

## Aptima™ HIV-1 Quant Dx Assay

Til *in vitro* diagnostisk brug.

Kun til eksport fra USA.

<b>Generel information</b> .....	<b>2</b>
Tilsligtet anvendelse .....	2
Resumé og forklaring af testen .....	2
Funktionsprincip .....	3
Advarsler og forholdsregler .....	4
Krav til opbevaring og håndtering af reagenser .....	7
Indsamling og opbevaring af prøver .....	8
Prøver på Panther System .....	11
Prøvetransport .....	11
<b>Panther System</b> .....	<b>12</b>
Vedlagte reagenser og materialer .....	12
Nødvendige materialer, der skal anskaffes separat .....	14
Valgfri materialer .....	15
Testprocedure til Panther System .....	15
Bemærkninger til fremgangsmåden .....	19
<b>Kvalitetskontrol</b> .....	<b>20</b>
Kalibrering af assayet .....	20
Negative og positive kontroller .....	20
Intern kalibrator/intern kontrol .....	20
<b>Fortolkning af resultater</b> .....	<b>21</b>
<b>Begrænsninger</b> .....	<b>22</b>
<b>Præstation</b> .....	<b>23</b>
Detektionsgrænse (LOD) ved brug af den 3. HIV-1 internationale standard fra WHO .....	23
Detektionsgrænse på tværs af HIV-1 undertyper og grupper .....	24
Lineært område .....	25
Linearitet på tværs af HIV-1 undertyper og grupper .....	26
Den nedre kvantiteringsgrænse ved brug af den 3. HIV-1 internationale standard fra WHO .....	27
Verificering af LLOQ på tværs af HIV-1 undertyper og grupper .....	28
Præcision .....	29
Potentielt interfererende stoffer .....	30
Specificitet .....	32
Analytisk specificitet .....	33
Repeterbarhed af kliniske prøver .....	34
Fortynding af prøve ved brug af prøvfortynder .....	35
Korrelation mellem metoder .....	36
Diagnostisk overensstemmelse .....	36
Overførsel .....	36
Serokonversionspanel .....	37
Ækvivalensundersøgelse af serum / plasma .....	38
<b>Bibliografi</b> .....	<b>39</b>

## Generel information

### Tilsigtet anvendelse

Aptima HIV-1 Quant Dx Assay er en *in vitro* nukleinsyreamplifikationstest til detektion og kvantitering af human immundefekt virus type 1 (HIV-1) RNA-grupper M, N og O på det helautomatiske Panther™-system. Det er beregnet til brug som en hjælp ved diagnosticering af HIV-1 infektion og i forbindelse med den kliniske håndtering af patienter smittet med HIV-1.

Aptima HIV-1 Quant Dx Assay kan bruges som en hjælp til diagnosticering af HIV-1 infektion, herunder akut eller primær infektion. Tilstedeværelsen af HIV-1 RNA i plasma eller serum fra patienter uden antistoffer mod HIV-1 er tegn på akut eller primær HIV-1 infektion. Aptima HIV-1 Quant Dx Assay kan bruges som en supplerende test til prøver, som har gentagede reaktive resultater med godkendte HIV-immunanalyser. Hvis prøven er reaktiv i Aptima HIV-1 Quant Dx Assay, bekræfter dette en HIV-1 infektion.

Aptima HIV-1 Quant Dx Assay kan endvidere bruges i forbindelse med en klinisk præsentation samt andre markører for sygdomsprogner hos personer smittet med HIV-1. Aptima HIV-1 Quant Dx Assay kan bruges som en hjælp ved monitorering af effekten af antiretroviral behandling ved at måle forandringer i koncentrationen af HIV-1 RNA i plasma.

Når Aptima HIV-1 Quant Dx Assay anvendes ved diagnosticering af HIV-1 infektion, bestemmes præstationen for kvalitative resultater med både plasma- og serumprøver.\* Ved brug som en hjælp ved monitorering af effekten af antiretroviral behandling bestemmes præstationen for kvantitative resultater kun med plasmaprøver. Serumprøver må ikke bruges til kvantitative resultater.

Assayet er ikke beregnet til brug ved screening af blod- eller plasmadonorere.

### Resumé og forklaring af testen

Epidemiologiske undersøgelser har identificeret human immundefekt virus type 1 (HIV-1) som det ætiologiske stof, der forårsager erhvervet immundefekt syndrom (AIDS) (1-7). HIV kan overføres ved seksuel kontakt, udsættelse for inficeret blod eller blodprodukter, eller fra en HIV-positiv moder til fosteret (8). Inden for 3 til 6 uger fra udsættelsen for HIV udvikler smittede personer generelt et kortvarigt, akut syndrom, der er kendetegnet ved influenzaagtige symptomer, og som forbindes med høje niveauer af viræmi i det perifere blod (9-12). Hos hovedparten af smittede personer efterfølges denne tidlige fase af et HIV-specifikt immunrespons og et fald i plasmaviræmi, hyppigst inden for 4 til 6 uger fra starten af symptomerne (13-14). Efter serokonversion starter smittede personer typisk en klinisk stabil og asymptomatisk fase, der kan vare i adskillige år (15-17). Den asymptomatiske periode er kendetegnet ved vedvarende plasmaviræmi på lavt niveau (18) samt en gradvis udtømmning af CD4+ T-lymfocytter. Denne udtømmning fører til svær immundefektsygdom, adskillige opportunistiske infektioner, maligniteter og død (19). På trods af at virusniveauerne i det perifere blod er forholdsvis ringe i den asymptomatiske infektionsfase, er der tegn på, at replikation og clearance er dynamiske processer, under hvilke høje rater af virusproduktion og infektion med CD4+ celler opvejes af tilsvarende høje rater virusclearance, død af inficerede celler og genoprettelse af CD4+ celler, hvilket resulterer i forholdsvis stabile niveauer både af plasmaviræmi og CD4+ celler (20-22).

Kvantitative målinger af HIV i perifert blod har vist, at højere virusniveauer kan være forbundet med en øget risiko for klinisk progression af HIV-associeret sygdom og vist, at reduktioner i plasmavirusniveauer kan være forbundet med en nedsat risiko for klinisk progression (23-25). Virusniveauer i perifert blod kan kvantiteres ved at måle HIV p24 antigen i serum, ved kvantitativ dyrkning af HIV fra plasma, eller ved direkte måling af viralt RNA i plasma vha. nukleinsyreamplifikation eller signalamplifikationsteknologier (26-30).

Nuværende detektion af HIV-1 infektion er primært baseret på serologisk testning for antistoffer og/eller p24 antigen med en immunanalyse. Det amerikanske Centers for Disease Control anbefaler brugen af et antistof samt RNA-test til at diagnosticere akutte HIV-infektioner (31). Selv om sensitiviteten af HIV-1 antistof og p24 antigen til detektion er blevet forbedret, er der stadig en vinduesperiode mellem tidspunktet for infektionen og tidspunktet for detektionen med serologiske markører. Denne vinduesperiode er afhængig af sensitiviteten af den anvendte serologiske test. Én vurdering (32) skønner, at fjerdegenerations p24 antigen-/antistofassays muligvis kan detektere infektion, hvis HIV-1 RNA koncentrationen når 14.000 kopier/ml. Detektionsgrænsen for Aptima HIV-1 Quant Dx Assay ligger betydeligt lavere end 14.000 kopier/ml og kan muligvis detektere tilstedeværelsen af HIV-1 før HIV-immunanalyserne.

Molekylære teknikker som f.eks. transkriptionsmedieret amplifikation (Transcription mediated amplification) (TMA) er blevet anvendt i stort omfang til at amplificere nukleinsyrer (31). TMA anvender specifik target capture og isotermisk amplifikation til at detektere nukleinsyrer i flere infektiøse patogener (32).

Aptima HIV-1 Quant Dx assayet benytter via TMA flere lange primere, som er målrettet mod flere regioner af HIV-1-genomet for at kompensere for den høje mutationsfrekvens og flere potentielle mutationer i target-regionen.

## Funktionsprincip

Aptima HIV-1 Quant Dx Assay omfatter tre primære trin, som alle finder sted i et enkelt rør på Panther System: Target capture, target amplifikation med transkriptionsmedieret amplifikation (Transcription-Mediated Amplification, TMA) og detektion af amplifikationsprodukterne (amplikon) med fluorescensmærkede prober (fakler).

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


Target amplifikation sker via TMA, som er en transkriptionsmedieret nukleinsyreamplifikationsmetode, der benytter to enzymer, MMLV (Moloney murint leukæmivirus) revers transkriptase og T7 RNA polymerase. Revers transkriptase bruges til at danne en DNA-kopi (indeholdende en promotersekvens for T7 RNA polymerase) af targetsekvensen. T7 RNA-polymerase producerer flere kopier af RNA-amplikon fra DNA-kopiskabelonen. Aptima HIV-1 Quant Dx assay anvender TMA-metoden til at amplificere to HIV-1 RNA-regioner (pol og LTR). Amplifikation af disse specifikke regioner opnås ved hjælp af specifikke primere udviklet til amplifikation af HIV-1 gruppe M, N og O. Primernes design og dobbelt-target-metoden sikrer nøjagtig detektion og kvantitering af HIV-1.

Detektion opnås ved brug af enkeltstrengede nukleinsyrefakler, som er til stede under amplifikation af targetet og som hybridiserer specifikt til ampliconet i realtid. Hver fakkel har en fluorofor og en quencher. Når faklen ikke er hybridiseret til ampliconet, ligger quencheren tæt på fluoroforen og undertrykker fluorescensen. Når faklen bindes til ampliconet, bevæger quencheren sig længere væk fra fluoroforen, og den udsender et signal ved en bestemt bølgelængde, når den aktiveres af en lyskilde. Samtidig med at flere fakler hybridiserer til ampliconet, dannes der et højere fluorescenssignal. Den tid det tager fluorescenssignalet at nå en bestemt tærskel er proportional med den indledende HIV-1 koncentration. Hver reaktion har en intern kalibrator/intern kontrol (internal control, IC), der kontrollerer variationer i prøvebehandling, amplifikation og detektion. En prøves koncentration bestemmes af Panther System softwaren ved at sammenligne HIV-1 og IC-signalerne for hver reaktion med kalibreringsoplysningerne.

## Advarsler og forholdsregler

- A. Til *in vitro* diagnostisk brug.
- B. For at reducere risikoen for ugyldige resultater skal hele indlægssedlen og *Panther System Operator's Manual* (Brugervejledningen til Panther System) læses omhyggeligt igennem, før assayet anvendes.

## Vedrørende laboratoriet

-  C. **FORSIGTIG:** Kontrollerne til dette assay indeholder humant plasma. Plasmaet er negativt for hepatitis B overfladeantigen (HBsAg), antistoffer mod HCV, antistoffer mod HIV-1 og HIV-2 og HIV antigen ved testning med procedurer godkendt af USA's Food and Drug Administration. Plasmaet er endvidere ikke-reaktivt over for HCV RNA og HIV-1 RNA ved testning med godkendte nukleinsyretests, der benytter poolede prøver. Alle materialer, der stammer fra humant blod, skal anses for at være potentielt smittefarligt og skal håndteres i overensstemmelse med generelle forholdsregler (35-37).
- D. Kun personale med tilstrækkelig uddannelse i brugen af Aptima HIV-1 Quant Dx Assay og i håndtering af potentielt smittefarlige materialer må udføre denne procedure. Hvis der forekommer spild, skal området straks desinficeres ifølge gældende procedurer på lokaliteten.
- E. Brug kun medfølgende eller specificerede laboratorieartikler til engangsbrug.
- F. Rutinemæssige laboratorieforholdsregler skal følges. Der må ikke pipetteres med munden. Der må hverken spises, drikkes eller ryges i arbejdsområdet. Brug engangshandsker uden puder, beskyttelsesbriller og laboratoriekittel ved håndtering af prøver og kitreagenser. Vask hænderne grundigt efter håndtering af prøver og kitreagenser.
- G. Arbejdsflader, pipetter og andet udstyr skal regelmæssigt dekontamineres med 2,5 % til 3,5 % (0,35 M til 0,5 M) natriumhypochloritopløsning.
- H. Alle materialer, der har været i kontakt med prøver og reagenser, skal bortskaffes i overensstemmelse med lokale og offentlige vedtægter (35-38). Rengør og desinficer alle arbejdsoverflader grundigt.
- I. Kontrollerne indeholder natriumazid som konserveringsmiddel. Brug ikke metalrør til overførsel af reagens. Hvis opløsninger, der indeholder natriumazidforbindelser, skal bortskaffes i en vvs-installation, skal de fortyndes og skylles med rigelige mængder vand fra hanen. Disse forholdsregler anbefales for at undgå ophobning af aflejringer i metalrør, hvor der kan opstå eksplosionsfarlige forhold.

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

### Vedrørende prøver

- K. Prøver kan være infektiøse. Overhold de generelle forholdsregler (35-37) ved udførelse af assayet. Korrekte håndterings- og bortskaffelsesmetoder bør fastlægges i overensstemmelse med lokale vedtægter (38). Kun personale med tilstrækkelig uddannelse i brugen af Aptima HIV-1 Quant Dx Assay og i håndtering af potentielt smittefarlige materialer må udføre denne procedure.
- L. *Kun plasma med antikoagulanter EDTA og ACD er blevet vurderet.*
- M. Under forsendelse af prøver skal korrekte opbevaringsforhold bevares for at sikre prøvens integritet. Prøvestabilitet under forsendelsesforhold, der er anderledes end de anbefalede forhold, er ikke blevet vurderet.
- N. Undgå krydskontaminering under prøvehåndteringstrinnene. Udvis især forsigtighed for at undgå kontaminering fra spredning af aerosoler ved løsning eller fjernelse af hætter fra prøver. Prøver kan indeholde meget høje niveauer af organismer. Pas på, at prøvebeholdere ikke rører hinanden, og bortskaf brugte materialer uden at føre dem hen over åbne beholdere. Skift handsker, hvis de kommer i kontakt med prøvemateriale.

### Vedrørende assay

- O. Kvantitative resultater af Aptima HIV-1 Quant Dx assay er blevet vurderet med EDTA og ACD plasma. **Serum må ikke bruges til indsamling af kvantitative resultater.** Kvalitative resultater er blevet evalueret med både plasma og serum.
- P. Brug ikke reagenskittet, kalibratoren eller kontrollerne efter udløbsdatoen.
- Q. Assayreagenser fra kit med forskellige hovedlotnumre må ikke byttes om med hinanden, blandes eller kombineres. Assayvæsker kan være fra forskellige lotnumre. Kontroller og kalibratoren kan være fra forskellige lotnumre.
- R. Undgå mikrobiel og nukleasekontaminering af reagenser.
- S. Sæt hætte på og opbevar alle assayreagenser ved de specificerede temperaturer. Assayets præstation kan påvirkes, hvis der anvendes forkert opbevarede assayreagenser.

Se afsnittet *Krav til opbevaring og håndtering af reagenser og Testprocedure til Panther System* for yderligere oplysninger.

- T. Kombinér ikke assayreagenser og væsker uden specifikke anvisninger. Tilføj ikke yderligere reagens eller væske. Panther System verificerer reagensniveauerne.
- U. Visse af reagenserne i dette kit er mærket med risiko- og faresymboler.

**Bemærkning:** Farekommunikation afspejler EU-sikkerhedsdatabladenes (SDS) klassificeringer. For fareoplysninger, der er specifikke for en given region, henvises der til de regionsspecifikke sikkerhedsdatablade i Safety Data Sheet Library (Sikkerhedsdatabladsbiblioteket) på [www.hologicds.com](http://www.hologicds.com).

**HIV VL Kit Controls**

**Natriumazid 0.2%**  
Human Serum 95-100%

**Advarsel**

H312 - Farlig ved hudkontakt  
H412 - Skadelig for vandlevende organismer, med langvarige virkninger  
P273 - Undgå udledning til miljøet  
P280 - Bær øjenbeskyttelse/ansigtsbeskyttelse

**Krav til opbevaring og håndtering af reagenser**

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

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

<sup>a</sup> Når reagenserne fjernes fra Panther System, skal de straks returneres til deres korrekte opbevaringstemperaturer.

- B. Bortskaf alle ubrugte rekonstituerede reagenser og target capture reagens (target capture reagent, TCR) efter 30 dage eller efter hovedlottets udløbsdato, alt efter hvilket, der kommer først.
- C. Reagenser opbevaret i Panther System er stabile i 72 timer i systemet. Reagenser kan sættes i Panther System op til 5 gange. Panther System registrerer hver gang, der isættes reagenser.
- D. Efter kalibratoren er optøet, skal opløsningen være klar, dvs. den må ikke være uklær eller have udfældninger.

- ⚠ E. Promoterreagens og rekonstitueret promoterreagens er lysfølsomme. Beskyt disse reagenser mod lys under opbevaring og klargøring til brug.

### Indsamling og opbevaring af prøver

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

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

**Bemærk:** Der må kun bruges sekundærplastrør til opbevaring.

Fuldblodsprøver opsamlet i følgende typer glas- eller plastrør må anvendes:

Til kvantitative målinger:

- Rør indeholdende EDTA eller antikoagulans med syre-citrat-dextrose (ACD) eller
- Rør til klargøring af plasma (Plasma Preparation Tubes, PPT).

Til kvalitativ bestemmelse:

- Rør indeholdende antikoagulans med EDTA eller ACD, eller
- PPT'er, eller
- Serumrør, eller
- SST-rør (Serum Separator Tubes).

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

#### A. Indsamling af prøver

Fuldblod kan lagres ved 2 °C til 30 °C og skal centrifugeres inden for 24 timer fra prøvetagningen. Plasma eller serum skal separeres fra de pelletterede røde blodlegemer ifølge brugsanvisningen fra producenten af det anvendte rør. Plasma eller serum kan testes på Panther-systemet i et primærrør eller overføres til et sekundærrør, f.eks. et Aptima-rør til prøvealiquot (SAT). Den minimale volumen af serum eller plasma for primærprøvetagningsrør er 1200 µl, og for sekundærprøvetagningsrør er den minimale volumen 700 µl for at kunne opnå et reaktionsvolumen på 500 µl. Nedenstående tabel angiver kravene til dødsvolumen for hver type primær- og sekundærrør.

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

Hvis det ikke skal testes med det samme, kan plasma og serum lægges til opbevaring i overensstemmelse med nedenstående specifikationer. Hvis plasma overføres til et sekundærrør, kan det nedfryses til -20 °C eller -70 °C, og serum kan nedfryses til -20 °C. Overstig ikke tre nedfrysnings-/optøningscykluser for at undgå at påvirke resultaterne. Nedfrys ikke prøver i EDTA, ACD eller primære prøvetagningsrør til serum.

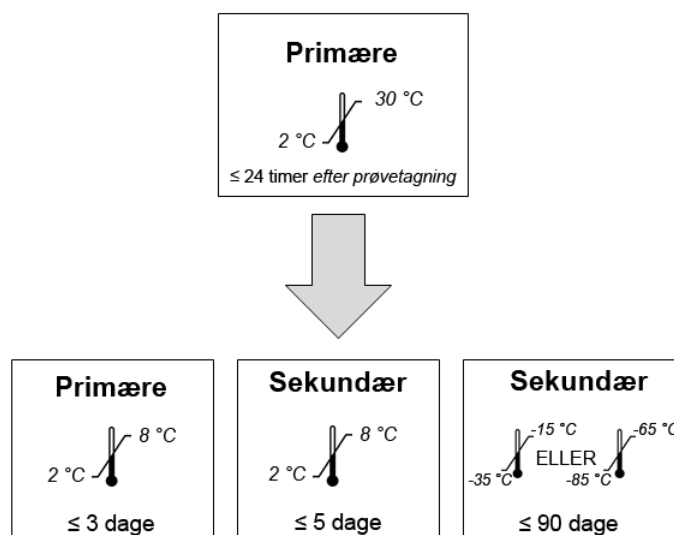
#### B. Betingelser for opbevaring af prøver



## 1. Plasmaprøver i EDTA og ACD

I op til 24 timer efter prøvetagning kan primære rør indeholdende centrifugeret plasma opbevares ved 2 °C til 30 °C (figur 1, øverst). Efter 24 timer kan plasma opbevares i en længere periode under én af de følgende betingelser (figur 1, nederst):

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

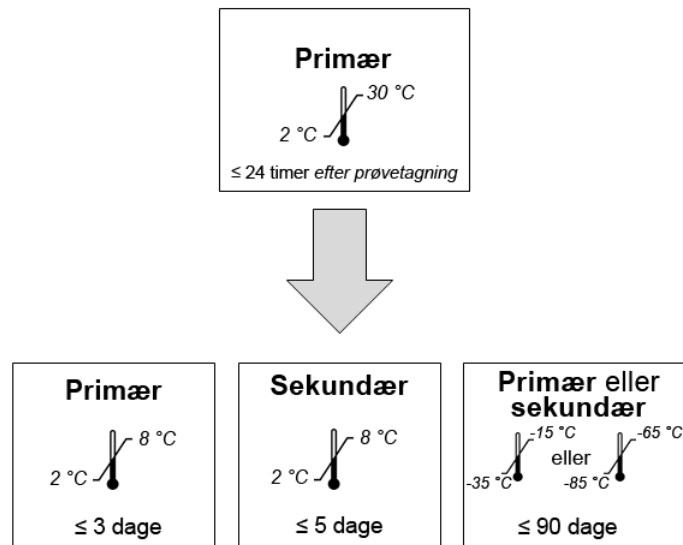


**Figur 1. Betingelser for opbevaring af EDTA-/ACD-rør**

## 2. PPT prøver

I op til 24 timer efter prøvetagning kan PPT'er indeholdende centrifugeret plasma opbevares ved 2 °C til 30 °C (figur 2, øverst). Efter 24 timer kan plasma opbevares i en længere periode under én af de følgende betingelser (figur 2, nederst):

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

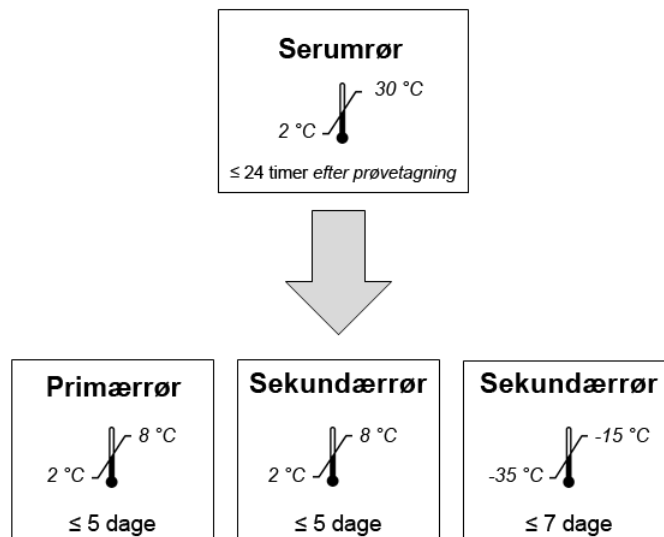


**Figur 2. Opbevaringsbetingelser for PPT'er**

3. Prøver i serumrør

I op til 24 timer efter prøvetagning kan serumrør indeholdende centrifugeret serum opbevares ved 2 °C til 30 °C (figur 3, øverst). Efter 24 timer kan serum opbevares i en længere periode under én af de følgende betingelser (figur 3, nederst):

- I serumrøret ved 2 °C til 8 °C i op til 5 dage,
- I sekundærrør ved 2 °C til 8 °C i op til 5 dage eller
- I sekundærrør ved -20 °C i op til 7 dage.

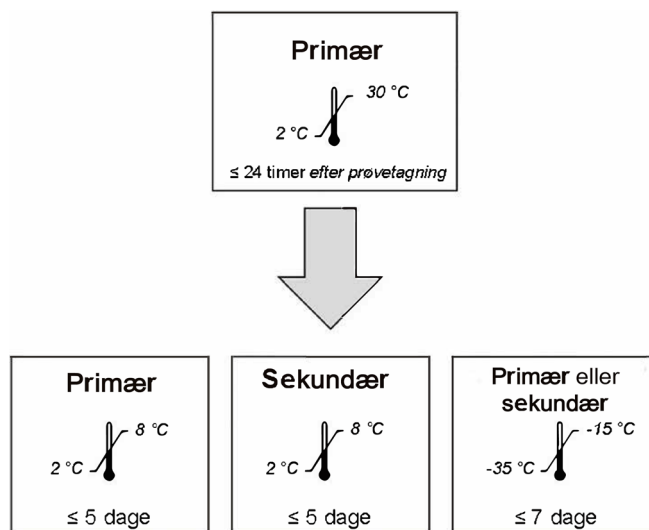


**Figur 3. Opbevaringsbetingelser for serumrør**

#### 4. SST prøver

I op til 24 timer efter prøvetagning kan SST'er indeholdende centrifugeret serum opbevares ved 2 °C til 30 °C (figur 4, øverst). Efter 24 timer kan serum opbevares i en længere periode under én af de følgende betingelser (figur 4, nederst):

- I SST ved 2 °C til 8 °C i op til 5 dage,
- I sekundærrør ved 2 °C til 8 °C i op til 5 dage eller
- I sekundærrør eller SST ved -20 °C i op til 7 dage.



**Figur 4. Opbevaringsbetingelser for SST'er**

#### C. Fortynding af plasmaprøver

En plasmaprøve kan fortyndes i SAT eller sekundærrør med henblik på testning på Panther-systemet. Se afsnittet *Testprocedure til Panther System*, trin E.6 herunder for flere oplysninger.

**Bemærk:** Hvis en prøve er fortyndet, skal den testes umiddelbart efter fortyndingen. Fortyndede prøver må ikke nedfryses.

⚠ Fortyndede plasmaprøver kan kun bruges til kvantitative resultater. Fortynd ikke plasmaprøver for at få diagnostiske resultater.

### Prøver på Panther System

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

### Prøvetransport

Overhold betingelserne for opbevaring af prøver som beskrevet i *Indsamling og opbevaring af prøver*.

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

## Panther System

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

### Vedlagte reagenser og materialer

**Bemærk:** For oplysninger om enhver fare og sikkerhedserklæringer, der kan være tilknyttet reagenser, henvises til Safety Data Sheet Library (Arkivet med sikkerhedsdataark) på [www.hologic.com/sds](http://www.hologic.com/sds).

**Aptima HIV-1 Quant Dx Assay kit**, 100 tests, kat. nr. PRD-03000 (1 assayæske, 1 kalibratorkit og 1 kontrolkit)

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

#### Æske til Aptima HIV-1 Quant Dx Assay

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

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

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

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

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

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

**Nødvendige materialer, der skal anskaffes separat**

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

<b>Materiale</b>	<b>Kat. nr.</b>
Panther System	—
Pather Run Kit for Real Time Assays (kun til assays i realtid)	PRD-03455 (5000 tests)
<i>Aptima Assay væskekit (også kendt som Universal-væskekit) indeholder Aptima vaskeopløsning, Aptima buffer til deaktiveringsvæske og Aptima oliereagens</i>	303014 (1000 test)
<i>Multireagensglasenheder (Multi-tube units, MTU)</i>	104772-02
<i>Panther affaldsposekit</i>	902731
<i>Panther afdækningsstykke til affaldsbeholder</i>	504405
Eller, Pather System Run Kit	303096 (5000 tests)
<i>(når der køres ikke-realtids-TMA assays parallelt med realtids-TMA assays) indeholder MTU, affaldsposer, afdækningsstykker til affaldsbeholder, automatisk detektering og assayvæsker</i>	
Spidser, 1000 µl ledende, væskeregistrerende	10612513 (Tecan)
Blegemiddel, 5 % til 7 % (0,7 M til 1,0 M) natriumhypochloritopløsning	—
Handsker uden pudder, til engangsbrug	—
Uigennemtrængelige udskiftningshætter	103036A
Udskiftningshætter til reagens	
<i>Flasker til rekonstituering af amplifikations-, enzym- og promoterreagens</i>	<i>CL0041 (100 hætter)</i>
<i>TCR-flaske</i>	<i>CL0040 (100 hætter)</i>
Plastbagbeklædning til laboratorieborde	—
Fnugfri servietter	—
Pipette	—
Spidser	—
Der kan anvendes følgende primærprøvetagningsrør (ACD, EDTA, PPT, SST, serum):	—
<i>13 mm x 100 mm</i>	—
<i>13 mm x 75 mm</i>	—
<i>16 mm x 100 mm</i>	—
Centrifuge	—
Vortexmixer	—

## Valgfri materialer

Materiale	Kat. nr.
Der kan anvendes følgende sekundærrør:	
12 mm x 75 mm	—
13 mm x 100 mm	—
16 mm x 100 mm	—
Aptima-rør til prøvealiquot (SATs) (100 stk.)	503762
Hætte til transportrør (100 stk.)	504415
hætte til SAT	
Aptima prøvefortynder	PRD-03003
Aptima-prøvefortynderkit	PRD-03478
indeholder prøvefortynding, 100 SAT'er og 100 hætter	
Overførselspipetter	—
Kommercielt tilgængelige paneler, fx:	—
HIV-1 fra Quality Control for Molecular Diagnostics (QCMD) eller College of American Pathologists (CAP) HIV viral load undersøgelsespanel eller SeraCare ACCURUN HIV paneler	
Podepinde med vatspids	—
Vendeapparat	—

## Testprocedure til Panther System

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

## A. Klargøring af arbejdsområde

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

## B. Klargøring af kalibrator og kontroller

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

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

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

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

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

### C. Reagensrekonstituering/klargøring af et nyt kit

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

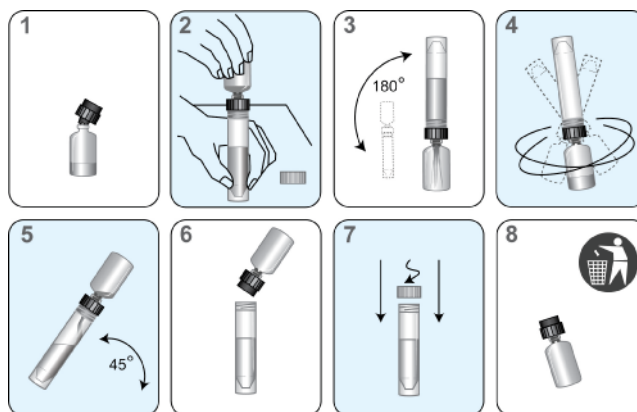
1. Target capture reagens (TCR) klargøres på følgende måde:
  - a. Fjern TCR fra opbevaring (2 °C til 8 °C). Kontrollér lotnummeret på TCR-flasken for at sikre, at det stemmer overens med lotnummeret på stregkodelisten for hovedlot.
  - b. Omryst straks TCR-flasken kraftigt 10 gange. Lad TCR-flasken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

**Valgmulighed:** TCR-flasken kan klargøres på et vendeapparat på følgende måde: Fjern TCR fra opbevaring (2 °C til 8 °C), og ryst straks omhyggeligt 10 gange. Placér TCR-flasken i et vendeapparat, og efterlad TCR-flasken ved 15 °C til 30 °C til opvarmning i mindst 45 minutter.
  - c. Sørg for, at alle udfældninger opløses, og at de magnetiske partikler suspenderes før brug.
2. Til rekonstituering af amplifikations-, enzym- og promoterreagens gøres følgende:
  - a. Fjern de frysetørrede reagenser og tilhørende rekonstitueringsopløsninger fra opbevaring (2 °C til 8 °C). Anbring hver enkelt rekonstitueringsopløsning parvist med det tilhørende frysetørrede reagens.
  - b. Kontrollér, at rekonstitueringsopløsningen og det frysetørrede reagens har matchende etiketfarver. Kontrollér lotnumrene på stregkodelisten for hovedlot for at sikre, at de korrekte reagenser er grupperet.
    - i. Åbn hætteglasset med frysetørret reagens ved at fjerne metalforseglingen og gummiproppen.
    - ii. Indsæt enden af rekonstitueringsmanchetten (sort) med fordybningen med et fast tryk på hætteglasset (figur 5, trin 1).
    - iii. Åbn den tilhørende flaske med rekonstitueringsopløsning, og læg låget på et rent, afdækket arbejdsbord.
    - iv. Placér flasken med rekonstitueringsopløsning på en stabil flade (dvs. et arbejdsbord). Vend derpå hætteglasset med frysetørret reagens over flasken med rekonstitueringsopløsning, og sæt manchetten fast på flasken med rekonstitueringsopløsning (figur 5, trin 2).
    - v. Vend langsomt de samlede flasker (hætteglas sat på flasken med opløsning), så opløsningen kan løbe ned i hætteglasset (figur 5, trin 3).
    - vi. Tag fat i de samlede flasker, og hvirvl dem rundt i mindst 10 sekunder (figur 5, trin 4).
    - vii. Vent i mindst 30 minutter på at det frysetørrede reagens blandes med opløsningen.
    - viii. Efter det frysetørrede reagens er blevet blandet med opløsningen, hvirvles de samlede flasker i mindst 10 sekunder, og derpå vippes opløsningen let frem og tilbage i hætteglasset, så indholdet blandes grundigt.



- c. Vend langsomt de samlede flasker igen, så hele opløsningen kan løbe tilbage i flasken med rekonstitueringsopløsning (figur 5, trin 5).
- d. Fjern forsigtigt rekonstitueringsmanchetten og hætteglasset (figur 5, trin 6).
- e. Sæt låget på flasken igen. Registrér operatørinitialer og rekonstitueringsdato på etiketten (figur 5, trin 7).
- f. Bortskaf rekonstitueringsmanchetten og hætteglasset (figur 5, trin 8).

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



**Figur 5. Reagensets rekonstitueringsproces**

#### D. Klargøring af reagens for tidligere klargjorte reagenser

1. Tag de tidligere klargjorte reagenser ud af opbevaring (2 °C til 8 °C).
2. Tidligere klargjort amplifikation, enzym, promoterreagenser og TCR skal nå 15 °C til 30 °C før start af assayet.
3. For tidligere klargjort TCR udføres trin C.1 ovenfor før isætning i systemet.
4. Hvirvl og vend amplifikations-, enzym- og promoterreagens op og ned for at blande det grundigt før isætning i systemet. Undgå kraftig skumdannelse, når reagenserne vendes op og ned.
5. Der må ikke tilføjes reagens til reagensflaskerne. Panther System registrerer og afviser flasker, der har fået tilføjet reagens.

#### E. Håndtering af prøver

1. Kontrollér, at de behandlede prøver i primærrør eller ufortyndede prøver i sekundærrør er opbevaret korrekt i henhold til Indsamling og opbevaring af prøver på side 8.
2. Sørg for, at frosne prøver er tøet helt op. Bland de optøede prøver i vortexmixer i 3 til 5 sekunder, så de blandes omhyggeligt.
3. Lad prøverne nå 15 °C til 30 °C før behandlingen. Se afsnittet *Prøver på Panther System* for yderligere oplysninger.
4. Kontrollér, at hvert primærprøvetagningsrør indeholder op til 1200 µl prøve, eller at hvert SAT indeholder mindst 700 µl prøve. Se tabellen i *Indsamling af prøver* på side 8 vedrørende kravene til dødvolumen for hver type primær- og sekundærrør. Hvis fortynding af prøven er nødvendigt, se trin E.6 herunder for yderligere oplysninger.

5. Umiddelbart inden isætning af prøverne i et prøvestativ centrifugeres hver prøve ved 1000 til 3000g i 10 minutter. Tag ikke hæfterne af. Bobler i rørene kan påvirke niveaumålingen i Panther-systemet.

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

6. Fortynd en plasmaprøve i forholdet 1:3 i et SAT eller i forholdet 1:100 i et sekundærrør.

En plasmaprøve kan fortyndes i et sekundærrør med henblik på testning på Panther-systemet.

- ⚠ Fortyndede plasmaprøver kan kun bruges til kvantitative resultater. Fortynd ikke plasmaprøver for at få diagnostiske resultater.

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

- a. Fortynding af prøver med lavt volumen

Volumenet af plasmaprøver kan øges til det påkrævede minimumsvolumen (700 µl) ved brug af Aptima prøvefortynder. Prøver med mindst 240 µl plasma kan fortyndes med to dele prøvefortynder (1:3) på følgende måde:

- i. Placer 240 µl prøve i SAT.
- ii. Tilsæt 480 µl Aptima-prøvefortynder.
- iii. Sæt hætte på.
- iv. Vend røret op og ned 5 gange.

Prøver, der er fortyndet 1:3, kan testes ved brug af 1:3 valgmuligheden på Panther System (se *Panther System Operator's Manual* [Brugervejledningen til Panther System] for yderligere oplysninger). Softwaren rapporterer automatisk de ufortyndede resultater med denne fortyndingsfaktor. Disse prøver markeres som værende fortyndede prøver.

- b. Fortynding af prøver med høj titer

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

- i. Placer 30 µl prøve i et SAT eller et sekundærrør.
- ii. Tilsæt 2970 µl Aptima-prøvefortynder.
- iii. Sæt hætte på.
- iv. Vend røret op og ned 5 gange.

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

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

## F. Klargøring af systemet

1. Sæt systemet op ifølge anvisningerne i *Panther System Operator's Manual* (Brugervejledningen til Panther System) og *Bemærkninger til fremgangsmåden*. Sørg for, at der anvendes reagensstativer og TCR-adaptorer af passende størrelse.

2. Sæt prøverne i prøvestativet. Udfør de følgende trin for hvert prøverør (prøve og, hvor nødvendigt, kalibrator og kontroller):
  - a. Løsn én prøverørshætte, men tag den ikke helt af.  
**Bemærk:** Vær især forsigtig med at undgå kontamination fra spredning af aerosoler. Løsn hæfterne forsigtigt.
  - b. Sæt prøverøret i prøvestativet.
  - c. Gentag trin 2.a og 2.b for hver resterende prøve.
  - d. Når prøverne er sat i prøvestativet, fjernes og bortskaffes hvert prøverørs hætte i ét prøvestativ. For at undgå kontamination må hætter ikke føres hen over prøvestativer eller prøverør.
  - e. Brug om nødvendigt en ny engangsoverførselspipette til at fjerne eventuelle bobler eller skum.
  - f. Når den sidste hætte er fjernet, skal prøvestativet sættes i prøvebåsen.  
**Bemærk:** Hvis der køres andre assays og prøvetyper på samme tid, skal prøveholderen sikres, før prøvestativet sættes i prøvebåsen.
  - g. Gentag trin 2.a til 2.f for det næste prøvestativ.

## Bemærkninger til fremgangsmåden

### A. Kalibrator og kontroller

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

### B. Handskepudder

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

## **Kvalitetskontrol**

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

### **Kalibrering af assayet**

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

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

### **Negative og positive kontroller**

For at danne gyldige resultater er det nødvendigt at teste et sæt assaykontroller. Ét replikat af den negative kontrol, af den lave positive kontrol og af den høje positive kontrol skal testes, hver gang et reagenskit sættes i Panther-systemet. Når kontrollerne er fastlagt, er de gyldige op til 24 timer. Software i Panther System giver operatøren en meddelelse, når kontroller er nødvendige.

Under behandlingen verificeres kriterierne for godkendelse af kontrollerne automatisk af softwaren i Panther System. For at opnå gyldige resultater skal den negative kontrol udvise resultatet "Ikke detekteret", og de positive kontroller skal udvise resultater, der ligger inden for de foruddefinerede parametre. Hvis en af kontrollerne udviser et ugyldigt resultat, ugyldiggør softwaren automatisk kørslen. Prøver i en ugyldiggjort kørsel skal testes igen med en netop klargjort kalibrator og netop klargjorte kontroller.

### **Intern kalibrator/intern kontrol**

Hver prøve indeholder en intern kalibrator/intern kontrol (IC). Under behandlingen verificeres IC-godkendelseskriterierne automatisk af Panther System Software. Hvis et IC-resultat er ugyldigt, bliver prøveresultatet ugyldiggjort. Hver prøve med et ugyldigt IC-resultat skal testes igen for at opnå et gyldigt resultat.

Panther-systemsoftwaren er udviklet til at verificere processerne nøjagtigt, når procedureerne udføres efter anvisningerne på denne indlægsseddel og i *Panther System Operator's Manual* (Brugervejledningen til Panther-system).

## Fortolkning af resultater

**Bemærk:** Kvantitative resultater af Aptima HIV-1 Quant Dx Assay er blevet evalueret med plasma. Serum må ikke bruges til indsamling af kvantitative resultater. Kvalitative resultater er blevet evalueret med både plasma og serum.

Panther System bestemmer automatisk koncentrationen af HIV-1 RNA for prøver og kontroller ved at sammenligne resultaterne med en kalibreringskurve. HIV-1 RNA koncentrationer rapporteres i kopier/ml og  $\log_{10}$  kopier/ml. Fortolkningen af resultater er vist i tabel 1. Hvis fortyndingen 1:3 eller 1:100 bruges til fortyndede prøver, beregner Panther-systemet automatisk HIV-1 koncentrationen for den ufortyndede prøve ved at gange den fortyndede koncentration med fortyndingsfaktoren, og de fortyndede prøver markeres som værende fortyndet.

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

Panther System giver ikke et kvalitativt resultat (dvs. "Reaktiv" eller "Ikke-reaktiv") til diagnostisk brug. Operatøren skal fortolke den rapporterede HIV-1 RNA koncentration i form af et kvalitativt resultat (tabel 1). Prøver med resultater angivet som "Not detected" (Ikke detekteret) er ikke-reaktive over for HIV-1 RNA. Prøver med resultater angivet som "<30 detected" (<30 detekteret) eller prøver med resultater vist inden for det lineære område angiver, at der blev detekteret HIV-1 RNA, og at disse prøver er reaktive over for HIV-1 RNA.

Tabel 1: Fortolkning af resultater

Rapporteret Aptima HIV-1 Quant Dx Assay-resultat		Fortolkning af HIV-1 RNA koncentration	Brugerens diagnostiske kvalitative fortolkning <sup>c</sup>
Kopier/ml <sup>a</sup>	Log <sub>10</sub> værdi <sup>b</sup>		
Ikke detekteret	Ikke detekteret	HIV-1 RNA ikke detekteret.	Ikke- reaktiv over for HIV-1 RNA
<30 detekteret <sup>e</sup>	<1,47	HIV-1 RNA detekteres, men på et niveau, der ligger under den nedre kvantiteringsgrænse (LLOQ)	Reaktiv for HIV-1 RNA
30 til 10.000.000	1,47 til 7,00	HIV-1 RNA koncentrationen ligger inden for det lineære område på 30 til 10.000.000 kopier/ml.	Reaktiv for HIV-1 RNA
>10.000.000	>7,00	HIV-1 RNA koncentrationen ligger over den øvre kvantiteringsgrænse (ULOQ).	Reaktiv for HIV-1 RNA
Ugyldig <sup>d</sup>	Ugyldig <sup>d</sup>	Der opstod en fejl under udarbejdelsen af resultatet. Prøven skal testes igen.	Ugyldig

<sup>a</sup> Konverteringsfaktoren for kopier til internationale enheder (IE) for den 3. internationale standard for HIV-1 RNA (10/152) er 0,35 kopier/IE.

<sup>b</sup> Værdien er afkortet til decimaler.

<sup>c</sup> En diagnostisk fortolkning kan udarbejdes på grundlag af enten serum- eller plasmaprøver, der ikke er blevet fortyndet.

<sup>d</sup> Ugyldige resultater vises med blå skrift.

<sup>e</sup> Softwarens mindste rapporterbare værdi er 30 copies/ml. Assayets højeste LoD er 17,5 copies/ml for undertype G. Se tabel 3 for at få flere oplysninger om LoD-værdier for alle undertyperne. LoD'en med WHO's 3. internationale standard (undertype B) for HIV-1 RNA er 12,1 copies/ml (se tabel 2).

**Begrænsninger**

- A. Kun personale, som er oplært i fremgangsmåden til dette assay, må udføre proceduren. Hvis anvisningerne på denne indlægsseddel ikke følges, kan det føre til fejlagtige resultater.
- B. Pålidelige resultater er afhængige af tilstrækkelig prøvetagning og korrekt transport, opbevaring og behandling af prøver.
- C. Dette assay er blevet vurderet til brug som et kvantitativt assay kun med humant EDTA og ACD plasma.
- D. Dette assay er blevet vurderet til brug som et kvalitativt assay med humant EDTA og ACD plasma og serum.
- E. Selv om det er sjældent, kan mutationer i de højt konserverede regioner af virusgenomet, der er dækket af primere og/eller prober i Aptima HIV-1 Quant Dx Assay, resultere i underkvantificering af eller manglende evne til at detektere virusset.

## Præstation

### Detektionsgrænse (LOD) ved brug af den 3. HIV-1 internationale standard fra WHO

Detektionsgrænsen (Limit of Detection, LOD) defineres som koncentrationen af HIV-1 RNA, der detekteres med 95 % eller større sandsynlighed ifølge CLSI EP17-A2 (39). LOD blev bestemt ved testning af paneler, der bestod af fortyndinger af den 3. HIV-1 WHO internationale standard (undertype B, NIBSC kode: 10/152) i HIV-1 negativt plasma. Tredive replikater af hver fortynding blev kørt på tre Panther Systems ved brug af tre reagenslot til i alt 90 replikater for hver fortynding. Ifølge CLSI EP17-A2 defineres LOD som resultaterne fra det reagenslot, der har den højeste koncentration for den forudsagte detektionsgrænse. Disse resultater er vist i tabel 2. Ifølge probitanalyse er LOD for Aptima HIV-1 Quant Dx Assay 12 kopier/ml (35 IE/ml; 0,35 kopier = 1 IE).

Tabel 2: Detektionsgrænse for Aptima HIV-1 Quant Dx Assay ved brug af den 3. HIV-1 internationale standard fra WHO

Forudsagt detektionsgrænse	Koncentration (kopier/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

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

For HIV-1 gruppe M (undertype A, C, D, F, G, CRF01\_AE, CRF02\_AG) og gruppe N og O blev der lavet syv paneler ved at tilsætte enten dyrket HIV-1 virus eller positive kliniske prøver til HIV-1 negativt humant plasma (0 til 40 kopier/ml). Hvert panelmedlem blev testet i 30 replikater med to reagenslot for i alt 60 replikater pr. panelmedlem. Tildelingen af en koncentration for kliniske prøver eller dyrkede virusstammer blev bestemt med et komparatorassay. En probitanalyse blev foretaget for at etablere 50 % og 95 % forudsagte detektionsgrænser. Ifølge CLSI EP17-A2 (39) defineres LOD som resultaterne fra det reagenslot, der har den højeste koncentration for den forudsagte detektionsgrænse. Disse resultater er vist i tabel 3.

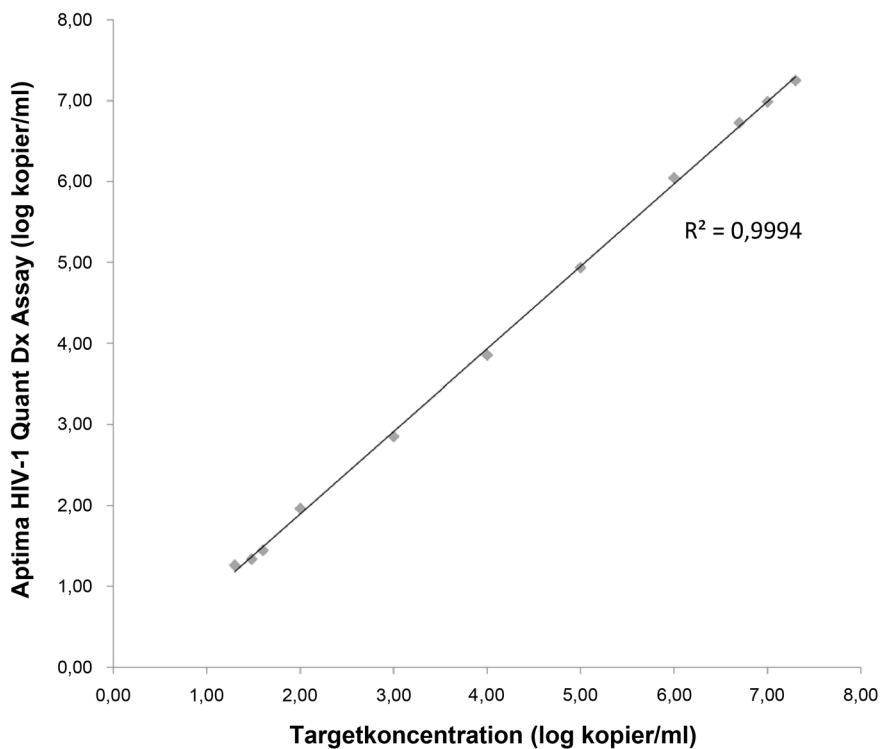
Tabel 3: Detektionsgrænse på tværs af HIV-1 undertyper og grupper

Undertype/ gruppe	Forudsagt detektionsgrænse	Koncentration (kopier/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



## Lineært område

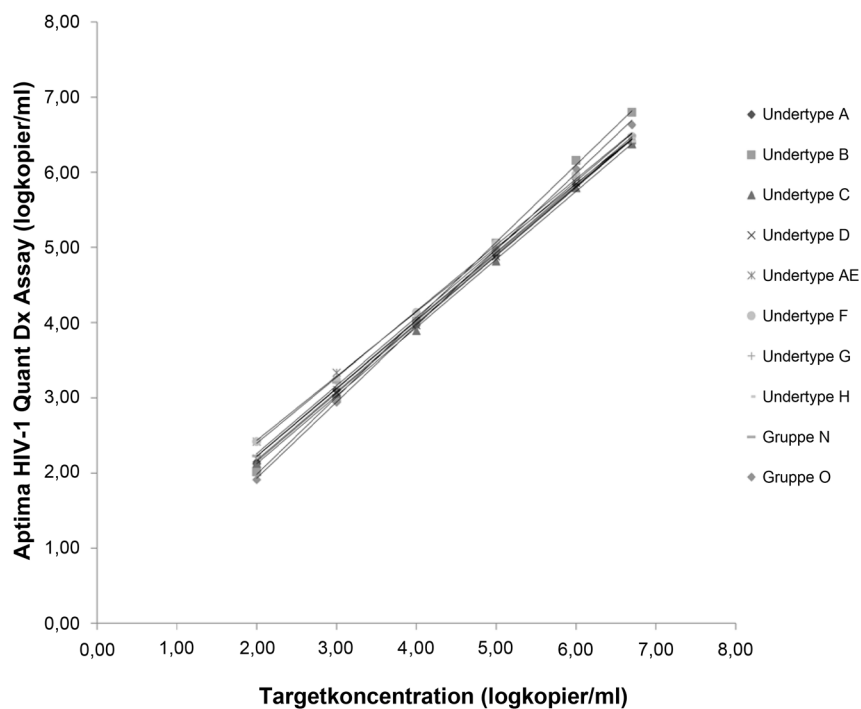
Det lineære område for Aptima HIV-1 Quant Dx Assay blev fastlagt ved testning af paneler bestående af dyrket HIV-1 undertype B virus fortyndet i HIV-1 negativt humant plasma ifølge CLSI EP06-A (40). Paneler varierede i koncentration fra 1,30 til 7,30 log kopier/ml. Testning blev udført på syv Panther Systems med to reagenslot Aptima HIV-1 Quant Dx Assay. Som vist i figur 6 udviste Aptima Quant Dx Assay linearitet på tværs af det testede område.



**Figur 6. Linearitet af Aptima HIV-1 Quant Dx Assay**

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

Det lineære respons af Aptima HIV-1 Quant Dx Assay på tværs af gruppe M (undertype A, B, C, D, F, G, H, CRF01\_AE) og gruppe N og O blev bekræftet ved testning af paneler, der bestod af HIV-1 transkript fortyndet i buffer ved koncentrationer fra 2,00 til 6,70 log kopier/ml. Testning blev udført på fire Panther Systems og seks kørsler. Linearitet sås på tværs af det testede område (figur 7).



Figur 7. Linearitet på tværs af gruppe M (undertype A, B, C, D, F, G, H, CRF01\_AE) og gruppe N og O

## Den nedre kvantiteringsgrænse ved brug af den 3. HIV-1 internationale standard fra WHO

Den nedre kvantiteringsgrænse (Lower Limit of Quantitation, LLOQ) defineres som den laveste koncentration ved hvilken HIV-1 RNA på pålidelig vis kan kvantiteres inden for grænserne for total fejl (Total Error, TE), ifølge CLSI EP17-A2 (39). TE blev beregnet vha. Westgard-reglen ( $TE = |\text{bias}| + 2SD$ ). For at sikre nøjagtighed og præcision af målinger blev TE for Aptima HIV-1 Quant Dx Assay sat til 1 log kopier/ml (dvs. at ved LLOQ er forskellen mellem to målinger på mere end 1 log kopier/ml statistisk signifikant).

LLOQ blev bestemt ved testning af paneler, der bestod af fortyndinger af den 3. HIV-1 internationale standard fra WHO (undertype B, NIBSC kode: 10/152) i HIV-1 negativt plasma. Ifølge CLSI EP17-A2 blev panelerne testet med tre reagenslot i replikater af 30 for hvert lot fra 23 kørsler. Resultaterne er vist i tabel 4. Den højeste nedre kvantiteringsgrænse (LLOQ) for de tre lots, som er testet på Aptima HIV-1 Quant Dx assay ved brug af den 3. HIV-1 internationale standard fra WHO er 15 copies/mL (1,17 log copies/mL; 42,9 IU/mL) (tabel 5).

Tabel 4: Bestemmelse af LLOQ for Aptima HIV-1 Quant Dx Assay ved brug af den 3. HIV-1 internationale standard fra WHO

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

SD = standardafvigelse

Tabel 5: Oversigt over LLOQ ved brug af den 3. HIV-1 internationale standard fra WHO (3 reagenslot)

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

### Verificering af LLOQ på tværs af HIV-1 undertyper og grupper

LLOQ på tværs af HIV-1 undertyper og grupper blev verificeret ifølge CLSI EP17-A2 (39). Der blev lavet paneler for hver HIV-1 gruppe M (undertype A, B, C, D, F, G, CRF01\_AE, CRF02\_AG) og gruppe N og O ved at tilsætte enten naturligt inficerede kliniske prøver eller kliniske isolater til pooled HIV-1 negativt humant plasma. Testning bestod af i alt 30 replikater pr. panelmedlem. Data i tabel 6 viser den laveste koncentration for hver undertype eller gruppe, hvor TE var mindre end 1 log kopier/ml. Den højeste LLOQ for alle testede undertyper og grupper var 30 kopier/ml. Denne højere værdi blev derfor valgt som LLOQ for Aptima HIV-1 Quant Dx Assay.

Tabel 6: Verificering af LLOQ med HIV-1 undertype eller gruppe

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

## Præcision

Til evaluering af præcisionen af Aptima HIV-1 Quant Dx Assay blev et panel, som blev lavet ved at tilsætte dyrket HIV-1 undertype B virus til HIV-1 negativt plasma, testet af tre operatører ved brug af tre reagenslot på tre Panther Systems i løbet af 20 dage (tabel 7). Panelet bestod af et enkelt HIV-1 negativt panelmedlem og otte HIV-1 positive panelmedlemmer. Tildelingen af en koncentration for kliniske prøver eller dyrkede virusstammer blev bestemt med et komparatorassay.

Tabel 7: Præcision af Aptima HIV-1 Quant Dx Assay

Antal gyldige replikater	Middel-koncentration (log kopier/ml)	Mellem instrumenter		Mellem operatører		Mellem lot		Mellem kørsler		Inden for en kørsel		I alt	
		SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
137	1,80	0,00	0,00	0,03	1,72	0,00	0,00	0,00	0,00	0,16	8,93	0,16	9,10
157	2,37	0,00	0,00	0,05	2,08	0,01	0,36	0,08	3,33	0,15	6,19	0,17	7,34
160	2,47 <sup>a</sup>	0,00	0,00	0,03	1,37	0,03	1,35	0,07	2,97	0,12	5,03	0,15	6,15
162	2,95	0,00	0,00	0,08	2,57	0,02	0,61	0,10	3,29	0,09	3,04	0,15	5,20
162	3,80	0,01	0,32	0,03	0,80	0,02	0,48	0,06	1,49	0,07	1,80	0,10	2,53
159	4,93	0,00	0,00	0,02	0,37	0,04	0,77	0,05	1,10	0,04	0,71	0,08	1,56
162	5,69	0,00	0,00	0,02	0,27	0,04	0,66	0,03	0,58	0,07	1,29	0,09	1,58
162	6,71	0,00	0,00	0,01	0,22	0,04	0,52	0,04	0,60	0,05	0,78	0,08	1,13

CV = variationskoefficient, SD = standardafvigelse

<sup>a</sup> Dette panelmedlem blev fortyndet 1:3 med prøvefortynder og testet for at evaluere præcisionen af den fortyndede prøve.

**Bemærk:** Variabilitet pga. visse faktorer kan være numerisk negativ, hvilket kan forekomme, hvis variabiliteten pga. disse faktorer er meget lille. Når dette forekommer, er SD = 0 og CV = 0 %. Det totale antal testede replikater var 162 for hvert panel. Kun replikater med en numerisk værdi blev analyseret.

### Potentielt interfererende stoffer

Følsomheden af Aptima HIV-1 Quant Dx Assay fra interferens fra eleverede niveauer af endogene stoffer og fra lægemidler, der normalt ordineres til HIV-1 inficerede personer blev evalueret. HIV-1 negative humane plasmaprøver og prøver med tilsætninger op til en koncentration på 3 log kopier/ml HIV-1 RNA blev testet.

Ingen interferens i præstationen af Aptima HIV-1 Quant Dx Assay blev observeret ved tilstedeværelse af albumin (90 mg/ml), hæmoglobin (5 mg/ml), triglycerider (30 mg/ml) eller ukonjugeret bilirubin (0,2 mg/ml).

Der blev ikke observeret interferens af præstationen af Aptima HIV-1 Quant Dx Assay ved tilstedeværelse af de eksogene stoffer vist i tabel 8 ved koncentrationer mindst tre gange højere end  $C_{maks.}$  (humant plasma).

Tabel 8: Eksogene stoffer

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

Kliniske plasmaprøver vist i tabel 9 fra patienter med eleverede niveauer af definerede stoffer, eller fra patienter med de angivne sygdomme, blev testet med Aptima HIV-1 Quant Dx Assay med og uden tilstedeværelse af 3 log kopier HIV-1 RNA. Ingen interferens af præstation blev observeret.

Tabel 9: Testede kliniske prøvetyper

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

**Specificitet**

Specificiteten af Aptima HIV-1 Quant Dx Assay blev bestemt vha. 120 friske og 510 frosne HIV-1 negative plasmaprøver og 120 friske og 510 frosne HIV-1 negative serumprøver. Alle resultater var ikke-reaktive (specificitet på 100 %; 95 % CI: 99,4-100 %).

Tabel 10: Specificitet i plasma- og serumprøver

	Friskt plasma	Frossent plasma	Totalt plasma	Friskt serum	Frossent serum	Totalt serum
<b>Gyldige replikater (n)</b>	120	510	630	120	510	630
<b>Ikke-reaktiv</b>	120	510	630	120	510	630
<b>Specificitet (95 % CI)</b>	100 % (97,0-100)	100 % (99,3-100)	100 % (99,4-100)	100 % (97,0-100)	100 % (99,3-100)	100 % (99,4-100)

CI = confidence interval (konfidensinterval)



## Analytisk specificitet

Potentiel krydsreaktivitet over for patogener (tabel 11) blev evalueret i Aptima HIV-1 Quant Dx Assay ved tilstedeværelse eller fravær af 3 log kopier/ml HIV-1 RNA i HIV-1 negativt plasma. Der blev ikke observeret interferens i assaypræstationen ved tilstedeværelse af patogenerne.

Tabel 11: Patogener testet for analytisk specificitet

Patogen	Koncentration
Hepatitis A virus	100.000 PFU/ml <sup>a</sup>
Hepatitis B virus	100.000 IE/ml <sup>b</sup>
Hepatitis C Virus	100.000 IE/ml
Hepatitis G virus	100.000 kopier/ml
Herpes simplex virus 1 (HSV-1)	100.000 PFU/ml
Herpes simplex virus 2 (HSV-2)	75.000 PFU/ml
Human herpes virus 6	100.000 kopier/ml
Human herpes virus 8	42.000 PFU/ml
HIV-2	5.500 PFU/ml
Human T-celle lymfotropisk virus (HTLV)	100.000 vp/ml <sup>c</sup>
Vestnilvirus	100.000 kopier/ml
Parvovirus B19	100.000 IE/ml
Cytomegalovirus	100.000 kopier/ml
Epstein-Barr virus	100.000 kopier/ml
Adenovirus type 5	100.000 PFU/ml
Denguevirus	100.000 kopier/ml
Influenza A virus	100.000 PFU/ml
<i>Staphylococcus aureus</i>	1.000.000 CFU/ml <sup>d</sup>
<i>Propionibacterium acnes</i>	1.000.000 CFU/ml
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1.000.000 CFU/ml
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1.000.000 CFU/ml
<i>Chlamydia trachomatis</i>	300.000 IFU/ml <sup>e</sup>
<i>Candida albicans</i>	1.000.000 CFU/ml

<sup>a</sup> PFU/ml = Plaque forming units (Plakdannende enheder) pr. ml.

<sup>b</sup> IE/ml = Internationale enheder pr. ml.

<sup>c</sup> vp/ml = Viruspartikler pr. ml.

<sup>d</sup> CFU/ml = Colony forming units (Kolonidannende enheder) pr. ml.

<sup>e</sup> IFU/ml = Inclusion forming units (Inklusionsdannende enheder) pr. ml.

**Repetérbarhed af kliniske prøver**

Ti kliniske plasmaprøver blev testet i tre replikater med Aptima HIV-1 Quant Dx Assay. Den gennemsnitlige koncentration og standardafvigelse er vist i tabel 12.

*Tabel 12: Repetérbarhed af kliniske prøver*

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

### Fortynding af prøve ved brug af prøvfortynder

Til evaluering af prøvfortynding blev et panel bestående af 11 prøver med koncentrationer, der spændte over det lineære område af Aptima HIV-1 Quant Dx Assay, og som bestod af to prøver over assayets øvre kvantiteringsgrænse, testet ufortyndet og fortyndet (1:3 eller 1:100 i prøvfortynder) i triplikat (tabel 13).

Tabel 13: Prøvfortynding

Fortynding	Gennemsnitlig koncentration, ufortyndet (log kopier/ml)	Gennemsnitlig rapporteret koncentration <sup>a</sup> (log kopier/ml)	Forskel
1:3	2,57	2,72	0,15
	3,20	3,33	0,13
	3,24	3,55	0,30
	3,97	4,05	0,07
	4,20	4,24	0,04
	4,85	4,81	-0,04
	5,17	5,08	-0,08
	5,51	5,32	-0,19
	5,84	5,94	0,10
	6,64	6,66	0,02
	2,46 <sup>b</sup>	2,19	-0,27
1:100	>7,00 (7,16 <sup>c</sup> )	7,48	0,32
1:100	>7,00 (7,40 <sup>c</sup> ) <sup>b</sup>	7,39	-0,01

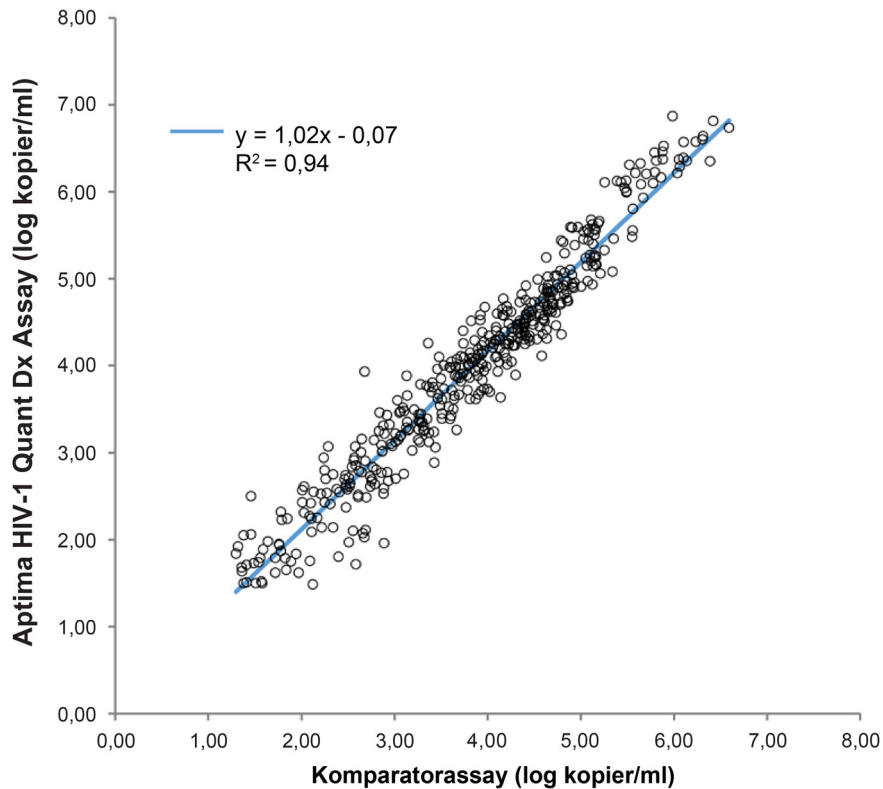
<sup>a</sup> Rapporteret koncentration er værdien rapporteret af Panther-systemet, efter fortyndingsfaktoren er blevet anvendt.

<sup>b</sup> Prøve med tilsætning.

<sup>c</sup> Alle resultater >7,00 log kopier/ml blev estimeret ved yderligere analyse.

## Korrelation mellem metoder

Præstationen af Aptima HIV-1 Quant Dx Assay blev evalueret i forhold til et CE-mærket komparatorassay ved at teste ufortyndede kliniske plasmaprøver fra HIV-1 inficerede patienter på fire Panther Systems og med to lot reagenser. I alt 342 frosne og 108 friske plasmaprøver med kvantificerbare resultater i såvel Aptima HIV-1 Quant Dx Assay som komparatorassayet blev brugt til lineær regression (figur 8). Prøverne inkluderede HIV-1 gruppe M (undertype A, B, C, D, F, G, H, CRF01\_AE, CRF02\_AG).



Figur 8. Korrelation mellem Aptima HIV-1 Quant Dx Assay og komparatorassay

## Diagnostisk overensstemmelse

Til evaluering af diagnostisk overensstemmelse blev prøver fra HIV-1 positive personer testet med Aptima HIV-1 Quant Dx Assay og et CE-mærket HIV-1 kvalitativt komparatorassay: 414 prøver udviste gyldige resultater (tabel 14). Resultaterne for begge assays blev inddelt i kategorier på følgende måde: Ethvert resultat, som gav et kvantificerbart eller detekterbart resultat, blev kategoriseret som "Detected" ("Detekteret"). Ethvert resultat for target, som ikke blev detekteret, blev kategoriseret som "Target Not Detected" ("Target ikke detekteret").

Tabel 14: Diagnostisk overensstemmelse mellem Aptima HIV-1 Quant Dx Assay og komparatorassay

		Aptima HIV-1 Quant Dx Assay	
		Detekteret	Target ikke detekteret
Komparatorassay	Detekteret	214	0
	Target ikke detekteret	0	200

## Overførsel

For at fastlægge, at Panther System minimerer risikoen for falsk positive resultater pga. kontamination fra overførsel, blev der foretaget en analytisk undersøgelse med flere kørsler, hvor der blev brugt paneller med tilsætninger på to Panther Systems. Overførsel blev

evalueret med høj titer HIV-1 prøver med tilsætning (7 log kopier/ml) fordelt over HIV-1 negative prøver i et skakbræt mønster. Testningen fandt sted over fem kørsler. Den samlede overførselsrate var 0 % (n = 469).

## Serokonversionspanel

Nitten sæt HIV-1 serokonversionspaneler, bestående af 204 prøver, blev testet med Aptima HIV-1 Quant Dx Assay. Detektion af HIV-1 RNA blev sammenlignet med detektion med p24 antigen tests og med HIV-1/2 antistof tests. Antallet af dage til det første reaktive resultat med p24 antigen tests, anti-HIV 1/2 antistof tests og Aptima HIV-1 Quant Dx Assay er vist i tabel 15. Aptima HIV-1 Quant Dx Assay detekterede HIV-1 RNA i gennemsnit hhv. 5,58 og 11,16 dage før p24 antigen og anti-HIV 1/2 antistof testene.

Tabel 15: Oversigt over serokonversionspanel data

Panel-id	Antal testede panelmedlemmer	Antal reaktive panelmedlemmer			Dage til første reaktive resultat			Forskel i dage til første reaktive resultat (baseret på dato for blodprøve)	
		Aptima HIV-1 Quant Dx	HIV p24 antigen	Anti-HIV 1/2 antistof	Aptima HIV-1 Quant Dx	HIV p24 antigen	Anti-HIV 1/2 antistof	Dage med tidligere detektion end med HIV p24 antigen test	Dage med tidligere detektion end med Anti-HIV 1/2 antistof test
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 <sup>a</sup>	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 <sup>a</sup>	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 <sup>a</sup>	7	10
PRB963	7	4	2	0	9	17	21 <sup>a</sup>	8	12
PRB966	10	5	3	2	35	44	48	9	13
PRB974 <sup>b</sup>	4	3	2	1	7	9	16	2	9
PRB975 <sup>b</sup>	5	3	1	0	7	14	14 <sup>a</sup>	7	7
PRB978 <sup>b</sup>	7	3	1	0	26	33	33 <sup>a</sup>	7	7
<b>I alt</b>	<b>204</b>	<b>82</b>	<b>51</b>	<b>20</b>	<b>Middelværdi</b>			<b>5,58</b>	<b>11,16</b>
					<b>Middel</b>			<b>7</b>	<b>12</b>

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

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

<sup>b</sup> Panel PRB974, PRB975 og PRB978 blev testet med Siemens Anti-HIV 1/2 test.

HIV-1 p24 antigen testning blev afsluttet med Coulter HIV-1 p24 Ag, med de følgende undtagelser:

<sup>b</sup> Panel PRB974, PRB975 og PRB978 blev testet med BioMerieux p24 Ag test.

**Ækvivalensundersøgelse af serum / plasma**

Til evaluering af ækvivalens blev matchede sæt serum og plasma (25 HIV-1 positive og 25 HIV-1 negative) samt 40 prøver til hvilke var tilsat dyrket HIV-1 (50-1.000.000 kopier/ml i HIV-1 negativt plasma og serum), testet med Aptima HIV-1 Quant Dx Assay. Negativ overensstemmelse var 100,0 % (95 % CI: 97,0 %-100,0 %). Positiv overensstemmelse var 98,4 % (95 % CI: 95,4 % - 99,5 %).

**Bibliografi**

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. Streiner, 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*, 2<sup>nd</sup> 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 Reve. 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 USA

Kundesupport: +1 800 442 9892  
customersupport@hologic.com  
Teknisk support: +1 888 484 4747  
molecularsupport@hologic.com

Yderligere kontaktoplysninger findes på [www.hologic.com](http://www.hologic.com).



**Hologic BV**  
Da Vincilaan 5  
1930 Zaventem  
Belgium

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

Armored RNA er et varemærke tilhørende Asuragen, Inc.

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

Dette produkt kan være dækket af et eller flere amerikanske patenter. Se [www.hologic.com/patents](http://www.hologic.com/patents).

© 2014-2020 Hologic, Inc. Alle rettigheder forbeholdes.

AW-11853-1901 Rev. 008

2020-11