die binnen de run de grootste bijdrage leverde aan de totale variantie (gemeten door SD-waarden) in de Aptima Zika Virus assay.

Tabel 6: Reproduceerbaarheid van de Aptima Zika Virus Assay voor urinemonsters

Panellid ^a	N	#P	% A	Gemiddeld S/CO ^b	Tussen partijen		Tussen instrumenten		Tussen gebruikers		Tussen dagen		Binnen run		Totaal	
					SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV
Hoog (100 kopieën/ml)	486	486	100	34,36	0,09	0%	0,25	1%	0,08	0%	0,07	0%	1,31	4%	1,34	4%
Laag (30 kopieën/ml)	486	469	96,5	32,02	1,01	3%	0,30	1%	0,46	1%	1,46	5%	5,21	16%	5,53	17%
Negatief	486	0	100	1,99	0,02	1%	0,01	1%	0,02	1%	0,01	0%	0,04	2%	0,05	2%

N = aantal panelleden gecombineerd voor deze analyse; #P = aantal positieven; %A = percentage van overeenstemming; S/CO = signaal tot cutoff verhouding uitsluitend in reactieve replica's; SD = standaardafwijking; CV = coëfficiënt van variatie.

^a Concentratie in urine voor de bewerking.

^b De gemiddelde S/CO voor de positieve panelleden (hoog en laag); de gemiddelde interne-controle-S/CO voor het negatieve panellid.

Interferentie

Interfererende substanties voor bloedmonsters

Het potentieel voor interferentie van endogene substanties werd geëvalueerd door monsters te testen van patiënten met auto-immuun- en andere ziekten. Tien plasmamonsters van elke groep patiënten met de volgende auto-immuun- en andere aandoeningen werden geëvalueerd: icterisch, lipemisch, hemolytisch, antinucleaire antistof, multiple myeloma, systemische lupus erythematosus en reumatoïde factor. Elk monster werd in twee delen gesplitst. Eén deel was verrijkt met ZIKV-positief plasma in een concentratie van 18 kopieën/ml. De verrijkte en niet-verrijkte delen werden getest met de Aptima Zika Virus assay. Alle niet-verrijkte monsters waren negatief. Alle verrijkte monsters waren positief behalve één verrijkt deel van één patiënt met systemische lupus erythematosus. Een vers deel van het monster werd verrijkt en opnieuw getest. Het resultaat van de test was positief.

Het potentieel voor interferentie van endogene substanties werd verder geëvalueerd door plasmaverrijking te testen voor de volgende substanties: albumine (60.000 mg/l), hemoglobine (2.000 mg/l), bilirubine (200 mg/l) en lipiden (30.000 mg/l). Er werd geen interferentie vastgesteld bij het evalueren van de specificiteit en de gevoeligheid.

Om de interferentie van antistollingsmiddelen en afnamehulpmiddel te evalueren, werd de doeltreffendheid van serum- en plasmamonsters in de Aptima Zika Virus assay vergeleken. Bloed van 10 normale donoren werd afgenomen gebruik makend van de volgende antistollingsmiddelen en buistypes: 1) dikalium ethyleendiaminetetra-azijnzuur (K2 EDTA), 2) trikalium Ethyleendiaminetetra-azijnzuur (K3 EDTA), 3) zuur-citraat-dextrose adenine (ACD-A), 4) natriumcitraat (NAC), 5) plasmabereidingsbuisjes (PPT), 6) serumscheidingsbuisje (SST) en 7) serumbuisje (Serum). Voor elk van de 10 donoren werd bloed afgenomen met elk van de zeven buistypes. Elk donormonster werd in twee delen gesplitst. Eén deel was verrijkt met ZIKV-positief plasma aan 18 kopieën/ml. Zowel de verrijkte als de niet-verrijkte delen werden getest met de Aptima Zika Virus assay.

Voor de niet-verrijkte delen waren alle 70 monsters negatief in de Aptima Zika Virus assay. De gemiddelde IC S/CO verhoudingen lagen tussen 1,83 en 1,90 met %CV's van 2% tot 3%

voor elk buistype (Tabel 7). Voor de verrijkte delen waren alle 70 monsters positief in de Aptima Zika Virus assay. De gemiddelde analyt S/CO-verhouding voor elk van de zeven buistypes lagen tussen 31,90 en 34,20 met %CV's van 3% tot 4% (Tabel 8). Er werd geen interferentie waargenomen van antistollingsmiddelen of afnamehulpmiddel.

Tabel 7: Aptima Zika Virus Assay resultaten voor niet-verrijkt plasma en serum afgenomen in verschillende buistypes

Afnamebuisje	N	#P	%P	IC S/CO			Analyt S/CO		
				Gemiddelde	SD	CV	Gemiddelde	SD	CV
K2EDTA	10	0	0%	1,89	0,06	3%	0,00	0,01	N.v.t.
K3EDTA	10	0	0%	1,87	0,04	2%	0,00	0,00	N.v.t.
ACD-A	10	0	0%	1,87	0,04	2%	0,00	0,00	N.v.t.
PPT	10	0	0%	1,83	0,04	2%	0,00	0,00	N.v.t.
NAC	10	0	0%	1,84	0,06	3%	0,00	0,00	N.v.t.
Serum	10	0	0%	1,85	0,06	3%	0,00	0,00	N.v.t.
SST	10	0	0%	1,90	0,05	3%	0,00	0,00	N.v.t.

N = aantal monsters; #P = aantal positieven; %P = percentage positieven; IC = interne controle;
S/CO = signaal tot cutoff verhouding; SD = standaardafwijking; CV = coëfficiënt van variatie;
N/A = niet beschikbaar.

Tabel 8: Aptima Zika Virus Assay resultaten voor verrijkt plasma en serum afgenomen in verschillende buistypes

Afnamebuisje	N	#P	%P	IC S/CO			Analyt S/CO		
				Gemiddelde	SD	CV	Gemiddelde	SD	CV
K2EDTA	10	10	100%	2,05	0,45	22%	32,77	1,23	4%
K3EDTA	10	10	100%	1,99	0,39	20%	32,63	0,82	3%
ACD-A	10	10	100%	1,88	0,44	23%	32,02	1,32	4%
PPT	10	10	100%	1,92	0,25	13%	32,32	1,24	4%
NAC	10	10	100%	1,91	0,50	26%	31,90	1,31	4%
Serum	10	10	100%	1,78	0,31	18%	34,20	1,34	4%
SST	10	10	100%	1,77	0,51	29%	32,52	1,32	4%

N = aantal monsters; #P = aantal positieven; %P = percentage positieven; IC = interne controle;
S/CO = signaal tot cutoff verhouding; SD = standaardafwijking; CV = coëfficiënt van variatie;
N/A = niet beschikbaar.

Interfererende substanties voor urinemonsters

Om de effecten van urinemetaboliëten te testen werd KOVA-Trol I High Abnormal met Urobilinogen-urinalysecontrole verdund tot urinetransportmedium (UTM) in plaats van urine. Dit urinalysecontrole materiaal op basis van menselijke urine bevat mogelijke interferenten zoals proteïne (albumine), glucose, ketonen, bilirubine, rode bloedcellen, nitriet, urobilinogen en leukocyten. Daarnaast werd urine die volbloed bevatte getest bij een concentratie van 5% volume/volume. Er werd interferentie vastgesteld bij de geen enkele van de substanties wanneer ZIKV werd toegevoegd aan een finale concentratie van 18 kopieën/ml of niet verrijkt met ZIKV, en getest in de Aptima Zika Virus assay.

Kruisreactiviteit

Kruisreactiviteit voor bloedmonsters

Andere via bloed overdraagbare pathogenen voor bloedmonsters werden getest op kruisreactiviteit en interferentie. Kruisreactiviteit van de Aptima Zika Virus assay werd geëvalueerd door de klinische monsters te testen van 10 patiënten met elk van de volgende virale infecties: denguevirus, hepatitis A-virus (HAV), hepatitis B-virus (HBV), hepatitis C-virus (HCV), humaan immunodeficiëntievirus 1 en 2 (HIV-1/2), parvovirus B19 en het westnijlvirus (WNV). Monsters van 10 personen die het HBV-vaccin hadden gekregen, werden ook getest. De monsters werden verkregen bij een commerciële bron en gekarakteriseerd door handelaars die gevalideerde methoden gebruiken. Daarnaast werden samengevoegd negatief plasma verrijkt met het hepatitis E-virus (HEV) aan 1×10^5 kopieën/ml en samengevoegd negatief plasma verrijkt met het chikungunya-virus aan 1×10^5 U/ml geëvalueerd. Elk beschreven monster werd in twee delen gesplitst. Eén deel werd gebruikt voor het evalueren van de kruisreactiviteit. Het andere deel werd verrijkt met ZIKV-positief plasma en gebruikt als kunstmatig monster in de klinische evaluatie. Voor kruisreactiviteit werden delen van donormonsters met natuurlijk voorkomende infecties of die het HBV-vaccin hadden gekregen één keer getest. De monsters die waren verrijkt met HEV en chikungunya werden getest in replica's van 10.

Aptima Zika Virus assayresultaten waren negatief voor alle monsters. Er werd geen kruisreactiviteit vastgesteld in de monsters van patiënten die besmet waren met andere via het bloed overgedragen pathogenen of monsters van personen die HBV-vaccins hadden ontvangen of in monsters verrijkt met een virus. Het potentieel voor interferentie werd getest met een deel van elk monster, verrijkt met ZIKV aan 18 kopieën/ml en alle resultaten waren positief. Er werd geen kruisreactiviteit of interferentie vastgesteld bij de monsters die andere via bloed overdraagbare pathogenen bevatten.

Bijkomende micro-organismen werden getest op kruisreactiviteit en interferentie. Negatief plasma werd gebruikt voor het voorbereiden van de monsters die waren verrijkt tot 1×10^6 kolonievormende eenheden (CFU/ml) of inclusievormende eenheid per ml (IFU/ml) met elk van de volgende micro-organismen: *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Propionibacterium acnes*, *Candida albicans*, *Neisseria gonorrhoeae* of *Chlamydia trachomatis*. Kruisreactiviteit werd getest met ZIKV niet-verrijkte monsters en alle resultaten waren negatief. Het potentieel voor microbiële interferentie werd getest met een deel van elk monster, verrijkt met ZIKV aan 18 kopieën/ml en alle resultaten waren positief. Er werd geen kruisreactiviteit of interferentie vastgesteld bij de monsters die bacteriën of schimmels bevatten.

Kruisreactiviteit voor urinemonsters

De kruisreactiviteit en interferentie van micro-organismen in urine werden getest op Aptima Zika Virus assay. Samengevoegde negatieve urine werd gebruikt voor het voorbereiden van de monsters die waren verrijkt tot 1×10^6 kolonievormende eenheden (CFU/ml) of inclusievormende eenheid per ml (IFU/ml) met elk van de volgende micro-organismen: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *Chlamydia trachomatis* (5×10^5 IFU/ml), *Trichomonas vaginalis*, *Mycoplasma genitalium*, *Gardnerella vaginalis*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus jensenii*, or *Proteus mirabilis* (1×10^6 rRNA/ml). Kruisreactiviteit werd getest met ZIKV niet-verrijkte monsters en alle resultaten waren negatief. Het potentieel voor microbiële interferentie werd getest met een deel van elk monster, verrijkt met ZIKV aan 18 kopieën/ml en alle resultaten waren positief. Er werd geen kruisreactiviteit of interferentie vastgesteld bij de monsters die deze micro-organismen bevatten.

Klinische evaluatie

Klinische evaluatie voor bloedmonsters

Zesentwintig (26) plasmamonsters werden verkregen bij drie commerciële bronnen. De 26 monsters werden door de handelaren als positief voor ZIKV bevestigd gebaseerd op de resultaten van de CDC TrioPlex Assay (twee handelaren) of een gevalideerde real-time RT-PCR-test. De monsters werden opnieuw getest met een andere gevalideerde real-time RT-PCR-test en 24 of 26 monsters werden bevestigd als positief. De twee monsters die negatief waren bij het opnieuw testen worden als negatief beschouwd voor het referentieresultaat in de onderstaande analyses. De Aptima Zika Virus assay was positief voor al de 26 klinische monsters. Tabel 9 bevat de resultaten voor de 24 referentie positieve monsters.

Tabel 9: Aptima Zika Virus Assay resultaten van 24 ZIKV-positieve klinische monsters

Monster-ID	Land van herkomst	Referentie Ct/Cp	Aptima Resultaat	Aptima S/CO
08847156	Colombia	34,14	Positief	30,5
08847163	Colombia	34,90	Positief	31,3
08847229	Colombia	31,43	Positief	31,3
08847260	Colombia	32,75	Positief	32,5
08847264	Colombia	36,32	Positief	32,8
08847284	Colombia	33,14	Positief	32,5
08847325	Colombia	36,22	Positief	31,2
08847716	Colombia	31,76	Positief	29,8
1043-TDS-0112	Dominicaanse Republiek	31,80	Positief	30,9
1043-TDS-0114	Dominicaanse Republiek	35,20	Positief	31,8
1043-TDS-0115	Dominicaanse Republiek	24,74	Positief	32,3
1043-TDS-0119	Dominicaanse Republiek	30,69	Positief	32,1
1043-TDS-0122	Dominicaanse Republiek	35,05	Positief	30,6
1043-TDS-0129	Dominicaanse Republiek	37,24	Positief	31,8
1043-TDS-0130	Dominicaanse Republiek	34,23	Positief	33,4
1043-TDS-0131	Dominicaanse Republiek	29,66	Positief	30,3
1043-TDS-0134	Dominicaanse Republiek	37,30	Positief	31,0
1043-TDS-0135	Dominicaanse Republiek	34,07	Positief	32,1
1043-TDS-0137	Dominicaanse Republiek	29,54	Positief	31,7
1043-TDS-0141	Dominicaanse Republiek	30,71	Positief	32,0
1043-TDS-0143	Dominicaanse Republiek	28,73	Positief	29,6
1043-TDS-0144	Dominicaanse Republiek	34,19	Positief	29,8
1043023924	Colombia	34,69	Positief	30,3
8798593	Colombia	22,75	Positief	31,7

In totaal werden 90 kunstmatige monsters bereid door ZIKV-positief plasma toe te voegen aan individuele plasmamonsters in een concentratie van 18 kopieën/ml. De 90 monsters bevatten 10 individuele plasmamonsters van patiënten die positief zijn voor parvovirus B19, dengue, HAV, HBV, HCV, HIV of WNV; 10 plasmamonsters van een HBV-gevaccineerde donor; en 10 plasmamonsters van normale donoren.

In totaal werden 72 individuele plasmamonsters gebruikt als ZIKV-negatieve monsters. Zeventig (70) monsters bevatten elk 10 individuele plasmamonsters die positief zijn voor antinucleaire antistoffen, hemolytisch (verhoogd hemoglobine), icterisch (verhoogde bilirubine), lipemisch (verhoogde lipiden), multiple myeloma, reumatoïde artritis of systemische lupus erythematosus. Twee monsters positief bij initiële referentietest maar negatief bij herhaalde test zijn ook inbegrepen. Deze twee monsters waren positief bij de Aptima Zika Virus assay. De resultaten van de klinische evaluatie zijn samengevat in Tabel 10.

Tabel 10: Resultaten van de klinische evaluatie voor de Aptima Zika Virus Assay

Monstercategorie	Aptima Zika Virus Assay		
	Aantal getest	ZIKV-positief	ZIKV-negatief
Natuurlijke Zika-positieve monsters	24	24 / 24	0 / 24
Kunstmatische Zika-positieve klinische monsters (3 x LoD)	90 ^a	90 / 90	0 / 90
Verwachte Zika-negatieve klinische monsters	72 ^b	2 / 72	70 / 72
Positieve procentuele overeenstemming	100% (114 / 114) 95% CI: 96,7% tot 100%		
Negatieve procentuele overeenstemming	97,2% (70 / 72) ^b 95% CI: 90,4 tot 99,2%		

CI = betrouwbaarheidsinterval

^a Bevat de ZIKV-verrijkte delen van de 90 plasmamonsters geëvalueerd in de interferentiestudies.

^b Bevat twee patiëntenmonsters die positief waren bij initiële referentietest en negatief bij herhaalde test met een alternatieve PCR-methode en werd beschouwd als fout-positief.

Klinische evaluatie voor urinemonsters

Tien (10) gepaarde monsters werden verkregen (plasma/serum/urine kwam overeen met de monsters afgenomen bij 10 symptomatische patiënten) van een commerciële bron. De 10 symptomatische patiënten werden door de handelaar als positief voor ZIKV bevestigd gebaseerd op de resultaten van de serummonsters getest met een gevalideerde real-time RT-PCR-test. De urinemonsters werden verwerkt voordat ze werden getest. De tien monsters bewerkte urine werden getest samen met de plasma- en serummonsters van elk van de 10 patiënten door middel van de Aptima Zika Virus assay. Alle monsters waren positief bij de initiële test. Tabel 11 bevat de resultaten voor de 10 gematchte monsters.

Tabel 11: Aptima Zika Virus Assay resultaten van 10 gematchte ZIKV-positieve klinische monsters

Monster-ID	Land van herkomst	Referentie Cp (serum)	Plasma		Serum		Bewerkte urine	
			Resultaat	S/CO	Resultaat	S/CO	Resultaat	S/CO
1043-TDS-0159	Dominicaanse Republiek	36,31	Positief	33,1	Positief	31,7	Positief	32,9
1043-TDS-0163	Dominicaanse Republiek	32,54	Positief	33,4	Positief	33,4	Positief	17,0
1043-TDS-0165	Dominicaanse Republiek	40,38	Positief	32,8	Positief	32,6	Positief	33,7
1043-TDS-0173	Dominicaanse Republiek	33,15	Positief	32,6	Positief	32,8	Positief	34,1
1043-TDS-0206	Dominicaanse Republiek	36,62	Positief	31,6	Positief	30,8	Positief	32,4
1043-TDS-0221	Dominicaanse Republiek	38,11	Positief	17,8	Positief	33,5	Positief	32,8
1043-TDS-0223	Dominicaanse Republiek	32,50	Positief	34,0	Positief	33,4	Positief	31,9

Tabel 11: Aptima Zika Virus Assay resultaten van 10 gematchte ZIKV-positieve klinische monsters (vervolg)

Monster-ID	Land van herkomst	Referentie Cp (serum)	Plasma		Serum		Bewerkte urine	
			Resultaat	S/CO	Resultaat	S/CO	Resultaat	S/CO
1043-TDS-0224	Dominicaanse Republiek	31,81	Positief	33,8	Positief	31,6	Positief	33,6
1043-TDS-0230	Dominicaanse Republiek	30,51	Positief	33,8	Positief	33,7	Positief	34,7
1043-TDS-0231	Dominicaanse Republiek	35,63	Positief	31,6	Positief	33,8	Positief	34,4

In totaal werden 99 kunstmatige urinemonsters bereid door ZIKV-positief plasma toe te voegen aan individuele urinemonsters: 33 monsters werden verrijkt met 20 kopieën/ml, 33 monsters werden verrijkt met 36 kopieën/ml en 33 monsters werden verrijkt met 100 kopieën/ml. Elk verrijkt urinemonster werd bewerkt voordat de test met de Aptima Zika Virus assay werd uitgevoerd. Alle kunstmatige urinemonsters testten positief.

In totaal werden 123 individuele urinemonsters gebruikt als ZIKV-RNA-negatieve monsters. Daarvan werden 87 urinemonsters afgenomen bij een normale populatie: 36 individuele vrouwelijke urinemonsters werden afgenomen bij een patiëntenpopulatie (7 patiënten met borstkanker, 6 patiënten met chronische nieraandoening, 6 patiënten met systemische lupus erythematosus, 4 patiënten met longontsteking, 8 patiënten met diabetes en 5 patiënten met infectie van de urinewegen). Elk urinemonster werd bewerkt voordat de test met de Aptima Zika Virus assay werd uitgevoerd. Alle monsters testten negatief. De resultaten van de klinische evaluatie zijn samengevat in Tabel 12.

Tabel 12: Resultaten klinische evaluatie voor bewerkte urinemonsters

Monstercategorie	Aptima Zika Virus Assay		
	Aantal getest	ZIKV-positief	ZIKV-negatief
Natuurlijke Zika-positieve monsters	10	10/10	0/10
Kunstmatige Zika-positieve klinische monsters	99	99/99	0/99
Verwachte Zika-negatieve klinische monsters	123	0/123	123/123
Positieve procentuele overeenstemming		100% (109/109) 95% CI: 96,6% tot 100%	
Negatieve procentuele overeenstemming		100% (123/123) 95% CI: 97,0% tot 100%	

CI = betrouwbaarheidsinterval

Literatuur

1. **International Committee on Taxonomy of Viruses.** <http://www.ictvonline.org/>
2. **Musso D, Gubler DJ.** 2016. Zika virus. Clin Microbiol Rev. Jul;29(3):487-524.
3. **Kitchen SF, Haddow AJ.** 1952. Zika virus. I. Isolations and serological specificity. Trans R Soc Trop Med Hyg. 46:509-520.
4. **Duffy MR, Chen TH, Hancock WT, Powers AM, Kool JL, Lanciotti RS, Pretrick M, Marfel M, Holzbauer S, Dubray C, Guillaumot L, Griggs A, Bel M, Lambert AJ, Laven J, Kosoy O, Panella A, Biggerstaff BJ, Fischer M, Hayes EB.** 2009. Zika virus outbreak on Yap Island, Federated States of Micronesia. N Engl J Med 360:2536-2543. doi: 10.1056/NEJMoa0805715.
5. **Cao-Lormeau VM, Roche C, Teissier A, Robin E, Berry AL, Mallet HP, Sall AA, Musso D.** 2014. Zika virus, French Polynesia, South Pacific, 2013. Emerg Infect Dis 20:1085-1086.
6. **Campos GS, Bandeira AC, Sardi SI.** 2015. Zika virus outbreak, Bahia, Brazil. Emerg Infect Dis 21:1885-1886. doi: 10.3201/eid2110.150847.
7. **Zanluca C, Melo VC, Mosimann AL, Santos GI, Santos CN, Luz K.** 2015. First report of autochthonous transmission of Zika virus in Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz 110:569-572.
8. **World Health Organization.** 2016. Situation report: Zika virus, microcephaly, Guillain-Barré syndrome. 8 December 2016.

9. **Cao-Lormeau V-M et al.** Guillain–Barré syndrome outbreak associated with Zika virus infection in French Polynesia: a case–control study. *Lancet* [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)00562-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(16)00562-6).
10. **Rasmussen SA, Jamieson DJ, Honein MA, Petersen LR.** 2016. Zika virus and birth defects — reviewing the evidence for causality. *N Engl J Med.* 2016 May 19;374(20):1981-1987. doi: 10.1056/NEJMs1604338. PubMed PMID: 27074377.
11. **Musso D, Roche C, Robin E, Nhan T, Teissier A, Cao-Lormeau VM.** 2015. Potential sexual transmission of Zika virus. *Emerg Infect Dis* 21: 359-361.
12. **U.S. Centers for Disease Control and Prevention.** <http://www.cdc.gov/zika/transmission/blood-transfusion.html>
13. **Kacian DL, Fultz TJ** 1995. Nucleic acid sequence amplification methods. U.S. Patent 5,399,491.
14. **Arnold LJ, Hammond PW, Wiese WA, Nelson NC.** 1989. Assay formats involving acridinium-ester-labeled DNA probes. *Clin Chem* 35:1588-1594.
15. **Nelson NC, Cheikh A, Matsuda E, Becker M.** 1996. Simultaneous detection of multiple nucleic acid targets in a homogeneous format. *Biochem.* 35:8429-8438.
16. **Clinical and Laboratory Standards Institute.** 2005. *Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods; Approved Guideline.* CLSI Document MM13-A. Wayne, PA.
17. **29 CFR Part 1910.1030.** *Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens*; current version.
18. **Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health.** *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL)*; current version.
19. **Clinical and Laboratory Standards Institute.** 2002. *Clinical Laboratory Waste Management.* CLSI Document GP5-A2. Villanova, PA.
20. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2012. *Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline.* 2nd ed. CLSI Document EP17-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.



Emergo Europe
Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague
The Netherlands

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

Contactgegevens voor de VS en internationaal:

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.

Hologic, Aptima, Panther, SB100 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.

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

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

© 2017 Hologic, Inc. Alle rechten voorbehouden.

AW-15988-1501 Rev. 002
2017-02