

Aptima™ Zika Virus Assay

In-vitro-Diagnostikum.
Nur zum US-Export.

| | |
|---|-----------|
| Allgemeine Informationen | 2 |
| Verwendungszweck | 2 |
| Zusammenfassung und Testerklärung | 2 |
| Testprinzip | 2 |
| Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen | 3 |
| Lagerungs- und Handhabungsbedingungen für Reagenzien | 6 |
| Probenentnahme und -lagerung | 7 |
| Panther™ System | 9 |
| Im Lieferumfang enthaltene Reagenzien und Materialien | 9 |
| Erforderliche, jedoch nicht im Lieferumfang enthaltene Materialien | 10 |
| Optionale Materialien | 11 |
| Testverfahren mit dem Panther System | 11 |
| Verfahrenshinweise | 17 |
| Qualitätskontrolle | 18 |
| Annahmekriterien für den Aptima Zika Virus Assay | 18 |
| Annahmekriterien für die Kalibration und Berechnung des Grenzwerts (cutoff) | 18 |
| Interpretation der Ergebnisse | 21 |
| Einschränkungen | 22 |
| Performance | 23 |
| Analytische Sensitivität | 23 |
| Reproduzierbarkeit | 24 |
| Interferenz | 26 |
| Kreuzreaktivität | 28 |
| Klinische Bewertung | 29 |
| Bibliographie | 32 |

Allgemeine Informationen

Verwendungszweck

Der Aptima Zika Virus Assay ist ein transkriptionsvermittelter Amplifikationstest zum qualitativen Nachweis von RNA des Zika-Virus in Serum, Plasma oder behandeltem Urin. Die Testung der Proben findet automatisiert auf dem Panther™ System statt und umfasst die Aufarbeitung der Proben, Amplifikation und Detektion. Die Ergebnisse sind zur Identifikation von Zika-Virus-RNA bestimmt.

Zusammenfassung und Testerklärung

Das Zika-Virus (ZIKV) ist ein RNA-Virus, das der Familie *Flaviviridae* und der Gattung *Flavivirus* angehört.¹ Es wird von Mücken der Gattung *Aedes* auf den Menschen übertragen.² ZIKV wurde erstmals 1947 bei infizierten Rhesus-Makaken im Zika-Wald in Uganda gefunden; erste Fälle beim Menschen wurden 1952 in Uganda und der Vereinigten Republik Tansania gemeldet.³ Seitdem wurden in vielen Gegenden Afrikas und Südostasiens sporadische ZIKV-Ausbrüche dokumentiert. Zum ersten ZIKV-Auftreten außerhalb Asiens und Afrikas kam es 2007 mit einem großen Ausbruch auf der Pazifikinsel Yap, die zu den Föderierten Staaten von Mikronesien gehört.⁴

2013 und 2014 wurde ein schwerer Ausbruch der ZIKV-Erkrankung, mit klinischen Komplikationen, in Französisch-Polynesien gemeldet.⁵ Im Mai 2015 wurden in Brasilien die ersten Fälle von lokal erworbenen ZIKV-Infektionen in Nord- und Südamerika bestätigt.^{6,7} Stand Dezember 2016 hatten laut Weltgesundheitsorganisation 75 Länder und Territorien seit dem Jahr 2007 Belege für durch Mücken übertragene ZIKV-Infektionen gemeldet, wobei die Meldungen aus 69 dieser Länder aus den Jahren ab 2015 stammten.⁸ Das Krankheitsbild der ZIKV-Infektion beim Menschen reicht in der Regel von einer subklinischen Infektion bis hin zu leichten grippeähnlichen Symptomen, die ZIKV-Infektion wird jedoch auch mit schwerwiegenden und mitunter tödlichen Fällen des Guillain-Barré-Syndroms in Verbindung gebracht.⁹ Außerdem wird das Virus mit Mikrozephalie und weiteren Fehlbildungen bei Kindern von infizierten Müttern in Zusammenhang gebracht.¹⁰ Der Hauptübertragungsweg scheinen Mückenstiche zu sein, es wurden jedoch auch Fälle einer sexuellen¹¹ und möglicherweise einer transfusionsbedingten¹² Übertragung von ZIKV gemeldet.

Testprinzip

Der Aptima Zika Virus Assay zielt auf zwei hoch konservierte Regionen der NS2- und NS4/NS5-Regionen zur erhöhten Toleranz gegenüber möglichen Mutationen ab. Der Assay umfasst drei Hauptschritte, die in einem einzigen Röhrchen auf dem automatisierten Panther System ablaufen: Probenvorbereitung, Amplifikation der ZIKV-RNA-Zielsequenzen mittels transkriptionsvermittelter Amplifikation (Transcription-Mediated Amplification, TMA)¹³ und Detektion der Amplifikationsprodukte (Amplikon) durch den Hybridisierungsschutz-Assay (Hybridization Protection Assay, HPA).¹⁴ Der Assay verfügt über eine interne Kontrolle (IC) zur Überwachung von Capture, Amplifikation und Detektion der Nukleinsäuren sowie von Anwender- und Gerätefehlern.

Bei der Probenvorbereitung wird die RNA mittels Target Capture aus der Probe isoliert. Die Patientenprobe wird mit einem Detergens behandelt, um die Virushülle zu solubilisieren, Proteine zu denaturieren und die genomische Virus-RNA freizusetzen. Den hoch konservierten ZIKV-Regionen homologe Oligonukleotide („Capture-Oligonukleotide“) werden in der getesteten Patientenprobe an das ZIKV-RNA-Target hybridisiert, wenn dieses vorhanden ist. Das hybridisierte Target wird anschließend an magnetische Mikropartikel

gebunden, die dann in einem Magnetfeld von der Patientenprobe getrennt werden. Irrelevante Bestandteile werden durch Waschschriffe aus dem Reaktionsröhrchen entfernt. Die magnetische Trennung und die Waschschriffe erfolgen mithilfe eines Target-Capture-Systems.

Die Target-Amplifikation findet durch TMA statt, eine transkriptionsvermittelte Nukleinsäureamplifikationsmethode, bei der zwei Enzyme, die Reverse Transkriptase des MMLV und die T7-RNA-Polymerase, zum Einsatz kommen. Die Reverse Transkriptase erzeugt eine DNA-Kopie (mit einer Promotorsequenz für die T7-RNA-Polymerase) der RNA-Targetsequenz. Die T7-RNA-Polymerase produziert mehrere Kopien des RNA-Amplikons vom Template der DNA-Kopie. Der Aptima Zika Virus Assay nutzt das TMA-Verfahren, um Regionen der ZIKV-RNA zu amplifizieren.

Die Detektion erfolgt mit HPA unter Einsatz von Chemolumineszenz-markierten Nukleinsäure-Einzelstrangsonden, die zum Amplikon komplementär sind. Die markierten Nukleinsäuresonden hybridisieren spezifisch an das Amplikon. Das Selektionsreagenz differenziert zwischen hybridisierten und nicht hybridisierten Sonden, indem es die Markierung auf den nicht hybridisierten Sonden inaktiviert. Im Detektionsschritt wird das von der hybridisierten Sonde erzeugte Chemolumineszenzsignal mit einem Luminometer gemessen und in relativen Lichteinheiten (RLU) angegeben.

Die interne Kontrolle wird allen getesteten Patientenproben und dem Assaykalibrator über das Target-Capture-Arbeitsreagenz zugesetzt. Mit der internen Kontrolle des Aptima Zika Virus Assay werden die Probenvorbereitung, die Amplifikation und die Detektion geprüft. Das Signal der internen Kontrolle wird anhand der unterschiedlichen Kinetik der Lichtabgabe von Sonden mit verschiedenen Markierungen vom ZIKV-Signal unterschieden.¹⁴ Das für die interne Kontrolle spezifische Amplikon wird mit einer Sonde mit schneller Lichtabgabe (Flasher-Signal) nachgewiesen. Ein ZIKV-spezifisches Amplikon wird mit Sonden mit einer relativ langsameren Kinetik der Lichtemission (Glower-Signal) detektiert. Der Dual Kinetic Assay (DKA) ist ein Verfahren, das zur Unterscheidung zwischen Signalen der Flasher- und Glower-Markierungen eingesetzt wird.¹⁵

Die Aptima Zika Virus Assay-Kalibratoren dienen zur Bestimmung des Grenzwerts für den Assay und zur Beurteilung der Validität jedes Assay-Laufs. Siehe *Qualitätskontrolle* für weitere Informationen.

Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

- A. *In-vitro*-Diagnostikum.
- B. Zur Verringerung des Risikos ungültiger Ergebnisse müssen die Packungsbeilage und das *Panther System Operator's Manual* (Bedienungsanleitung für das Panther System) vollständig durchgelesen werden, bevor dieser Assay durchgeführt wird.

Laborbezogen

- C. Dieses Verfahren darf nur von Personen durchgeführt werden, die in der Anwendung des Aptima Zika Virus Assay und in der Handhabung potenziell infektiösen Materials entsprechend geschult sind. Bei Materialverschüttung sind die betroffenen Flächen unter Einhaltung entsprechender vor Ort gültiger Verfahren sofort zu desinfizieren.
- D. Nur die im Lieferumfang enthaltenen oder angegebenen Einweg-Laborprodukte verwenden.

- E. Die üblichen Routine-Vorsichtsmaßnahmen im Labor ergreifen. Nicht mit dem Mund pipettieren. In den ausgewiesenen Arbeitsbereichen nicht essen, trinken oder rauchen. Beim Umgang mit Proben und Kitreagenzien ungepuderte Einweghandschuhe, Augenschutz und Laborkittel tragen. Nach der Handhabung von Proben und Kitreagenzien die Hände gründlich waschen.
- F. Arbeitsflächen, Pipetten und andere Geräte müssen regelmäßig mit einer 2,5%igen bis 3,5%igen (0,35 M bis 0,5 M) Natriumhypochloritlösung dekontaminiert werden.
- G. Material, das in Kontakt mit Patientenproben und Reagenzien gelangt ist, nach allen geltenden Vorschriften entsorgen.^{16,17,18,19} Alle Arbeitsflächen gründlich reinigen und desinfizieren.
- H. Das Enzymreagenz enthält Natriumazid als Konservierungsmittel. Für den Reagenzientransfer keine Metallröhrchen verwenden. Wenn Lösungen mit Natriumazidverbindungen in ein Rohrsystem entsorgt werden, sind sie zu verdünnen und mit reichlichen Mengen an fließendem Leitungswasser hinunterzuspülen. Diese Vorsichtsmaßnahmen werden empfohlen, um Ablagerungen in Metall-Abflussrohren zu vermeiden, die eine Explosionsgefahr bilden können.

Probenbezogen

- I. Proben können infektiös sein. Bei der Durchführung dieses Assay sind die allgemein gültigen Vorsichtsmaßnahmen^{16,17,18} zu befolgen. Entsprechend den vor Ort geltenden Bestimmungen sind angemessene Handhabungs- und Entsorgungsmethoden festzulegen.¹⁹ Dieses Verfahren darf nur von Personen durchgeführt werden, die in der Anwendung des Aptima Zika Virus Assay und in der Handhabung infektiösen Materials entsprechend geschult sind.
- J. Bei Gewinnung, Versand, Lagerung und Vorbereitung der Patientenproben sind die in der Packungsbeilage beschriebenen Verfahren einzuhalten, um eine optimale Testleistung zu erzielen. Unsachgemäße(r) Gewinnung, Versand oder Lagerung von Patientenproben kann zu falschen Ergebnissen führen.
- K. Um die Probenintegrität zu wahren, müssen während des Probenversands die ordnungsgemäßen Lagerbedingungen aufrechterhalten werden. Die Probenstabilität unter anderen Versandbedingungen als den hier empfohlenen wurde nicht untersucht.
- L. Kreuzkontamination während der Probenhandhabungsschritte vermeiden. Insbesondere ist darauf zu achten, beim Lösen oder Entfernen von Kappen von Patientenproben eine Kontamination durch Verbreitung von Aerosolen zu vermeiden. Die Proben können sehr hohe Konzentrationen von Organismen aufweisen. Es ist sicherzustellen, dass die Probenbehälter nicht miteinander in Berührung kommen. Benutzte Materialien dürfen nicht über offene Behälter hinweg entsorgt werden. Handschuhe wechseln, wenn diese mit Proben in Kontakt gekommen sind.

Testbezogen

- M. Nach Ablauf des Verfallsdatums die Reagenzien- und Kalibratorkits nicht verwenden.
- N. Reagenzien aus Kits mit verschiedenen Chargennummern nicht austauschen, vermischen oder kombinieren. Assay-Flüssigkeiten können verschiedene Chargennummern aufweisen.

- O. Eine mikrobielle und Nuklease-Kontamination der Reagenzien ist zu vermeiden.
- P. Alle Assay-Reagenzien verschließen und bei den angegebenen Temperaturen lagern. Die Assay-Leistung kann durch Verwendung von falsch gelagerten Assayreagenzien beeinträchtigt werden. Siehe *Lagerungs- und Handhabungsbedingungen für Reagenzien und Testverfahren mit dem Panther System* für weitere Informationen.
- Q. Assay-Reagenzien oder Flüssigkeiten nur auf ausdrückliche Anweisung miteinander kombinieren. Reagenzien und Flüssigkeiten nicht nachfüllen. Das Panther System überprüft die Reagenzien-Füllstände.
- R. Einige Reagenzien dieses Kits tragen Gefahren- und Sicherheitszeichen und sind entsprechend zu handhaben.

Hinweis: Informationen zu eventuell für die Reagenzien geltenden Gefahren- und Sicherheitshinweisen sind in der Sicherheitsdatenblatt-Sammlung (Safety Data Sheet Library) unter www.hologicsds.com zu finden.

| | |
|--|---|
|  | <p>Amplifikationsreagenz WARNUNG H315: Verursacht Hautreizungen. H319: Verursacht schwere Augenreizung.</p> |
|  | <p>Enzymreagenz WARNUNG H315: Verursacht Hautreizungen. H319: Verursacht schwere Augenreizung. H412: Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung.</p> |
|   | <p>Selektionsreagenz <i>Borsäure 1–5 %</i> <i>Natriumhydroxid < 1 %</i> WARNUNG H315: Verursacht Hautreizungen. H319: Verursacht schwere Augenreizung. H371: Kann die Organe schädigen. H373: Schädigt die Organe bei längerer oder wiederholter Exposition. P264: Nach Gebrauch Gesicht, Hände und ungeschützte Hautpartien gründlich waschen. P280: Schutzhandschuhe / Schutzkleidung / Augenschutz / Gesichtsschutz tragen. P305 + P351 + P338: Bei Kontakt mit den Augen: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser ausspülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter ausspülen. P337 + P313: Bei anhaltender Augenreizung: Ärztlichen Rat einholen / ärztliche Hilfe hinzuziehen. P302 + P352: Bei Berührung mit der Haut: Mit viel Wasser und Seife waschen. P332 + P313: Bei Hautreizung: Ärztlichen Rat einholen / ärztliche Hilfe hinzuziehen. P362: Kontaminierte Kleidung ausziehen und vor erneutem Tragen waschen.</p> |

Lagerungs- und Handhabungsbedingungen für Reagenzien

- A. In der folgenden Tabelle sind die Lagerungsbedingungen und die Stabilität der Reagenzien und Kalibratoren aufgeführt.

| Reagenz | Lagerung im ungeöffneten Zustand | Offenes Kit (aufgetaut) ^a | |
|--------------------------------------|----------------------------------|--------------------------------------|--|
| | | Lagerung | Stabilität |
| Amplifikationsreagenz | -35 °C bis -15 °C | 2 °C bis 8 °C | 30 Tage ^b |
| Enzymreagenz | -35 °C bis -15 °C | 2 °C bis 8 °C | 30 Tage ^b |
| Sondenreagenz | -35 °C bis -15 °C | 2 °C bis 8 °C | 30 Tage ^b |
| Interne Kontrolle | -35 °C bis -15 °C | 15 °C bis 30 °C | 8 Stunden vor Mischen mit TCR |
| Target-Capture-Reagenz (TCR) | 2 °C bis 8 °C | n. z. | n. z. |
| Target-Capture-Arbeitsreagenz (wTCR) | n. z. | 2 °C bis 8 °C | 30 Tage ^b |
| Selektionsreagenz | 15 °C bis 30 °C | 15 °C bis 30 °C | 30 Tage ^b |
| Negativkalibrator (NCAL) | -35 °C bis -15 °C | n. z. | Fläschchen für den Einmalgebrauch Innerhalb von 8 Stunden verwenden |
| Positivkalibrator (PCAL) | -35 °C bis -15 °C | n. z. | Fläschchen für den Einmalgebrauch Innerhalb von 8 Stunden verwenden |

^a Die Lagerungsbedingungen und Stabilitätsangaben für offene Kits beruhen auf ähnlichen validierten Assays.

^b Wenn Reagenzien aus dem Panther System genommen werden, sind sie sofort wieder bei ihren jeweiligen Lagerungstemperaturen aufzubewahren.

- B. Alle unbenutzten, bereits angesetzten Reagenzien und das Target-Capture-Arbeitsreagenz nach 30 Tagen verwerfen.
- C. Im Panther System gelagerte Reagenzien sind im Gerät 120 Stunden (kumulativ) stabil. Das Laden von Reagenzien wird jedes Mal im Panther System-Protokoll vermerkt.
- D. Wenn sich während der Lagerung Niederschlag im Target-Capture-Reagenz (TCR) bildet, Anweisungen unter *Vorbereitung eines neuen Kits* beachten. Nicht mit dem Vortex-Mischer mischen. TCR nicht einfrieren.
- E. Interne Kontrolle, Amplifikations-, Enzym- und Sondenreagenz nach dem Auftauen nicht wieder einfrieren.
- F. Bei den Kalibratoren handelt es sich um Fläschchen für den Einmalgebrauch, die nach Gebrauch zu verwerfen sind.
- G. Wenn sich im Selektionsreagenz, Sondenreagenz, Negativkalibrator oder Positivkalibrator Niederschlag bildet, Anweisungen unter *Testverfahren mit dem Panther System* beachten.
- H. Veränderungen beim Aussehen der mitgelieferten Reagenzien können ein Hinweis auf Instabilität oder Qualitätsverlust sein. Wenn Veränderungen des Aussehens der Reagenzien festgestellt werden (sichtbare Farbveränderung oder Trübung ist z. B. ein Anzeichen für eine mikrobielle Kontamination), dürfen die Reagenzien nicht verwendet werden.

- I. Nach dem Auftauen der Kalibratoren muss die Lösung klar sein, d. h. keine Trübungen oder Präzipitate aufweisen.
- ⚠ J. Das Sondenreagenz ist lichtempfindlich. Dieses Reagenz ist lichtgeschützt zu lagern und für die Anwendung vorzubereiten.

Probenentnahme und -lagerung

Der Aptima Zika Virus Assay kann mit Serum-, Plasma- und behandelten Urinproben verwendet werden.

Eine behandelte Urinprobe ist reiner Urin, der in ein Urintransportmedium in einem Urintransportröhrchen gegeben wurde.

Hinweis: Alle Patientenproben sind als potenziell infektiös zu handhaben. Es sind allgemeine Vorsichtsmaßnahmen zu treffen.

Hinweis: Bei den Schritten, die eine Handhabung von Proben erfordern, darauf achten, dass es zu keiner Kreuzkontamination kommt. Benutztes Material ist beispielsweise so zu entsorgen, dass es nicht über geöffnete Röhrchen geführt wird. Es kann zu falsch-positiven Ergebnissen kommen, wenn bei Handhabung und Vorbereitung der Patientenproben einer Kreuzkontamination nicht ausreichend vorgebeugt wird.

Hinweis: Das Plasma- oder Serummindestvolumen für primäre Entnahmeröhrchen beträgt 1200 µl bzw. 700 µl bei Probenaliquotröhrchen (Specimen Aliquot Tubes, SATs), um das Reaktionsvolumen von 500 µl zu erreichen.

A. Anweisungen zur Probengewinnung

Die Anweisungen zur Probengewinnung in der Packungsbeilage des entsprechenden Probenentnahmekits beachten.

1. Plasma- und Serumproben

Es können in die folgenden Glas- oder Kunststoffröhrchen entnommene Vollblutproben gemäß Herstelleranweisung verwendet werden:

- Röhrchen, die Ethylendiamintetraacetat (EDTA), Acid-Citrate-Dextrose-Adenin (ACD-A) oder Natriumcitrat (NAC) als Antikoagulans enthalten
- Plasmapräparationsröhrchen (PPTs)
- Serumröhrchen
- Seruntrennröhrchen (SSTs)

Bei Serum ist vor der Weiterverarbeitung die Koagelbildung abzuwarten.

2. Urinproben

Urinproben müssen gemäß Herstelleranweisung gewonnen werden.

B. Probentransport und -lagerung vor dem Test

1. Plasma- und Serumproben

Plasma und Serum kann von der Entnahme bis zum Test insgesamt 13 Tage unter folgenden Bedingungen gelagert werden.

- Vollblutproben müssen innerhalb von 72 Stunden nach Entnahme zentrifugiert werden.

- Die Proben sollten bei 2 °C bis 8 °C gelagert werden, sofern sie nicht eingefroren wurden. Die Proben können jedoch 72 Stunden lang bei Temperaturen bis zu 25 °C und während dieser 72 Stunden bis zu 24 Stunden lang bei 30 °C gelagert werden.
- a. Wenn eine längere Lagerung erforderlich ist, Plasma und Serum von den Zellen getrennt einfrieren und bei -20 °C oder -70 °C lagern. Vollblut nicht einfrieren.
 - b. Bei Plasma- und Serumproben wurden nach dreimaligen Einfrieren und Wiederauftauen keine nachteiligen Auswirkungen auf die Assay-Leistung festgestellt.
 - c. Bei Plasma- und Serumproben sicherstellen, dass ein ausreichendes Probenvolumen oberhalb des Trenngels bzw. der Trennschicht zwischen Plasma und Erythrozyten vorhanden ist.
 - d. Proben mit sichtbaren Niederschlägen oder Fibrin müssen vor dem Testen durch 10 Minuten Zentrifugieren bei 1000 bis 3000 g geklärt werden.
2. Urinproben
- a. Urin muss innerhalb von 72 Stunden in ein Aptima Urintransportröhrchen, das ein Urintransportmedium enthält, überführt und gründlich gemischt werden. Weitere Hinweise siehe die Packungsbeilage des entsprechenden Probenentnahmekits.
 - b. Gemischte, behandelte Urinproben bei 2 °C oder 30 °C lagern und innerhalb von 30 Tagen nach Entnahme testen. Wenn eine längere Lagerung erforderlich ist, die behandelte Urinprobe bei -20 °C bis -70 °C einfrieren.
 - c. Bei behandelten Urinproben wurden nach dreimaligen Einfrieren und Wiederauftauen keine nachteiligen Auswirkungen auf die Assay-Leistung festgestellt.
 - d. Sicherstellen, dass ein ausreichendes Probenvolumen vorhanden ist.
 - e. Proben mit sichtbaren Niederschlägen oder Fibrin müssen vor dem Testen durch 10 Minuten Zentrifugieren bei 1000 bis 3000 g geklärt werden.
- C. Probenlagerung nach dem Test
1. Die bereits getesteten Proben müssen aufrecht stehend in einem Ständer gelagert werden.
 2. Die Probentransportgefäße sind mit einem neuen Barrierschutz aus sauberer Kunststoffolie zu verschließen.
 3. Wenn getestete Proben gefroren oder versandt werden müssen, neue Kappen auf die Probenröhrchen setzen. Wenn Proben zum Test an eine andere Einrichtung versendet werden müssen, müssen die empfohlenen Temperaturen eingehalten werden. Vor dem Entfernen der Kappe von bereits getesteten und wieder verschlossenen Proben müssen die Probenröhrchen kurz zentrifugiert werden (5 Minuten bei 500 g), um die gesamte Flüssigkeit zum Boden des Röhrchens zu bringen. **Spritzer und Kreuzkontamination vermeiden.**

Hinweis: Ein Versand der Patientenproben muss in Übereinstimmung mit geltenden nationalen, internationalen und regionalen Frachtbestimmungen erfolgen.

Panther™ System

Nachstehend sind die Reagenzien für den Aptima Zika Virus Assay für das Panther System aufgeführt. Die Symbole zur Identifikation der Reagenzien sind neben den Reagenzbezeichnungen angegeben.

Im Lieferumfang enthaltene Reagenzien und Materialien

Die Aptima Zika Virus Kalibratorkits müssen separat erworben werden. Siehe die jeweilige Kit-Bestellnummer nachstehend.

Aptima Zika Virus Assay-Kit, 1000 Tests (4 x 250 Tests) Best.-Nr. PRD-04232 (3 Assaykartons)

Aptima Zika Virus Assay-Karton

(nach Wareneingang bei -35 °C bis -15 °C lagern)

| Symbol | Komponente | Menge |
|-----------|--|-------------|
| A | Amplifikationsreagenz <i>Nicht-infektiöse Nukleinsäuren in Pufferlösung</i> | 4 x 26 ml |
| E | Enzymreagenz <i>Reverse Transkriptase und RNA-Polymerase in HEPES-Pufferlösung</i> | 4 x 13,4 ml |
| P | Sondenreagenz <i>Chemilumineszierende Sonden in sukzinatgepufferter Lösung</i> | 4 x 34,7 ml |
| IC | Internes Kontrollreagenz <i>HEPES-gepufferte Lösung mit Detergens und RNA-Transkript</i> | 4 x 2,8 ml |
| | Barcode-Blatt für Hauptcharge | 1 Blatt |

Aptima Zika Virus Assay-Karton

(nach Wareneingang bei 15 °C bis 30 °C lagern)

| Symbol | Komponente | Menge |
|----------|---|-----------|
| S | Selektionsreagenz <i>600 mM Boratpufferlösung mit oberflächenaktiver Substanz</i> | 4 x 91 ml |

Aptima Zika Virus Assay-Karton

(nach Wareneingang bei 2 °C bis 8 °C lagern)

| Symbol | Komponente | Menge |
|------------|--|------------|
| TCR | Target-Capture-Reagenz <i>Gepufferte Salzlösung mit nicht-infektiösen Nukleinsäuren in der Festphase</i> | 4 x 161 ml |

Erforderliche, jedoch nicht im Lieferumfang enthaltene Materialien

Hinweis: Materialien, die von Hologic erhältlich sind, sind mit der Bestellnummer aufgeführt, sofern nicht anders angegeben.

| Material | Best.- Nr. |
|--|--|
| Panther System | — |
| Aptima Assay-Flüssigkeitskit (auch als Universalflüssigkeitskit bezeichnet) <i>enthält Aptima Waschlösung, Aptima Puffer für Deaktivierungsflüssigkeit und Aptima Ölreagenz</i> | 303014 (1000 Tests) |
| Aptima Auto Detect Kit | 303013 (1000 Tests) |
| Multi-Röhrchen-Einheiten (MTUs) | 104772-02 |
| Panther Entsorgungsbeutel-Kit | 902731 |
| Panther Abfallabdeckung | 504405 |
| oder Panther System-Durchlaufkit <i>enthält MTUs, Entsorgungsbeutel, Abfallabdeckungen, Auto Detect und Assay-Flüssigkeiten</i> | 303096 (5000 Tests) |
| Spitzen, 1000 µL, leitfähig, zur Flüssigkeitsstandmessung | 10612513 (Tecan) |
| Aptima Zika Virus Kalibratorkit <i>NCAL: Negativkalibrator, gepufferte Lösung mit Detergens, 15 x 2,2 ml</i> <i>PCAL: Positivkalibrator, RNA-Transkript in gepufferter Lösung mit Detergens, 15 x 2,2 ml</i> | PRD-04233 |
| Bleichmittel, 5 % bis 7 % (0,7 M bis 1,0 M) Natriumhypochloritlösung | — |
| Ungepuderte Einweghandschuhe | — |
| Ersatzkappen, durchstechfest | 103036A |
| Reagenzien-Ersatzkappen für 250-Test-Flaschen <i>Amplifikations- und Sondenreagenz</i> <i>Enzymreagenz</i> <i>TCR und Selektionsreagenz</i> | <i>CL0041 (100 Kappen)</i> <i>501616 (100 Kappen)</i> <i>CL0040 (100 Kappen)</i> |
| Labortischunterlagen mit Kunststoffrückseite | — |
| Fusselfreie Tücher | — |
| Pipette | — |
| Spitzen | — |
| Es können primäre Blutentnahmeröhrchen mit folgenden Abmessungen verwendet werden: <i>13 mm x 100 mm</i> <i>13 mm x 75 mm</i> <i>16 mm x 100 mm</i> | — |
| Zentrifuge | — |
| Vortex-Mischer | — |

Optionale Materialien

| Material | Best.- Nr. |
|--|------------|
| Aptima Probenaliquotröhrchen (Specimen Aliquot Tubes, SAT) (100 St.) | 503762 |
| Kappe für Transportröhrchen (100 St.) <i>Kappe für SAT</i> | 504415 |
| Transferpipetten | — |
| Wattestäbchen | — |
| Wippschüttler für Röhrchen | — |
| Aptima Urinprobenentnahmekit | 301040 |
| Oder Aptima Urintransportröhrchen | 105575 |
| SB100™ Reagenzäquilibriersystem (SB100-RES) | — |
| Wasserbad | — |

Testverfahren mit dem Panther System

Hinweis: Nähere Verfahrensinformationen sind dem Panther System Operator's Manual (Bedienungsanleitung für das Panther System) zu entnehmen.

Hinweis: Informationen zur optionalen Reagenzvorbereitung sind dem SB100 Reagent Equilibration System Application Sheet (Anwendungshinweise zum SB100 Reagenzäquilibriersystem) zu entnehmen.

A. Vorbereitung des Arbeitsbereichs

1. Die Arbeitsflächen reinigen, auf denen die Reagenzien vorbereitet werden. Die Arbeitsflächen mit einer 2,5%igen bis 3,5%igen (0,35 M bis 0,5 M) Natriumhypochloritlösung abwischen. Die Natriumhypochloritlösung mindestens 1 Minute auf den Flächen einwirken lassen. Diese anschließend mit entionisiertem Wasser abspülen. Die Natriumhypochloritlösung darf nicht antrocknen. Die Labortischoberflächen mit sauberen, saugfähigen Labortischunterlagen mit Kunststoffrückseite abdecken.
2. Eine separate Arbeitsfläche, auf der die Proben vorbereitet werden, reinigen. Dabei wie oben beschrieben (Schritt A.1) vorgehen.
3. Alle Pipetten reinigen. Bei der Reinigung wie oben beschrieben (Schritt A.1) vorgehen.

B. Vorbereitung eines neuen Kits

Warnung: Übermäßige Schaumbildung in Reagenzien vermeiden. Schaum beeinträchtigt die Füllstandsmessung im Panther System.

Hinweis: Das Sondenreagenz ist lichtempfindlich. Dieses Reagenz ist lichtgeschützt zu lagern und zu handhaben.

Hinweis: Amplifikations-, Enzym- und Sondenreagenz können bei 2 °C bis 8 °C bis zu 24 Stunden vor der Reagenzvorbereitung aufgetaut werden.

Hinweis: Die interne Kontrolle kann bei 2 °C bis 8 °C bis zu 24 Stunden oder bei Raumtemperatur (15 °C bis 30 °C) bis zu 8 Stunden vor der wTCR-Vorbereitung aufgetaut werden.

Vorbereitung von Target-Capture-Reagenz (TCR), Amplifikations-, Enzym- und Sondenreagenz

1. Einen neuen Reagenziensatz aus der Lagerung nehmen. Die Chargennummern auf den Reagenzflaschen überprüfen, um sicherzustellen, dass sie mit den Chargennummern auf dem Hauptchargen-Barcodeblatt übereinstimmen.
2. Die Reagenzien mit einer der nachstehenden Vorgehensweisen auf Raumtemperatur (15 °C bis 30 °C) bringen:

Vorbereitung mit dem SB100-RES (Option 1)

1. Die TCR-Flasche **sofort** nach der Entnahme aus der Lagerung (2 °C bis 8 °C) kräftig durch Umdrehen mischen, um das Gel mit der Lösung zu vermischen (mindestens 10x umdrehen und bis kein Gel mehr am Boden vorhanden ist). Nicht mit dem Vortex-Mischer mischen.
2. TCR, Amplifikations-, Enzym- und Sondenreagenz mit dem SB100-RES-Gerät vorbereiten.
3. Beim Entladen der Reagenzien das Auftaudatum von Amplifikations-, Enzym- und Sondenreagenz im dafür vorgesehenen Feld auf dem jeweiligen Etikett notieren.

Vorbereitung mit Wasserbad (Option 2)

Warnung: Die Temperatur des Wasserbads darf 30 °C nicht übersteigen.

Hinweis: Zur Vorbereitung des TCR die Anweisungen zur Vorbereitung bei Raumtemperatur (15 °C bis 30 °C) beachten. Das TCR nicht im Wasserbad vorbereiten.

1. Amplifikations-, Enzym- und Sondenreagenz nach Entnahme aus der Lagerung (-35 °C bis -15 °C oder 2 °C bis 8 °C) aufrecht in ein eigenes Wasserbad mit Raumtemperatur (15 °C bis 30 °C) stellen. Die Reagenzien mindestens alle 10 Minuten vorsichtig umdrehen, um sie gründlich zu mischen, und einer Sichtkontrolle unterziehen, um sicherzustellen, dass sich die Niederschläge gelöst haben. So lange vorsichtig umdrehen und der Sichtkontrolle unterziehen, bis keine Niederschläge mehr vorhanden sind.
2. Sicherstellen, dass sich die Niederschläge gelöst haben. Das Reagenz nicht verwenden, wenn darin Gelbildung, Niederschlag oder eine Trübung vorhanden ist.
3. Das Auftaudatum von Amplifikations-, Enzym- und Sondenreagenz im dafür vorgesehenen Feld auf dem jeweiligen Etikett notieren.

Vorbereitung bei Raumtemperatur (Option 3)

Hinweis: Sondenreagenz aus Lagerung bei -35 °C bis -15 °C kann bei Raumtemperatur (15 °C bis 30 °C) und vorsichtigem Umdrehen mindestens alle 10 Minuten bis zu 4 Stunden brauchen, bis es vollständig aufgetaut ist.

1. Zum Vorbereiten des TCR wie folgt vorgehen:
 - a. Die TCR-Flasche **sofort** nach der Entnahme aus der Lagerung (2 °C bis 8 °C) kräftig durch Umdrehen mischen, um das Gel mit der Lösung zu vermischen (mindestens 10x umdrehen und bis kein Gel mehr am Boden vorhanden ist). Nicht mit dem Vortex-Mischer mischen.
 - b. Die TCR-Flasche mindestens 45 Minuten lang bei Raumtemperatur (15 °C bis 30 °C) erwärmen. Die TCR-Flasche mindestens alle 10 Minuten (insgesamt mindestens 10x) vorsichtig umdrehen, um sie gründlich zu mischen, und einer Sichtkontrolle unterziehen, um sicherzustellen, dass kein Gel vorhanden ist.

- c. Vor Gebrauch sicherstellen, dass das Gel gelöst ist und die Magnetpartikel suspendiert sind.

Hinweis: Wenn Gel vorhanden ist und sich nicht löst, das Material nicht verwenden. Die TCR-Flasche zur späteren Verwendung lagern (bei 2 °C bis 8 °C). Eine neue TCR-Flasche aus der Lagerung (2 °C bis 8 °C) nehmen und die Schritte 1.a bis 1.c wiederholen.

2. Zum Vorbereiten von Amplifikations-, Enzym- und Sondenreagenz wie folgt vorgehen:
 - a. Die Reagenzien nach Entnahme aus der Lagerung (-35 °C bis -15 °C oder 2 °C bis 8 °C) aufrecht bei Raumtemperatur (15 °C bis 30 °C) aufstellen. Die Reagenzien mindestens alle 10 Minuten vorsichtig umdrehen, um sie gründlich zu mischen, und einer Sichtkontrolle unterziehen, um sicherzustellen, dass sich die Niederschläge gelöst haben. Die Reagenzien so lange auftauen lassen, bis keine Niederschläge mehr vorhanden sind.
3. Sicherstellen, dass sich die Niederschläge gelöst haben. Das Reagenz nicht verwenden, wenn darin Gelbildung, Niederschlag oder eine Trübung vorhanden ist.
4. Das Auftaudatum von Amplifikations-, Enzym- und Sondenreagenz im dafür vorgesehenen Feld auf dem jeweiligen Etikett notieren.

Vorbereitung von interner Kontrolle und Target-Capture-Arbeitsreagenz (wTCR)

Hinweis: Zur Vorbereitung der internen Kontrolle nicht das SB100-RES-Gerät verwenden.

1. Zum Vorbereiten der internen Kontrolle wie folgt vorgehen:
 - a. Ein Röhrchen interne Kontrolle aus der Lagerung nehmen (-35 °C bis -15 °C oder 2 °C bis 8 °C).
 - b. Die interne Kontrolle nach Entnahme aus der Lagerung (-35 °C bis -15 °C oder 2 °C bis 8 °C) mindestens 30 Minuten lang bei Raumtemperatur (15 °C bis 30 °C) erwärmen.

Option: Das Röhrchen mit der internen Kontrolle kann in ein Wasserbad mit Raumtemperatur (15 °C bis 30 °C) gestellt werden.

- c. Das Röhrchen mit der internen Kontrolle mindestens alle 10 Minuten vorsichtig umdrehen, um es gründlich zu mischen, und einer Sichtkontrolle auf vorhandenes Gel unterziehen. Vor Gebrauch sicherstellen, dass das Gel gelöst ist.

Option: Das Röhrchen mit der internen Kontrolle kann während der Vorbereitung bei Raumtemperatur auf einen Wippschüttler gesetzt werden, um es gründlich zu mischen.

Hinweis: Wenn es zu einer Gelbildung kommt, muss das Gel vor Gebrauch und innerhalb der 8-stündigen Auftauphase bei Raumtemperatur (15 °C bis 30 °C) gelöst werden. Wenn vorhandenes Gel sich nicht löst, das Material nicht verwenden. Das Röhrchen verwerfen, ein neues Röhrchen interne Kontrolle aus der Lagerung nehmen und die Schritte 1.a bis 1.c wiederholen.

2. Zum Vorbereiten des wTCR wie folgt vorgehen:
 - a. Sobald das TCR gebrauchsbereit ist, den gesamten Inhalt des Röhrchens der internen Kontrolle in die TCR-Flasche geben. Die TCR-Flasche verschließen und durch vorsichtiges Umdrehen mischen.
 - b. Im dafür vorgesehenen Feld auf der TCR-Flasche das Datum, an dem die interne Kontrolle zugegeben wurde, das Verfallsdatum des wTCR (Datum der

Kontrollzugabe plus 30 Tage), die Chargennummer der internen Kontrolle (IC LOT) und die Initialen des Anwenders notieren.

- c. Das Röhrchen der internen Kontrolle aufbewahren, da es zum Einlesen des Barcodes in das Panther System benötigt wird.

Vorbereitung des Selektionsreagenzes

Hinweis: Nicht verwenden, wenn ein Niederschlag oder eine Trübung vorhanden ist.

1. Zum Vorbereiten des Selektionsreagenzes wie folgt vorgehen:
 - a. Eine Flasche Selektionsreagenz aus der Raumtemperatur-Lagerung (15 °C bis 30 °C) nehmen. Die Chargennummer auf der Reagenzflasche überprüfen, um sicherzustellen, dass sie mit der Chargennummer auf dem Hauptchargen-Barcodeblatt übereinstimmt.
 - b. Die Flasche durch vorsichtiges Umdrehen gründlich mischen und einer Sichtkontrolle unterziehen, um sicherzustellen, dass keine Niederschläge oder Trübungen vorhanden sind.
 - c. Das Datum der ersten Öffnung (Anbruchdatum) im dafür vorgesehenen Feld auf dem Etikett notieren.

Hinweis: Rekonditionierung des Selektionsreagenzes: Wenn das Selektionsreagenz versehentlich bei 2 °C bis 8 °C gelagert wird oder die Raumtemperatur im Labor unter 15 °C fällt, kann sich ein Niederschlag bilden. Wenn sich während der Lagerung ein Niederschlag im Selektionsreagenz bildet, das Reagenz maximal 45 Minuten lang bei 60 °C ±1 °C erwärmen und die Flasche dabei häufig mischen (alle 5 bis 10 Minuten). Sobald sich der gesamte Niederschlag wieder gelöst hat, die Flasche in ein Wasserbad mit Raumtemperatur (15 °C bis 30 °C) stellen und mindestens 1 Stunde lang äquilibrieren.

C. Vorbereitung der Kalibratoren

Hinweis: Beim Umdrehen von Kalibratoren übermäßige Schaumbildung vermeiden. Schaum beeinträchtigt die Füllstandsmessung im Panther System.

Hinweis: Zum Auftauen von Kalibratoren nicht das SB100-RES-Gerät verwenden.

1. Die Kalibratoren nach Entnahme aus der Lagerung (-35 °C bis -15 °C) mindestens 30 Minuten lang bei Raumtemperatur (15 °C bis 30 °C) erwärmen.

Option: Die Kalibratoren können zum Auftauen in ein Wasserbad mit Raumtemperatur (15 °C bis 30 °C) gesetzt werden.

2. Jedes Röhrchen mindestens alle 10 Minuten vorsichtig umdrehen, um es gründlich zu mischen. Darauf achten, dass der Röhrcheninhalt vor dem Gebrauch vollständig aufgetaut ist.

Option: Die Kalibratoren können während der Vorbereitung bei Raumtemperatur auf einen Wippschüttler gesetzt werden, um sie gründlich zu mischen.

3. Wenn eine Gelbildung festgestellt wird, das Röhrchen vorsichtig umdrehen, bis kein Gel mehr vorhanden ist.

Hinweis: Wenn es zu einer Gelbildung kommt, muss das Gel vor Gebrauch und innerhalb der 8-stündigen Auftauphase bei Raumtemperatur (15 °C bis 30 °C) gelöst werden. Wenn vorhandenes Gel sich nicht löst, das Material nicht verwenden. Das Röhrchen verwerfen, ein neues Kalibratörrohrchen aus der Lagerung nehmen und die Schritte C.1 bis C.3 wiederholen.

4. Wenn der Röhrcheninhalt vollständig aufgetaut ist, das Röhrchen außen mit einem sauberen, trockenen Einwegtuch abtrocknen.
5. Zur Verhinderung einer Kontamination die Röhrchen zu diesem Zeitpunkt nicht öffnen.

D. Reagenzienvorbereitung für bereits angesetzte Reagenzien

Vorbereitung von wTCR, Amplifikations-, Enzym- und Sondenreagenz

1. Das wTCR und die bereits angesetzten Reagenzien aus der Lagerung nehmen.
2. Die Reagenzien mit einer der nachstehenden Vorgehensweisen auf Raumtemperatur (15 °C bis 30 °C) bringen:

Vorbereitung mit dem SB100-RES (Option 1)

1. Die TCR-Flasche **sofort** nach der Entnahme aus der Lagerung (2 °C bis 8 °C) kräftig durch Umdrehen mischen, um das Gel mit der Lösung zu vermischen (mindestens 10x umdrehen und bis kein Gel mehr am Boden vorhanden ist). Nicht mit dem Vortex-Mischer mischen.
2. wTCR, Amplifikations-, Enzym- und Sondenreagenz mit dem SB100-RES-Gerät vorbereiten.

Vorbereitung mit Wasserbad (Option 2)

Warnung: Die Temperatur des Wasserbads darf 30 °C nicht übersteigen.

Hinweis: Zur Vorbereitung des wTCR die Anweisungen zur Vorbereitung bei Raumtemperatur (15 °C bis 30 °C) beachten. Das wTCR nicht im Wasserbad vorbereiten.

1. Amplifikations-, Enzym- und Sondenreagenz nach Entnahme aus der Lagerung (2 °C bis 8 °C) aufrecht in ein eigenes Wasserbad mit Raumtemperatur (15 °C bis 30 °C) stellen. Die Reagenzien mindestens alle 10 Minuten vorsichtig umdrehen, um sie gründlich zu mischen, und einer Sichtkontrolle unterziehen, um sicherzustellen, dass sich die Niederschläge gelöst haben. Die Reagenzien so lange auftauen lassen, bis keine Niederschläge mehr vorhanden sind.
2. Sicherstellen, dass sich die Niederschläge gelöst haben. Das Reagenz nicht verwenden, wenn darin Gelbildung, Niederschlag oder eine Trübung vorhanden ist.

Vorbereitung bei Raumtemperatur (Option 3)

1. Zum Vorbereiten des wTCR wie folgt vorgehen:
 - a. Die wTCR-Flasche **sofort** nach der Entnahme aus der Lagerung (2 °C bis 8 °C) kräftig durch Umdrehen mischen, um das Gel mit der Lösung zu vermischen (mindestens 10x umdrehen und bis kein Gel mehr am Boden vorhanden ist). Nicht mit dem Vortex-Mischer mischen.
 - b. Die wTCR-Flasche mindestens 45 Minuten lang bei Raumtemperatur (15 °C bis 30 °C) erwärmen. Die wTCR-Flasche mindestens alle 10 Minuten (insgesamt mindestens 10x) vorsichtig umdrehen, um sie gründlich zu mischen, und einer Sichtkontrolle unterziehen, um sicherzustellen, dass kein Gel vorhanden ist.
 - c. Vor Gebrauch sicherstellen, dass das Gel gelöst ist und die Magnetpartikel suspendiert sind.

Hinweis: Wenn Gel vorhanden ist und sich nicht löst, das Material nicht verwenden. Die wTCR-Flasche und die zugehörigen Reagenzien zur späteren Verwendung lagern (bei 2 °C bis 8 °C).

2. Zum Vorbereiten von Amplifikations-, Enzym- und Sondenreagenz wie folgt vorgehen:
 - a. Die Reagenzien nach Entnahme aus der Lagerung (2 °C bis 8 °C) aufrecht bei Raumtemperatur (15 °C bis 30 °C) aufstellen. Die Reagenzien mindestens alle 10 Minuten vorsichtig umdrehen, um sie gründlich zu mischen, und einer Sichtkontrolle unterziehen, um sicherzustellen, dass sich die Niederschläge gelöst haben. Die Reagenzien so lange auftauen lassen, bis keine Niederschläge mehr vorhanden sind.
3. Sicherstellen, dass sich die Niederschläge gelöst haben. Das Reagenz nicht verwenden, wenn darin Gelbildung, Niederschlag oder eine Trübung vorhanden ist.

Vorbereitung des Selektionsreagenzes

Hinweis: Nicht verwenden, wenn ein Niederschlag oder eine Trübung vorhanden ist.

1. Eine zugehörige Flasche Selektionsreagenz aus der Raumtemperatur-Lagerung (15 °C bis 30 °C) nehmen.
2. Die Flasche durch vorsichtiges Umdrehen gründlich mischen und einer Sichtkontrolle unterziehen, um sicherzustellen, dass keine Niederschläge oder Trübungen vorhanden sind.

Hinweis: *Rekonditionierung des Selektionsreagenzes: Wenn das Selektionsreagenz versehentlich bei 2 °C bis 8 °C gelagert wird oder die Raumtemperatur im Labor unter 15 °C fällt, kann sich ein Niederschlag bilden. Wenn sich während der Lagerung ein Niederschlag im Selektionsreagenz bildet, das Reagenz maximal 45 Minuten lang bei 60 °C ±1 °C erwärmen und die Flasche dabei häufig mischen (alle 5 bis 10 Minuten). Sobald sich der gesamte Niederschlag wieder gelöst hat, die Flasche in ein Wasserbad mit Raumtemperatur (15 °C bis 30 °C) stellen und mindestens 1 Stunde lang äquilibrieren.*

E. Probenhandhabung

1. Die Patientenproben und Kalibratoren vor der Verarbeitung auf eine Temperatur von 15 °C bis 30 °C bringen.
2. Sicherstellen, dass jedes Probenröhrchen ein ausreichendes Volumen für den jeweiligen Proben- und Röhrchentyp enthält.
3. Frische oder aufgetaute Proben gründlich mischen.
4. Jede Patientenprobe unmittelbar vor dem Laden in einen Probenständer 10 Minuten lang bei 1000 bis 3000 g zentrifugieren. Die Kappen nicht abnehmen. Luftblasen im Röhrchen stören die Füllstandsmessung des Panther Systems. Die Zentrifugierzeiten und -drehzahlen zum Abzentrifugieren aller Flüssigkeiten und Niederschläge müssen vom Anwender validiert werden. Wenn der Niederschlag nicht wieder in Lösung geht, mittels Sichtkontrolle sicherstellen, dass er nicht die Abgabe der Probe verhindert.

Informationen zum Laden des Ständers und zum Abnehmen der Kappen siehe *Vorbereitung des Systems*, Schritt F.2, nachstehend.

F. Vorbereitung des Systems

1. Das System entsprechend den Anweisungen im *Panther System Operator's Manual* (Bedienungsanleitung für das Panther System) und im Abschnitt „*Verfahrenshinweise*“ einrichten. Darauf achten, dass Reagenzienständer und TCR-Adapter geeigneter Größe verwendet werden.
2. Die Proben in den Probenständer laden. Für jedes Probenröhrchen (Patientenproben und ggf. Kalibrator) die folgenden Schritte durchführen:

- a. Die Kappe eines Probenröhrchens lösen, aber noch nicht abnehmen.
Hinweis: *Besonders darauf achten, eine Kontamination durch Aerosolausbreitung zu vermeiden. Die Kappen der Proben vorsichtig lösen.*
- b. Das Probenröhrchen in den Probenständer laden.
- c. Die Schritte 2.a und 2.b für jede verbleibende Probe wiederholen.
- d. Wenn die Proben in den Probenständer geladen sind, die Kappen von allen Probenröhrchen abnehmen und werfen. Zur Vermeidung von Kontamination die Kappen nicht über einen Probenständer oder ein Probenröhrchen führen.
Hinweis: *Die durchstechbaren Kappen von Aptima Urintransportröhrchen müssen ebenfalls abgenommen und verworfen werden.*
- e. Ggf. eine neue Einweg-Transferpipette verwenden, um etwaige Luftblasen oder Schaum zu entfernen.
- f. Wenn die letzte Kappe entfernt wurde, den Probenständer in ein Probenfach laden.
Hinweis: *Bei gleichzeitiger Analyse anderer Assays und Probenarten den Probenhalter sichern, bevor der Probenständer in ein Probenfach geladen wird.*
- g. Die Schritte 2.a bis 2.f für den nächsten Probenständer wiederholen.

Verfahrenshinweise

A. Kalibratoren

1. Die Kalibratorröhrchen können in beliebige Positionen im Probenständer und beliebige Probenfachbahnen auf dem Panther System geladen werden. Die Pipettierung der Proben beginnt, wenn eine der beiden folgenden Bedingungen erfüllt ist:
 - a. Die Kalibratoren werden derzeit vom System verarbeitet.
 - b. Es sind gültige Ergebnisse für die Kalibratoren auf dem System registriert.
2. Sobald die Kalibratorröhrchen pipettiert wurden und mit dem Reagenzien-Kit für den Aptima Zika Virus Assay verarbeitet werden, können bis zu 24 Stunden lang Patientenproben mit dem zugehörigen Kit getestet werden, **es sei denn:**
 - a. Die Kalibratorergebnisse sind ungültig.
 - b. Das zugehörige Assay-Reagenzien-Kit wird aus dem System genommen.
 - c. Das zugehörige Assay-Reagenzien-Kit hat die Stabilitätsgrenze überschritten.
3. Jedes Kalibratorröhrchen kann nur einmal verwendet werden. Wenn versucht wird, mehr als einmal aus dem Röhrchen zu pipettieren, kann es zu Verarbeitungsfehlern kommen.

B. Handschuhpuder

Wie bei jedem Reagenzsystem kann übermäßiger Puder auf manchen Handschuhen eine Kontamination geöffneter Röhrchen verursachen. Es werden ungepuderte Handschuhe empfohlen.

Qualitätskontrolle

Annahmekriterien für den Aptima Zika Virus Assay

A. Gültigkeit des Assay-Laufs

Ein Lauf (auch als Arbeitsliste bezeichnet) ist gültig, wenn die Mindestanzahl von Kalibratoren ihre Annahmekriterien erfüllen und gültig sind (siehe *Annahmekriterien für die Kalibration und Berechnung des Grenzwerts (cutoff)*).

1. Bei einem Aptima Zika Virus Assay Lauf müssen mindestens vier der sechs Kalibratorreplikate gültig sein. Mindestens zwei der drei Negativkalibrator-Replikate und zwei der drei Positivkalibrator-Replikate müssen gültig sein.
2. Kalibrator-Annahmekriterien werden automatisch von der Software des Panther Systems verifiziert. Wenn weniger als die Mindestanzahl an Kalibratorreplikaten gültig sind, erklärt die Software den Lauf automatisch für ungültig.
3. Bei einem gültigen Lauf werden automatisch Grenzwerte für die interne Kontrolle (Flasher) und den Analyten (Glower) berechnet.
4. Bei einem ungültigen Lauf werden die Probenergebnisse als ungültig berichtet, und alle Proben müssen erneut getestet werden.

B. Probengültigkeit

1. In einem gültigen Lauf ist ein Probenergebnis gültig, wenn das IC-Signal auf oder über dem Grenzwert der internen Kontrolle (IC) liegt, mit Ausnahme folgender Fälle:
 - a. Proben, bei denen das Analytsignal (Glower-Signal) über dem Analyt-Grenzwert liegt, werden auch dann nicht für ungültig erklärt, wenn das IC-Signal unter dem Grenzwert liegt.
 - b. Proben mit einem IC-Signal über 750.000 RLU werden von der Software für ungültig erklärt und ihr Reaktionsstatus kann nicht beurteilt werden. Positivkalibratoren mit einem IC-Signal über 750.000 RLU erklärt die Software ebenfalls automatisch für ungültig.
2. Proben können außerdem aufgrund von Geräte- oder Ergebnisverarbeitungsfehlern für ungültig erklärt werden. Weitere Informationen sind dem *Panther System Operator's Manual* (Bedienungsanleitung für das Panther System) zu entnehmen.
3. Alle ungültigen Probenergebnisse in einem gültigen Lauf müssen erneut getestet werden.

Annahmekriterien für die Kalibration und Berechnung des Grenzwerts (cutoff)

A. Annahmekriterien für den Negativkalibrator

Der Negativkalibrator (NC) wird beim Aptima Zika Virus Assay in drei Replikaten getestet. Bei jedem einzelnen Negativkalibrator-Replikat muss der Wert der internen Kontrolle (IC) im Bereich von 50.000 RLU bis 500.000 RLU liegen. Bei jedem einzelnen Negativkalibrator-Replikat muss außerdem der Wert des Analyten im Bereich von 0 RLU bis 40.000 RLU liegen. Wenn einer der Negativkalibrator-Replikatwerte ungültig ist, weil ein IC- oder Analytwert außerhalb dieser Grenzen liegt, wird der Negativkalibrator-Mittelwert (NC_x) anhand der beiden gültigen Werte neu berechnet. Der Lauf ist ungültig und muss wiederholt werden, wenn bei mindestens zwei der drei Negativkalibrator-Replikatwerte die IC- oder Analytwerte außerhalb dieser Grenzen liegen.

Bestimmung des Negativkalibrator-Mittelwerts (NC_x) für die interne Kontrolle [NC_x (interne Kontrolle)]

Beispiel:

| Negativkalibrator | Interne Kontrolle Relative Lichteinheiten |
|------------------------------|--|
| 1 | 235.000 |
| 2 | 200.000 |
| 3 | 210.000 |
| Gesamt-RLU interne Kontrolle | = 645.000 |

$$NC_x \text{ (interne Kontrolle)} = \frac{\text{Gesamt-RLU interne Kontrolle}}{3} = 215.000$$

Bestimmung des Negativkalibrator-Mittelwerts (NC_x) für den Analyten [NC_x (Analyt)]

Beispiel:

| Negativkalibrator | Analyt Relative Lichteinheiten |
|-------------------|-----------------------------------|
| 1 | 14.000 |
| 2 | 16.000 |
| 3 | 15.000 |
| Gesamt-RLU Analyt | = 45.000 |

$$NC_x \text{ (Analyt)} = \frac{\text{Gesamt-RLU Analyt}}{3} = 15.000$$

B. Annahmekriterien für den Positivkalibrator

Der Positivkalibrator (PC) wird beim Aptima Zika Virus Assay in drei Replikaten getestet. Die einzelnen Positivkalibrator-Analytwerte müssen im Bereich von 400.000 RLU bis 4.000.000 RLU liegen. Die IC-Werte dürfen 750.000 RLU nicht überschreiten. Wenn einer der Positivkalibrator-Replikatwerte außerhalb dieser Grenzen liegt, wird der Positivkalibrator-Mittelwert (PC_x) anhand der beiden akzeptablen Positivkalibrator-Replikatwerte neu berechnet. Der Lauf ist ungültig und muss wiederholt werden, wenn mindestens zwei der drei Positivkalibrator-Replikatwerte außerhalb dieser Grenzen liegen.

Bestimmung des Positivkalibrator-Mittelwerts (PC_x) für den Analyten [NC_x (Analyt)]

Beispiel:

| Positivkalibrator | Analyt Relative Lichteinheiten |
|-------------------|--------------------------------------|
| 1 | 1.250.000 |
| 2 | 1.500.000 |
| 3 | 1.150.000 |
| Gesamt-RLU Analyt | = 3.900.000 |

$$PC_x \text{ (Analyt)} = \frac{\text{Gesamt-RLU Analyt}}{3} = 1.300.000$$

C. Berechnung des Grenzwerts für die interne Kontrolle

$$\text{Grenzwert für interne Kontrolle} = 0,5 \times [\text{NC}_x \text{ (interne Kontrolle)}]$$

Bei Verwendung der Werte aus dem obigen Negativkalibrator-Beispiel:

$$\text{Grenzwert für interne Kontrolle} = 0,5 \times 215.000$$

$$\text{Grenzwert für interne Kontrolle} = 107.500 \text{ RLU}$$

D. Berechnung des Grenzwerts für den Zika-Virus-Analyten

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

Bei Verwendung der Werte aus den obigen Negativkalibrator- und Positivkalibrator-Beispielen:

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

$$\text{Analyt-Grenzwert} = 54.000 \text{ RLU}$$

E. Zusammenfassung der Annahmekriterien für den Aptima Zika Virus Assay

| Annahmekriterien | |
|--------------------------|---|
| Negativkalibrator | |
| Analyt | ≥ 0 und ≤ 40.000 RLU |
| Interne Kontrolle | ≥ 50.000 und ≤ 500.000 RLU |
| Positivkalibrator | |
| Analyt | ≥ 400.000 und $\leq 4.000.000$ RLU |
| Interne Kontrolle | ≤ 750.000 RLU |

F. Zusammenfassung der Berechnung der Grenzwerte für den Aptima Zika Virus Assay

$$\text{Analyt-Grenzwert} = \text{NC-RLU-Mittelwert Analyt} + [0,03 \times (\text{PC-RLU-Mittelwert Analyt})]$$

$$\text{Grenzwert für interne Kontrolle} = 0,5 \times (\text{Negativkalibrator-RLU-Mittelwert IC})$$

Interpretation der Ergebnisse

Alle oben beschriebenen Berechnungen werden von der Software des Panther Systems durchgeführt. Für jeden Assay werden zwei Grenzwerte bestimmt: einer für das Analytsignal (Glower-Signal), als Analyt-Grenzwert bezeichnet, und einer für das Signal der internen Kontrolle (Flasher-Signal), als Grenzwert für interne Kontrolle bezeichnet. Die Berechnung dieser Grenzwerte ist oben dargestellt. Für jede Probe wird ein RLU-Wert des Analytsignals und ein RLU-Wert des Signals der internen Kontrolle bestimmt. Der RLU-Wert des Analytsignals geteilt durch den Analyt-Grenzwert wird im Bericht als Analyt-Signal/Grenzwert (S/CO, Signal/Cutoff) abgekürzt.

Eine Probe ist negativ, wenn das Analytsignal kleiner als der Analyt-Grenzwert ist (d. h. $\text{Analyt-S/CO} < 1,00$) und das Signal der internen Kontrolle (IC) größer oder gleich dem Grenzwert für die interne Kontrolle (IC-Grenzwert) und kleiner oder gleich 750.000 RLU ist. Eine Probe ist positiv, wenn das Analytsignal größer oder gleich dem Analyt-Grenzwert ist (d. h. $\text{Analyt-S/CO} \geq 1,00$) und das IC-Signal kleiner oder gleich 750.000 RLU ist. Die Ergebnisse werden von der Software angegeben. Eine Probe ist ungültig, wenn das Analytsignal kleiner als der Analyt-Grenzwert ist (d. h. $\text{Analyt-S/CO} < 1,00$) und das Signal der internen Kontrolle kleiner als der Grenzwert für die interne Kontrolle ist. Jede Probe, bei der die Werte der internen Kontrolle größer als 750.000 RLU sind, wird als ungültig betrachtet.

Zusammenfassung der Probenauswertung

| Probenauswertung | Kriterien |
|-------------------------|--|
| Negativ | $\text{AnalytS/CO} < 1,00$ und $\text{IC} \geq \text{IC-Grenzwert}$ und $\text{IC} \leq 750.000 \text{ RLU}$ |
| Positiv | $\text{Analyt-S/CO} \geq 1,00$ und $\text{IC} \leq 750.000 \text{ RLU}^*$ |
| Ungültig | $\text{IC} > 750.000 \text{ RLU}$ oder $\text{AnalytS/CO} < 1,00$ und $\text{IC} < \text{Grenzwert}$ |

* Proben, deren IC-Signal größer ist als 750.000 RLU, werden von der Software für ungültig erklärt.

- A. Alle Proben, die im Aptima Zika Virus Assay die Interpretation „Ungültig“ erhalten, müssen als Einfachbestimmung erneut getestet werden.
- B. Proben im Aptima Zika Virus Assay, bei denen die interne Kontrolle gültig und der Analyt-S/CO kleiner als 1,00 ist, gelten als negativ auf ZIKV-RNA.
- C. Proben, bei denen der Analyt-S/CO größer oder gleich 1,00 und das IC-Signal kleiner oder gleich 750.000 RLU ist, gelten als positiv auf ZIKV-RNA.

Einschränkungen

- A. Dieser Test darf nur von Mitarbeitern durchgeführt werden, die im Verfahren unterwiesen wurden. Eine Nichtbefolgung der Anweisungen in dieser Packungsbeilage kann fehlerhafte Ergebnisse zur Folge haben.
- B. Zuverlässige Ergebnisse hängen von der sachgemäßen Gewinnung, dem sachgemäßen Transport und der sachgemäßen Lagerung und Vorbereitung der Patientenproben ab.
- C. Die Auswirkungen einer Langzeitlagerung der Patientenproben auf die Leistung des Aptima Zika Virus Assay wurden nicht vollständig untersucht.
- D. Es besteht die seltene Möglichkeit, dass Mutationen in den hoch konservierten Regionen des Virusgenoms, in denen die Primer und/oder Sonden im Aptima Zika Virus Assay binden, den Assay stören und daher das Virus nicht nachgewiesen werden kann.
- E. Dieser Assay ist ausschließlich zur Verwendung auf dem Panther System vorgesehen.
- F. Die Kreuzkontamination von Patientenproben kann zu falsch-positiven Ergebnissen führen.
- G. Bei der Durchführung der Assays und der Interpretation der Ergebnisse müssen die beschriebenen Vorgehensweisen eingehalten werden.
- H. Abweichungen von diesen Vorgehensweisen, falsche Versand- und/oder Lagerbedingungen oder die Verwendung von verfallenen Reagenzien können zu unzuverlässigen Ergebnissen führen.
- I. Das Nichterreichen der erwarteten Ergebnisse ist ein Hinweis auf einen ungültigen Lauf. Mögliche Fehlerquellen sind unter anderem Qualitätsverlust des Test-Kits, fehlerhafte Gerätefunktion, Qualitätsverlust der Probe und Kontamination von Reagenzien.
- J. Dieser Assay wurde nur mit den angegebenen Probenarten getestet. Die Leistung mit anderen Probenarten wurde nicht untersucht.
- K. Die Ergebnisse des Aptima Zika Virus Assay müssen in Verbindung mit anderen, dem Arzt verfügbaren klinischen Daten beurteilt werden.
- L. Ein negatives Ergebnis schließt eine mögliche Infektion nicht aus, weil die Ergebnisse von der sachgemäßen Probengewinnung abhängen. Die Testergebnisse können durch eine unsachgemäße Probengewinnung, technische Fehler, Probenverwechslung oder Target-Konzentrationen unter der Nachweisgrenze des Tests beeinträchtigt werden.
- M. Der Aptima Zika Virus Assay liefert qualitative Ergebnisse. Daher kann keine Korrelation zwischen der Größe eines positiven Testmesssignals und der Anzahl der Organismen in einer Probe aufgestellt werden.
- N. LIS-Transferverfahren müssen vom Kunden eigenständig validiert werden.

Performance

Analytische Sensitivität

Nachweisgrenze bei Plasmaproben

Die Nachweisgrenze (Limit of Detection, LoD) des Assay ist definiert als die ZIKV-RNA-Konzentration, die gemäß CLSI EP17-A2 mit einer Wahrscheinlichkeit vom mindestens 95 % festgestellt wird.²⁰ Zur Bestimmung der LoD wurde eine ZIKV-positive Plasmaprobe getestet, die seriell in defibriniertem, delipidierten Humanplasma verdünnt wurde. Die positive Plasmaprobe wurde während des Zika-Ausbruchs in Brasilien im Jahr 2015 bei einem Blutspender gewonnen. Es wurden zwei Reagenzchargen und drei Panther Geräte verwendet, um je Reagenzcharge 72 Replikate jeder Kopienkonzentration und somit insgesamt 144 Replikate je Konzentration zu testen, ausgenommen die Panelprobe mit 90 Kopien/ml, die in 20 Replikaten je Reagenzcharge und somit insgesamt in 40 Replikaten getestet wurde. Die Ergebnisse sind in Tabelle 1 zusammengestellt.

Tabelle 1: Nachweis von ZIKV in Plasma

| Konzentration (Kopien/ml) | % positiv (95%-KI) | | |
|------------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| | Charge 1 (n = 72) | Charge 2 (n = 72) | Kombiniert (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) |

KI = Konfidenzintervall

^an = 20

^bn = 40

Die Wahrscheinlichkeiten von 50 % und 95 % des Nachweises von ZIKV in Plasma wurden mittels Probit-Analyse unter Verwendung der Daten aus der Untersuchung der analytischen Sensitivität bestimmt. Die Nachweisgrenze für ZIKV im Aptima Zika Virus Assay lag bei der Nachweiswahrscheinlichkeit von 50 % zwischen 0,91 Kopien/ml und 1,22 Kopien/ml und bei der Nachweiswahrscheinlichkeit von 95 % zwischen 3,30 Kopien/ml und 4,41 Kopien/ml (Tabelle 2).

Tabelle 2: Probit-Analyse des Nachweises von ZIKV in Plasma

| Reagenzcharge | Nachweisgrenze 50 % (95%-Konfidenzgrenzen) | Nachweisgrenze 95 % (95%-Konfidenzgrenzen) |
|---------------|---|---|
| Charge 1 | 1,22 (1,01–1,47) | 4,41 (3,46–6,14) |
| Charge 2 | 0,91 (0,74–1,09) | 3,30 (2,63–4,44) |
| Kombiniert | 1,06 (0,92–1,20) | 3,87 (3,25–4,78) |

Nachweisgrenze bei Urinproben

Zur Bestimmung der LoD wurde eine ZIKV-positive Plasmaprobe getestet, die seriell in negativem Pool-Urin verdünnt wurde. Zur Herstellung der Proben für das Urin-Sensitivitätspanel wurde Urin mit der ZIKV-positiven Plasmaprobe in der angegebenen Konzentration beimpft, bevor er im Verhältnis 1:1 mit UTM gemischt wurde (behandelter Urin). Es wurden zwei Reagenzchargen und drei Panther Geräte verwendet, um je Reagenzcharge 30 Replikate jeder Kopienkonzentration und somit insgesamt 60 Replikate je Konzentration zu testen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 3 zusammengestellt.

Tabelle 3: Nachweis von ZIKV in Urin

| Konzentration ^a (Kopien/ml) | % positiv (95%-KI) | | |
|---|--------------------|-------------------|--------------------|
| | Charge 1 (n = 30) | Charge 2 (n = 30) | Kombiniert (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) |

KI = Konfidenzintervall

^a Konzentration im Urin vor der Behandlung.

Die Wahrscheinlichkeiten von 50 % und 95 % des Nachweises von ZIKV in Urin wurden mittels Probit-Analyse unter Verwendung der Daten aus der Untersuchung der analytischen Sensitivität bestimmt. Die Nachweisgrenze für ZIKV im Aptima Zika Virus Assay lag bei der Nachweiswahrscheinlichkeit von 50 % zwischen 2,26 Kopien/ml und 3,42 Kopien/ml und bei der Nachweiswahrscheinlichkeit von 95 % zwischen 8,25 Kopien/ml und 15,63 Kopien/ml (Tabelle 4).

Tabelle 4: Probit-Analyse des Nachweises von ZIKV in Urin^a

| Reagenzcharge | Nachweisgrenze 50 % (95%-Konfidenzgrenzen) | Nachweisgrenze 95 % (95%-Konfidenzgrenzen) |
|---------------|---|---|
| Charge 1 | 2,26 (1,67–3,00) | 8,25 (5,89–13,53) |
| Charge 2 | 3,42 (2,42–4,64) | 15,63 (10,70–27,30) |
| Kombiniert | 2,81 (2,23–3,47) | 11,99 (9,17–17,04) |

^a Konzentration im Urin vor der Behandlung.

Reproduzierbarkeit

Reproduzierbarkeit bei Blutproben

Zur Beurteilung der Reproduzierbarkeit des Aptima Zika Virus Assay auf dem Panther System wurde ein ZIKV-Panel mit Positiv-Panelproben mit 100 Kopien/ml und 30 Kopien/ml sowie eine aus Negativplasma hergestellte Negativ-Panelprobe getestet (Tabelle 5). Zur Herstellung der Positiv-Panelproben wurde Negativplasma mit einer ZIKV-positiven Plasmaprobe beimpft. Das Panel wurde von drei Anwendern mit drei verschiedenen

Reagenzchargen auf drei Panther Systemen in einem Zeitraum von mehreren Tagen getestet. Es wurden insgesamt 27 gültige Läufe mit dem Aptima Zika Virus Assay generiert. Jede Panelprobe wurde in insgesamt 486 Replikaten getestet. Die Gesamtrate der ungültigen Replikate betrug 0 % (0/1458).

Die Reproduzierbarkeitsanalyse umfasste eine Auswertung der prozentualen Übereinstimmung und des mittleren Signal/Grenzwert-(S/CO-)Verhältnisses der Panelproben sowie eine Auswertung der Standardabweichung (SD) und des prozentualen Variationskoeffizienten (% VK) der S/CO-Verhältnisse für jeden der fünf Varianzfaktoren (Tabelle 5). Bei den Positiv-Panelproben wurde das mittlere Analyt-S/CO-Verhältnis, bei der Negativ-Panelprobe das mittlere S/CO-Verhältnis der internen Kontrolle analysiert. Die prozentuale Übereinstimmung zwischen den Assay-Ergebnissen und dem tatsächlichen Status der einzelnen Panelproben wurde anhand des Analyt-S/CO aller Panelproben berechnet.

Die prozentuale Gesamtübereinstimmung der Testergebnisse betrug bei den Positiv-Panelproben 100 % und bei der Negativ-Panelprobe ebenfalls 100 %. Es gab keine Korrelation zwischen der Reaktivrate und den Varianzfaktoren, die in dieser Untersuchung getestet wurden. Im Hinblick auf die Signalstreuung hatte die laufinterne Streuung den größten Einfluss auf die Gesamtvarianz (gemessen anhand der SD-Werte) des Aptima Zika Virus Assay.

Tabelle 5: Reproduzierbarkeit des Aptima Zika Virus Assay bei Blutproben

| Panelement | N | Anz. pos. | % Ü | Mittl. S/CO ^a | Zwischen Chargen | | Zwischen Geräten | | Zwischen Anwendern | | Zwischen Tagen | | Laufintern | | Gesamt | |
|------------------------|-----|-----------|-----|--------------------------|------------------|------|------------------|------|--------------------|------|----------------|------|------------|------|--------|------|
| | | | | | SD | % VK | SD | % VK | SD | % VK | SD | % VK | SD | % VK | SD | % VK |
| Hoch (100 Kopien/ml) | 486 | 486 | 100 | 33,22 | 0,02 | 0 % | 0,34 | 1 % | 0,17 | 1 % | 0,12 | 0 % | 1,33 | 4 % | 1,38 | 4 % |
| Niedrig (30 Kopien/ml) | 486 | 486 | 100 | 33,35 | 0,17 | 1 % | 0,27 | 1 % | 0,08 | 0 % | 0,08 | 0 % | 1,27 | 4 % | 1,31 | 4 % |
| Negativ | 486 | 0 | 100 | 1,94 | 0,02 | 1 % | 0,01 | 1 % | 0,01 | 0 % | 0,00 | 0 % | 0,05 | 2 % | 0,05 | 3 % |

N = Anzahl der für diese Analyse kombinierten Panelproben; Anz. pos. = Anzahl der Positivproben; % Ü = prozentuale Übereinstimmung; S/CO = Verhältnis Signal/Grenzwert nur bei reaktiven Replikaten; SD = Standardabweichung; VK = Variationskoeffizient

^a Bei den Positiv-Panelproben wurde das mittlere Analyt-S/CO-Verhältnis, bei der Negativ-Panelprobe das mittlere S/CO-Verhältnis der internen Kontrolle analysiert.

Reproduzierbarkeit bei Urinproben

Zur Beurteilung der Reproduzierbarkeit des Aptima Zika Virus Assay auf dem Panther System wurde ein ZIKV-Panel mit Positiv-Panelproben mit 100 Kopien/ml und 30 Kopien/ml sowie eine aus negativem Pool-Urin hergestellte Negativ-Panelprobe getestet (Tabelle 6). Zur Herstellung der Positiv-Panelproben wurde negativer Pool-Urin mit einer ZIKV-positiven Plasmaprobe in der angegebenen Konzentration beimpft. Alle Panelproben wurden im Verhältnis 1:1 mit UTM gemischt, um Reproduzierbarkeitspanels von behandeltem Urin herzustellen. Das Panel wurde von drei Anwendern mit drei verschiedenen Reagenzchargen auf drei Panther Systemen in einem Zeitraum von mehreren Tagen getestet. Es wurden insgesamt 27 gültige Läufe mit dem Aptima Zika Virus Assay generiert. Jede Panelprobe wurde in insgesamt 486 Replikaten getestet. Die Gesamtrate der ungültigen Replikate betrug 0 % (0/1458).

Die Reproduzierbarkeitsanalyse umfasste eine Auswertung der prozentualen Übereinstimmung und des mittleren Signal/Grenzwert-(S/CO-)Verhältnisses der Panelproben sowie eine Auswertung der Standardabweichung (SD) und des prozentualen Variationskoeffizienten (% VK) der S/CO-Verhältnisse für jeden der fünf Varianzfaktoren

(Tabelle 6). Bei den Positiv-Panelproben wurde das mittlere Analyt-S/CO-Verhältnis, bei der Negativ-Panelprobe das mittlere S/CO-Verhältnis der internen Kontrolle analysiert. Die prozentuale Übereinstimmung zwischen den Assay-Ergebnissen und dem tatsächlichen Status der einzelnen Panelproben wurde anhand des Analyt-S/CO aller Panelproben berechnet.

Die prozentuale Gesamtübereinstimmung der Testergebnisse betrug bei den stark positiven Panelproben 100 %, bei den schwach positiven Panelproben 96,5 % und bei der Negativ-Panelprobe 100 %. Es gab keine Korrelation zwischen der Reaktivrate und den Varianzfaktoren, die in dieser Untersuchung getestet wurden. Im Hinblick auf die Signalstreuung hatte die laufinterne Streuung den größten Einfluss auf die Gesamtvarianz (gemessen anhand der SD-Werte) des Aptima Zika Virus Assay.

Tabelle 6: Reproduzierbarkeit des Aptima Zika Virus Assay bei Urinproben

| Panelprobe ^a | N | Anz. pos. | % Ü | Mittl. S/CO ^b | Zwischen Chargen | | Zwischen Geräten | | Zwischen Anwendern | | Zwischen Tagen | | Laufintern | | Gesamt | |
|-------------------------|-----|-----------|------|--------------------------|------------------|------|------------------|------|--------------------|------|----------------|------|------------|------|--------|------|
| | | | | | SD | % VK | SD | % VK | SD | % VK | SD | % VK | SD | % VK | SD | % VK |
| Hoch (100 Kopien/ml) | 486 | 486 | 100 | 34,36 | 0,09 | 0 % | 0,25 | 1 % | 0,08 | 0 % | 0,07 | 0 % | 1,31 | 4 % | 1,34 | 4 % |
| Niedrig (30 Kopien/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 % |
| Negativ | 486 | 0 | 100 | 1,99 | 0,02 | 1 % | 0,01 | 1 % | 0,02 | 1 % | 0,01 | 0 % | 0,04 | 2 % | 0,05 | 2 % |

N = Anzahl der für diese Analyse kombinierten Panelproben; Anz. pos. = Anzahl der Positivproben; % Ü = prozentuale Übereinstimmung; S/CO = Verhältnis Signal/Grenzwert nur bei reaktiven Replikaten; SD = Standardabweichung; VK = Variationskoeffizient

^a Konzentration im Urin vor der Behandlung.

^b Bei den Positiv-Panelproben wurde das mittlere Verhältnis Analyt-S/CO, bei der Negativ-Panelprobe das mittlere S/CO-Verhältnis der internen Kontrolle analysiert.

Interferenz

Störsubstanzen bei Blutproben

Das Potenzial von Interferenzen durch endogene Substanzen wurde durch Testung von Proben von Patienten mit Autoimmun- und anderen Erkrankungen untersucht. Es wurden jeweils zehn Plasmaproben mit folgenden Eigenschaften bzw. von Patientengruppen mit folgenden Autoimmun- und anderen Erkrankungen getestet: Ikterus, Lipämie, Hämolyse, antinukleäre Antikörper, multiples Myelom, systemischer Lupus erythematodes und Rheumafaktor. Jede Probe wurde in zwei Aliquots aufgeteilt. Ein Aliquot wurde mit ZIKV-positivem Plasma auf eine Konzentration von 18 Kopien/ml beimpft. Die beimpften und die unbeimpften Proben wurden mit dem Aptima Zika Virus Assay getestet. Alle unbeimpften Proben waren negativ. Alle beimpften Proben, mit Ausnahme eines beimpften Aliquots von einem Patienten mit systemischem Lupus erythematodes, waren positiv. Es wurde ein frisches Aliquot dieser Probe beimpft und erneut getestet. Das Ergebnis des erneuten Tests war positiv.

Das Potenzial für Interferenzen durch endogene Substanzen wurde des Weiteren durch Testung von Plasma untersucht, das mit folgenden Substanzen versetzt worden war: Albumin (60.000 mg/l), Hämoglobin (2.000 mg/l), Bilirubin (200 mg/l), Lipide (30.000 mg/l). Bei der Auswertung der Spezifität und Sensitivität wurde keine Interferenz festgestellt.

Zur Untersuchung der Interferenz durch Antikoagulanzen und Entnahmeröhrchen wurde die Leistung von Serum- und Plasmaproben im Aptima Zika Virus Assay verglichen. Blut von 10 gesunden Spendern wurde mit folgenden Antikoagulanzen und Röhrchentypen

gewonnen: 1) Dikalium-Ethylendiamintetraacetat (K2-EDTA), 2) Trikalium-Ethylendiamintetraacetat (K3-EDTA), 3) Acid-Citrate-Dextrose-Adenin (ACD-A), 4) Natriumcitrat (NAC), 5) Plasmapräparationsröhrchen (PPT), 6) Seruntrennröhrchen (SST) und 7) Serumröhrchen (Serum). Bei jedem der 10 Spender wurde Blut in alle sieben Röhrchentypen entnommen. Jede Spenderprobe wurde in zwei Aliquots aufgeteilt. Ein Aliquot wurde mit ZIKV-positivem Plasma auf 18 Kopien/ml beimpft. Sowohl die beimpften als auch die unbeimpften Proben wurden mit dem Aptima Zika Virus Assay getestet.

Alle 70 unbeimpften Proben waren im Aptima Zika Virus Assay negativ. Bei allen Röhrchentypen lag das mittlere IC-S/CO-Verhältnis zwischen 1,83 und 1,90 und der % VK zwischen 2 % und 3 % (Tabelle 7). Alle 70 beimpften Proben waren im Aptima Zika Virus Assay positiv. Bei allen Röhrchentypen lag das mittlere Analyt-S/CO-Verhältnis zwischen 31,90 und 34,20 und der % VK zwischen 3 % und 4 % (Tabelle 8). Es wurden keine Interferenzen durch Antikoagulanzen und Entnahmeröhrchen festgestellt.

Tabelle 7: Ergebnisse des Aptima Zika Virus Assay bei unbeimpften Plasma- und Serumproben, die in verschiedenen Röhrchentypen gewonnen wurden

| Entnahmeröhrchen | N | Anz. pos. | % pos. | IC-S/CO | | | Analyt-S/CO | | |
|------------------|----|-----------|--------|------------|------|-----|-------------|------|-------|
| | | | | Mittelwert | SD | VK | Mittelwert | SD | VK |
| K2-EDTA | 10 | 0 | 0 % | 1,89 | 0,06 | 3 % | 0,00 | 0,01 | n. v. |
| K3-EDTA | 10 | 0 | 0 % | 1,87 | 0,04 | 2 % | 0,00 | 0,00 | n. v. |
| ACD-A | 10 | 0 | 0 % | 1,87 | 0,04 | 2 % | 0,00 | 0,00 | n. v. |
| PPT | 10 | 0 | 0 % | 1,83 | 0,04 | 2 % | 0,00 | 0,00 | n. v. |
| NAC | 10 | 0 | 0 % | 1,84 | 0,06 | 3 % | 0,00 | 0,00 | n. v. |
| Serum | 10 | 0 | 0 % | 1,85 | 0,06 | 3 % | 0,00 | 0,00 | n. v. |
| SST | 10 | 0 | 0 % | 1,90 | 0,05 | 3 % | 0,00 | 0,00 | n. v. |

N = Anzahl der Proben; Anz. pos. = Anzahl der positiven Proben; % pos. = Anteil der positiven Proben; IC = interne Kontrolle; S/CO = Signal/Grenzwert-Verhältnis; SD = Standardabweichung; VK = Variationskoeffizient; n. v. = nicht verfügbar.

Tabelle 8: Ergebnisse des Aptima Zika Virus Assay bei beimpften Plasma- und Serumproben, die in verschiedenen Röhrchentypen gewonnen wurden

| Entnahmeröhrchen | N | Anz. pos. | % pos. | IC-S/CO | | | Analyt-S/CO | | |
|------------------|----|-----------|--------|------------|------|------|-------------|------|-----|
| | | | | Mittelwert | SD | VK | Mittelwert | SD | VK |
| K2-EDTA | 10 | 10 | 100 % | 2,05 | 0,45 | 22 % | 32,77 | 1,23 | 4 % |
| K3-EDTA | 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 = Anzahl der Proben; Anz. pos. = Anzahl der positiven Proben; % pos. = Anteil der positiven Proben; IC = interne Kontrolle; S/CO = Signal/Grenzwert-Verhältnis; SD = Standardabweichung; VK = Variationskoeffizient; n. v. = nicht verfügbar.

Störsubstanzen bei Urinproben

Zur Untersuchung der Auswirkungen von Harnmetaboliten wurde anstelle von Urin die Urinanalysekontrolle KOVA-Trol I Hochabnorm mit Urobilinogen im Urintransportmedium (UTM) verdünnt. Dieses humane Urinanalyse-Kontrollmaterial auf Harnbasis enthält potenzielle Störsubstanzen wie Protein (Albumin), Glukose, Ketone, Bilirubin, Erythrozyten, Nitrit, Urobilinogen und Leukozyten. Zusätzlich wurde Urin getestet, der Vollblut in einer Konzentration von 5 % v/v enthielt. Nach Beimpfung mit ZIKV auf eine Konzentration von 18 Kopien/ml wie auch ohne Beimpfung wurde bei keiner der Substanzen eine Interferenz im Aptima Zika Virus Assay festgestellt.

Kreuzreaktivität

Kreuzreaktivität bei Blutproben

Weitere durch Blut übertragene Pathogene wurden auf Kreuzreaktivität und Interferenz bei Blutproben getestet. Die Kreuzreaktivität des Aptima Zika Virus Assay wurde durch Testung klinischer Proben von je 10 Patienten mit folgenden Virusinfektionen untersucht: Dengue-Virus, Hepatitis-A-Virus (HAV), Hepatitis-B-Virus (HBV), Hepatitis-C-Virus (HCV), humanes Immundefizienzvirus 1 und 2 (HIV-1/2), Parvovirus B19 und West-Nil-Virus (WNV). Außerdem wurden Proben von 10 Personen getestet, die gegen HBV geimpft waren. Die Proben wurden im Handel bezogen und waren von den Herstellern mit validierten Verfahren charakterisiert worden. Zusätzlich wurde negatives Pool-Plasma, das mit Hepatitis-E-Virus (HEV) auf eine Konzentration von 1×10^5 Kopien/ml beimpft wurde, sowie Negativplasma, das mit Chikungunya-Virus auf eine Konzentration von 1×10^5 U/ml beimpft wurde, untersucht. Jede der oben beschriebenen Proben wurde in zwei Aliquots aufgeteilt. Ein Aliquot wurde für die Untersuchung der Kreuzreaktivität verwendet. Das andere Aliquot wurde mit ZIKV-positivem Plasma beimpft und als künstliche Probe für die klinische Bewertung verwendet. Zur Untersuchung der Kreuzreaktivität wurden Aliquots aus Spenderproben mit natürlich vorkommenden Infektionen oder HBV-Impfung einmal getestet. Die mit HEV und Chikungunya beimpften Proben wurden in je 10 Replikaten getestet.

Die Ergebnisse des Aptima Zika Virus Assay waren bei allen Proben negativ. Weder bei den Proben von Patienten, die mit anderen durch Blut übertragenen Pathogenen infiziert waren, noch bei den Proben von gegen HBV geimpften Personen oder den virenbeimpften Proben wurde eine Kreuzreaktivität festgestellt. Das Interferenzpotenzial wurde anhand eines mit ZIKV auf eine Konzentration von 18 Kopien/ml versetzten Aliquots jeder Probe untersucht und alle Ergebnisse waren positiv. Bei den Proben, die andere durch Blut übertragenen Pathogene enthielten, wurde keine Kreuzreaktivität und keine Interferenz festgestellt.

Es wurden weitere Mikroorganismen auf Kreuzreaktivität und Interferenz getestet. Aus Negativplasma wurden Proben mit einer Konzentration von 1×10^6 koloniebildenden Einheiten (KBE/ml) oder einschlussbildenden Einheiten (IFU/ml) von jedem der folgenden Mikroorganismen hergestellt: *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Propionibacterium acnes*, *Candida albicans*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*. Die Kreuzreaktivität wurde unter Verwendung von nicht mit ZIKV beimpften Proben untersucht und alle Ergebnisse waren negativ. Das Potenzial mikrobieller Interferenzen wurde anhand eines mit ZIKV auf eine Konzentration von 18 Kopien/ml versetzten Aliquots jeder Probe untersucht und alle Ergebnisse waren positiv. Bei den Proben, die Bakterien oder Pilze enthielten, wurde keine Kreuzreaktivität und keine Interferenz festgestellt.

Kreuzreaktivität bei Urinproben

Es wurde die Kreuzreaktivität und Interferenz durch Mikroorganismen in Urin für den Aptima Zika Virus Assay untersucht. Aus Pool-Urin wurden Proben mit einer Konzentration von 1×10^6 koloniebildenden Einheiten (KBE/ml) oder einschlussbildenden Einheiten (IFU/ml) von jedem der folgenden Mikroorganismen hergestellt: *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*, *Proteus mirabilis* (1×10^6 rRNA/ml). Die Kreuzreaktivität wurde unter Verwendung von nicht mit ZIKV beimpften Proben untersucht und alle Ergebnisse waren negativ. Das Potenzial mikrobieller Interferenzen wurde anhand eines mit ZIKV auf eine Konzentration von 18 Kopien/ml versetzten Aliquots jeder Probe untersucht und alle Ergebnisse waren positiv. Bei den Proben, die diese Mikroorganismen enthielten, wurde keine Kreuzreaktivität und keine Interferenz festgestellt.

Klinische Bewertung

Klinische Bewertung für Blutproben

Es wurden 26 Plasmaproben von drei kommerziellen Anbietern bezogen. Die 26 Proben waren von den Herstellern mit dem CDC TrioPlex Assay (zwei Hersteller) bzw. einem validierten Echtzeit-RT-PCR-Test als ZIKV-positiv bestimmt worden. Die Proben wurden unter Verwendung eines anderen validierten Echtzeit-RT-PCR-Tests erneut getestet und 24 der 26 Proben wurden als positiv bestätigt. Die beiden Proben, die bei der erneuten Testung negativ waren, gelten in den nachstehenden Analysen als negativ beim Referenzergebnis. Der Aptima Zika Virus Assay war bei allen 26 klinischen Proben positiv. Tabelle 9 zeigt die Ergebnisse der 24 referenzpositiven Proben.

Tabelle 9: Ergebnisse des Aptima Zika Virus Assay von 24 ZIKV-positiven klinischen Proben

| Proben-ID | Herkunftsland | Referenz-Ct/Cp | Aptima Ergebnis | Aptima S/CO |
|---------------|-------------------------|----------------|-----------------|-------------|
| 08847156 | Kolumbien | 34,14 | Positiv | 30,5 |
| 08847163 | Kolumbien | 34,90 | Positiv | 31,3 |
| 08847229 | Kolumbien | 31,43 | Positiv | 31,3 |
| 08847260 | Kolumbien | 32,75 | Positiv | 32,5 |
| 08847264 | Kolumbien | 36,32 | Positiv | 32,8 |
| 08847284 | Kolumbien | 33,14 | Positiv | 32,5 |
| 08847325 | Kolumbien | 36,22 | Positiv | 31,2 |
| 08847716 | Kolumbien | 31,76 | Positiv | 29,8 |
| 1043-TDS-0112 | Dominikanische Republik | 31,80 | Positiv | 30,9 |
| 1043-TDS-0114 | Dominikanische Republik | 35,20 | Positiv | 31,8 |
| 1043-TDS-0115 | Dominikanische Republik | 24,74 | Positiv | 32,3 |
| 1043-TDS-0119 | Dominikanische Republik | 30,69 | Positiv | 32,1 |
| 1043-TDS-0122 | Dominikanische Republik | 35,05 | Positiv | 30,6 |
| 1043-TDS-0129 | Dominikanische Republik | 37,24 | Positiv | 31,8 |
| 1043-TDS-0130 | Dominikanische Republik | 34,23 | Positiv | 33,4 |
| 1043-TDS-0131 | Dominikanische Republik | 29,66 | Positiv | 30,3 |
| 1043-TDS-0134 | Dominikanische Republik | 37,30 | Positiv | 31,0 |
| 1043-TDS-0135 | Dominikanische Republik | 34,07 | Positiv | 32,1 |

Tabelle 9: Ergebnisse des Aptima Zika Virus Assay von 24 ZIKV-positiven klinischen Proben (Forts.)

| Proben-ID | Herkunftsland | Referenz-Ct/Cp | Aptima Ergebnis | Aptima S/CO |
|---------------|-------------------------|----------------|-----------------|-------------|
| 1043-TDS-0137 | Dominikanische Republik | 29,54 | Positiv | 31,7 |
| 1043-TDS-0141 | Dominikanische Republik | 30,71 | Positiv | 32,0 |
| 1043-TDS-0143 | Dominikanische Republik | 28,73 | Positiv | 29,6 |
| 1043-TDS-0144 | Dominikanische Republik | 34,19 | Positiv | 29,8 |
| 1043023924 | Kolumbien | 34,69 | Positiv | 30,3 |
| 8798593 | Kolumbien | 22,75 | Positiv | 31,7 |

Es wurden insgesamt 90 Proben künstlich hergestellt, indem Plasmaproben jeweils mit ZIKV-positivem Plasma auf eine Konzentration von 18 Kopien/ml beimpft wurden. Unter den 90 Proben waren 10 Einzelplasmaproben von Patienten, die positiv auf Parvovirus B19, Dengue, HAV, HBV, HCV, HIV oder WNV waren, 10 Plasmaproben von einem gegen HBV geimpften Spender sowie 10 Plasmaproben von gesunden Spendern.

Insgesamt wurden 72 Einzelplasmaproben als ZIKV-negative Proben verwendet. Unter 70 Proben befanden sich je 10 Einzelplasmaproben, die positiv auf antinukleäre Antikörper, hämolysiert (Hämoglobin erhöht), ikterisch (Bilirubin erhöht), lipämisch (Lipide erhöht), positiv auf multiples Myelom, positiv auf rheumatoide Arthritis bzw. positiv auf systemischen Lupus erythematodes waren. Zwei Proben, die bei der ursprünglichen Referenztestung positiv, jedoch bei der erneuten Testung negativ waren, wurden ebenfalls eingeschlossen. Diese beiden Proben waren im Aptima Zika Virus Assay positiv. Die Ergebnisse der klinischen Bewertung sind in Tabelle 10 zusammengestellt.

Tabelle 10: Ergebnisse der klinischen Bewertung des Aptima Zika Virus Assay

| Probenkategorie | Aptima Zika Virus Assay | | |
|--|-------------------------|---|--------------|
| | Getestete Anzahl | ZIKV-positiv | ZIKV-negativ |
| Natürlich ZIKV-positive Proben | 24 | 24/24 | 0/24 |
| Künstlich ZIKV-positive Proben (3 x LoD) | 90 ^a | 90/90 | 0/90 |
| Erwartete ZIKV-negative klinische Proben | 72 ^b | 2/72 | 70/72 |
| Positive %-Übereinstimmung | | 100 (114/114) (95%-KI) 96,7–100 % | |
| Negative %-Übereinstimmung | | 97,2 % (70/72) ^b (95%-KI) 90,4–99,2 % | |

KI = Konfidenzintervall

^a Beinhaltet die mit ZIKV beimpften Aliquots aus den 90 Plasmaproben, die in den Interferenzstudien untersucht wurden.

^b Beinhaltet zwei Patientenproben, die bei der ursprünglichen Referenztestung positiv und bei der erneuten Testung mit einem anderen PCR-Verfahren negativ waren und als falsch-positiv betrachtet wurden.

Klinische Bewertung für Urinproben

Es wurden 10 gepaarte Proben (angepasste Plasma-/Serum-/Urinproben von 10 symptomatischen Patienten) von einem kommerziellen Anbieter bezogen. Die 10 symptomatischen Patienten waren vom Hersteller mit einem validierten Echtzeit-RT-PCR-Test an den Serumproben als ZIKV-positiv bestimmt worden. Die Urinproben wurden vor der Testung behandelt. Die 10 behandelten Urinproben wurden jeweils zusammen mit den entsprechenden Plasma- und Serumproben der 10 Patienten mit dem Aptima Zika Virus Assay getestet. Alle Proben waren bei der ursprünglichen Testung positiv. Tabelle 11 zeigt die Ergebnisse der 10 angepasste Proben.

Tabelle 11: Ergebnisse des Aptima Zika Virus Assay von 10 angepassten ZIKV-positiven klinischen Proben

| Proben-ID | Herkunftsland | Referenz-Cp (Serum) | Plasma | | Serum | | Behandelter Urin | |
|---------------|-------------------------|------------------------|----------|------|----------|------|------------------|------|
| | | | Ergebnis | S/CO | Ergebnis | S/CO | Ergebnis | S/CO |
| 1043-TDS-0159 | Dominikanische Republik | 36,31 | Positiv | 33,1 | Positiv | 31,7 | Positiv | 32,9 |
| 1043-TDS-0163 | Dominikanische Republik | 32,54 | Positiv | 33,4 | Positiv | 33,4 | Positiv | 17,0 |
| 1043-TDS-0165 | Dominikanische Republik | 40,38 | Positiv | 32,8 | Positiv | 32,6 | Positiv | 33,7 |
| 1043-TDS-0173 | Dominikanische Republik | 33,15 | Positiv | 32,6 | Positiv | 32,8 | Positiv | 34,1 |
| 1043-TDS-0206 | Dominikanische Republik | 36,62 | Positiv | 31,6 | Positiv | 30,8 | Positiv | 32,4 |
| 1043-TDS-0221 | Dominikanische Republik | 38,11 | Positiv | 17,8 | Positiv | 33,5 | Positiv | 32,8 |
| 1043-TDS-0223 | Dominikanische Republik | 32,50 | Positiv | 34,0 | Positiv | 33,4 | Positiv | 31,9 |
| 1043-TDS-0224 | Dominikanische Republik | 31,81 | Positiv | 33,8 | Positiv | 31,6 | Positiv | 33,6 |
| 1043-TDS-0230 | Dominikanische Republik | 30,51 | Positiv | 33,8 | Positiv | 33,7 | Positiv | 34,7 |
| 1043-TDS-0231 | Dominikanische Republik | 35,63 | Positiv | 31,6 | Positiv | 33,8 | Positiv | 34,4 |

Es wurden insgesamt 99 Urinproben künstlich hergestellt, indem Urinproben jeweils mit ZIKV-positivem Plasma beimpft wurden: Je 33 Proben wurden auf eine Konzentration von 20 Kopien/ml, 36 Kopien/ml bzw. 100 Kopien/ml beimpft. Alle beimpften Urinproben wurden vor der Testung mit dem Aptima Zika Virus Assay behandelt. Alle künstlich hergestellten, behandelten Urinproben wurden positiv getestet.

Insgesamt wurden 123 Einzelurinproben als ZIKV-RNA-negative Proben verwendet. Davon wurden 87 Proben aus einer gesunden Population gewonnen. 36 Einzelurinproben von Frauen wurden aus einer Patientenpopulation gewonnen (7 Patientinnen mit Brustkrebs, 6 Patientinnen mit chronischer Niereninsuffizienz, 6 Patientinnen mit systemischem Lupus erythematodes, 4 Patientinnen mit Lungenentzündung, 8 Patientinnen mit Diabetes, 5 Patientinnen mit Harnwegsinfektion). Alle Urinproben wurden vor der Testung mit dem Aptima Zika Virus Assay behandelt. Alle Proben wurden negativ getestet. Die Ergebnisse der klinischen Bewertung sind in Tabelle 12 zusammengestellt.

Tabelle 12: Klinische Bewertung für behandelte Urinproben

| Probenkategorie | Aptima Zika Virus Assay | | |
|--|-------------------------|---|--------------|
| | Getestete Anzahl | ZIKV-positiv | ZIKV-negativ |
| Natürlich ZIKV-positive Proben | 10 | 10/10 | 0/10 |
| Künstlich ZIKV-positive klinische Proben | 99 | 99/99 | 0/99 |
| Erwartete ZIKV-negative klinische Proben | 123 | 0/123 | 123/123 |
| Positive %-Übereinstimmung | | 100 % (109/109) (95-%-KI) 96,6 % bis 100 % | |
| Negative %-Übereinstimmung | | 100 % (123/123) (95-%-KI) 97,0 % bis 100 % | |

KI = Konfidenzintervall

Bibliographie

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/NEJMSr1604338. 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.



Hologic N.V.
Da Vinciiaan 5
1930 Zaventem
Belgium

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

Kontaktangaben für die Vereinigten Staaten von Amerika und andere
Länder:

Kundendienst: +1 800 442 9892
customersupport@hologic.com

Technischer Kundendienst: +1 888 484 4747
molecularsupport@hologic.com

Weitere Kontaktinformationen finden Sie unter www.hologic.com.

Hologic, Aptima, Panther, SB100 und die zugehörigen Logos sind Marken oder eingetragene Marken von Hologic, Inc. und/oder seinen Tochterunternehmen in den Vereinigten Staaten und/oder anderen Ländern.

Alle anderen Marken, die möglicherweise in dieser Packungsbeilage erscheinen, gehören dem jeweiligen Eigentümer.

Dieses Produkt kann unter einem oder mehreren US-Patent(en) geschützt sein, zu finden unter www.hologic.com/patents.

© 2017-2018 Hologic, Inc. Alle Rechte vorbehalten.

AW-15988-801 Rev. 003
2018-04