

Aptima™ HIV-1 Quant Dx Assay

För *in vitro*-diagnostiskt bruk.

Endast för USA-export.

Allmän information	2
Avsedd användning	2
Sammanfattning och förklaring av analysen	2
Metodprinciper	3
Varningar och försiktighetsåtgärder	4
Förvaring och hantering av reagenser	6
Provtagning och provförvaring	7
Prover i Panther System	10
Transport av prover	10
Panther System	11
Tillhandahållna reagenser och material	11
Material som krävs men som införskaffas separat	12
Valfri materiel	13
Analysmetod för Panther System	14
Metodanmärkingar	18
Kvalitetskontroll	19
Analyskalibrering	19
Negativa och positiva kontroller	19
Intern kalibrator/intern kontroll	19
Tolkning av resultat	20
Begränsningar	21
Prestanda	22
Detekteringsgräns (Limit of Detection, LOD) vid användning av WHO:s tredje internationella HIV-1-standard	22
Detektionsgräns för olika HIV-1-undertyper och -grupper	23
Linjärt intervall	24
Linjäritet över olika HIV-1-undertyper och -grupper	25
Nedre kvantifieringsgräns (Lower Limit of Quantitation, LLOQ) vid användning av WHO:s tredje internationella HIV-1-standard	26
Verifiering av LLOQ över HIV-1-undertyper och -grupper	27
Precision	28
Potentiellt störande substanser	28
Specificitet	30
Analytisk specificitet	31
Repetierbarhet för kliniska prover	32
Provspädning med provspädningsmedel	33
Metodkorrelation	34
Diagnostisk överensstämmelse	34
Överföring	35
Serokonverteringspanel	35
Serum-, plasmaekvivalensstudie	36
Referenser	37

Allmän information

Avsedd användning

Aptima HIV-1 Quant Dx Assay är en *in vitro* nukleinsyreamplifieringsanalys för detektering och kvantifiering av humant immunbristvirus av typ 1 (HIV-1) – RNA-grupperna M, N och O – i det helautomatiserade Panther™-systemet. Den är avsedd för användning som ett hjälpmedel vid diagnos av HIV-1-infektion, som bekräftelse på HIV-1-infektion samt som ett hjälpmedel vid klinisk vård av patienter som infekterats med HIV-1.

Aptima HIV-1 Quant Dx Assay kan användas som hjälpmedel vid diagnos av HIV-1-infektion, inklusive akut eller primär infektion. Närvaro av HIV-1-RNA i plasma eller serum från patienter utan antikroppar mot HIV-1 tyder på akut eller primär HIV-1-infektion. Aptima HIV-1 Quant Dx Assay kan användas som kompletterande analys av prover som uppvisat upprepade reaktiva resultat med godkända HIV-immunanalyser. Om provet är reaktivt mot Aptima HIV-1 Quant Dx Assay är HIV-1-infektion bekräftad.

Aptima HIV-1 Quant Dx Assay kan också användas i samband med klinisk presentation och andra laboriemarkörer för sjukdomsprognos för personer som infekterats med HIV-1. Aptima HIV-1 Quant Dx Assay kan användas som hjälpmedel vid övervakning av effekten av antiretrovirusbehandling genom att mäta förändringarna i koncentrationen av HIV-1-RNA i plasma.

När Aptima HIV-1 Quant Dx Assay används som hjälpmedel för diagnos av HIV-1-infektion fastställs dess prestanda med kvalitativa resultat med både plasma- och serumprover. När den används som hjälpmedel för att övervaka effekten av antiretrovirusbehandling fastställs dess prestanda med kvantitativa resultat endast med plasmaprover. Serumprover kan inte användas för kvantitativa resultat.

Denna assay är inte avsedd att användas för screening av blod- eller plasmagivare.

Sammanfattning och förklaring av analysen

Epidemiologiska studier har identifierat humant immunbristvirus typ 1 (HIV-1) som det etiologiska medlet vid förvärvat immunbristsyndrom (acquired immunodeficiency syndrome, AIDS) (1-7). HIV kan överföras genom sexuell kontakt, exponering för infekterat blod, infekterade blodprodukter eller genom överföring från mor till barn (8). Inom 3 till 6 veckor efter exponering för HIV utvecklar infekterade individer i allmänhet ett kortvarigt, akut syndrom som kännetecknas av influensaliknande symptom och förknippas med höga nivåer av viremi i det perifera blodet (9-12). Hos de flesta infekterade individer följs denna tidiga fas av en HIV-specifik immunreaktion och avklingande plasmaviremi, oftast inom 4 till 6 veckor efter att symptomen först uppträtt (13-14). Efter serokonvertering övergår infekterade individer normalt till en kliniskt stabil, asymptomatisk fas som kan vara i flera år (15-17). Denna asymptomatiska period kännetecknas av ihållande plasmaviremi på låg nivå (18) och en gradvis utarmning av antalet CD4+ T-lymfocyter. Denna utarmning leder till svår immunbrist, flera opportunistiska infektioner, maligniteter och död (19). Även om virusnivån i det perifera blodet är relativt låg under infektionens asymptomatiska fas verkar virusreplikering och clearance vara dynamiska processer, under vilka höga virusproduktionsfrekvenser och infektion av CD4+-celler balanseras av lika höga frekvenser av virusclearance, död hos infekterade celler och påfyllning av CD4+-celler, vilket leder till relativt stabila nivåer av både plasmaviremi och CD4+-celler (20-22).

Kvantitativa mätningar av HIV i det perifera blodet har visat att högre virusnivåer kan vara korrelerade med ökad risk för klinisk progrediering av HIV-associerad sjukdom och att

minskade virusnivåer i plasma kan vara förknippade med minskad risk för klinisk progrediering (23-25). Virusnivåerna i det perifera blodet kan kvantifieras genom mätning av HIV p24-antigen i serum, genom kvantitativ odling av HIV från plasma eller genom direkt mätning av viralt RNA i plasma med hjälp av nukleinsyreamplifierings- eller signalamplifieringstekniker (26-30).

För närvarande baseras detektion av HIV-1-infektion i huvudsak på serologisk testning av antikroppar och/eller p24-antigen med hjälp av immunanalys. US Centers for Disease Control rekommenderar att ett antikropp- och RNA-test används för att diagnosticera akut HIV-infektion (31). Även om detektionskänsligheten för HIV-1-antikropp och p24-antigen har förbättrats finns det fortfarande ett tidsglapp mellan tidpunkten för infektion och tidpunkten för detektering med hjälp av serologiska markörer. Hur lång detta tidsglapp är beror på känsligheten hos det serologiska test som används. En uppskattning (32) föreslår att fjärde generationens p24-antigen/antikropsanalyser kan detektera infektion när HIV-1 RNA-koncentrationen når 14 000 kopior/ml. Detektionsgränsen för Aptima HIV-1 Quant Dx Assay är betydligt lägre än 14 000 kopior/ml och kan detektera närvaro av HIV-1 tidigare än HIV-immunanalyser.

Molekyltekniker som transkriptionsmedierad amplifiering (TMA) har använts i stor utsträckning för att förstärka nukleinsyror (31). TMA använder specifik målsekvensinfångning och isotermisk amplifiering för att detektera nukleinsyror i flera olika smittförande patogener (32).

Aptima HIV-1 Quant Dx assay använder multipla långa primrar genom TMA, som inriktar sig på flera regioner av HIV-1-genomet för att kompensera för den höga mutationstakten och flera potentiella mutationer i målregionen.

Metodprinciper

Aptima HIV-1 Quant Dx Assay består av tre huvudsteg som alla utförs i ett och samma provrör i Panther System: målsekvensinfångning, målamplifiering genom transkriptionsmedierad amplifiering (Transcription-Mediated Amplification, TMA) samt detektion av amplifieringsprodukterna (amplikon) genom fluorescensmärkta prober (facklor).

Under målsekvensinfångning isoleras virala nukleinsyror från proverna. Proverna behandlas med en detergent som löser upp virushöljet, denaturerar proteiner och frisläpper viralt genomiskt RNA. Infångade oligonukleotider hybridiseras till konserverade områden för HIV-1-genomet, om sådana finns, i provet. Det hybridiserade målet fångas därefter in på magnetiska mikropartiklar som separeras från provet i ett magnetfält. Tvättstegen avlägsnar externa komponenter från reaktionsröret.

Målamplifiering sker via TMA, en transkriptionsmedierad nukleinsyreamplifieringsmetod som använder två enzymer, Moloneys musleukemivirus (MMLV) reverstranskriptas och T7 RNA-polymeras. Omvänt transkriptas används för att skapa en DNA-kopia (innehållande en promotorsekvens för T7 RNA-polymeras) av målsekvensen. T7 RNA-polymeras producerar flera kopior av RNA-amplikon från DNA-mallen. Aptima HIV-1 Quant Dx Assay använder TMA-metoden för att amplifiera två områden av HIV-1 RNA (pol och LTR). Förstärkning av dessa specifika regioner uppnås genom användning av specifika primrar som är designade att förstärka HIV-1-grupperna M, N och O. Primerns design och den dubbla målmetoden säkerställer korrekt detektion och kvantifiering av HIV-1.


Detektion uppnås med användning av ensträngade nukleinsyrefacklor som är närvarande under amplifieringen av målet och som hybridiseras specifikt till ampliconen i realtid. Varje fackla har en fluorofor och en släckare. När facklan inte hybridiseras till ampliconen befinner sig släckaren nära fluoroforen och dämpar fluorescensen. När facklan binds till ampliconen

flyttas släckaren längre bort från fluoroforen och avger en signal vid en viss specifik våglängd när den exciteras av en ljuskälla. När fler facklor hybridiseras till amplikon uppstår en starkare fluorescerande signal. Den tid det tar för den fluorescerande signalen att nå ett specificerat tröskelvärde är proportionellt mot startkoncentrationen av HIV-1. Varje reaktion har en intern kalibrator/intern kontroll (internal control, IC) som kontrollerar variationer i provbehandling, amplifiering och detektion. Provets koncentration fastställs av Panther Systems programvara genom att använda HIV-1- och IC-signalerna för varje reaktion och jämföra dem med kalibreringsinformationen.

Varningar och försiktighetsåtgärder

- A. För *in vitro*-diagnostiskt bruk.
- B. Läs noga hela bipacksedeln samt *Panther System Operator's Manual* (användarhandledning till Panther System) innan denna analys utförs för att minska risken för ogiltiga resultat.

Laboratorierelaterad information

-  C. FÖRSIKTIGHET: Kontrollerna för denna analys innehåller human plasma. Denna plasma var negativ för hepatit B-yntigen (hepatitis B surface antigen, HBsAG), antikroppar mot HCV, antikroppar mot HIV-1 och HIV-2 samt HIV-antigen när den testades med de procedurer som licensieras av US Food and Drug Administration. Vidare var denna plasma icke-reaktiv för HCV RNA och HIV-1 RNA när den testades med licensierade nukleinsyretester med användning av poolade prover. Allt material som härrör från humant blod bör betraktas som potentiellt smittsamt och ska hanteras med allmänt vedertagna försiktighetsåtgärder (35-37).
- D. Endast personal med adekvat utbildning i användningen av Aptima HIV-1 Quant Dx Assay samt i hantering av potentiellt smittsamt material bör utföra denna procedur. Om spill inträffar, desinficera omedelbart enligt lämpliga lokala rutiner.
- E. Använd endast tillhandahållet eller specificerat laboriematerial för engångsbruk.
- F. Iaktta sedvanliga säkerhetsrutiner för laboratorier. Pipettera inte med munnen. Ät, drick och rök inte där du arbetar. Bär puderfria engångshandskar, skyddsglasögon och laboratorierockar vid hantering av prover och satsreagenser. Tvätta händerna ordentligt efter hantering av prover och satsreagenser.
- G. Arbetsytor, pipetter och annan utrustning måste regelbundet dekontamineras med 2,5 % till 3,5 % (0,35 M till 0,5 M) natriumhypokloritlösning.
- H. Kassera allt material som har kommit i kontakt med prover och reagens enligt lokala, regionala och nationella bestämmelser (35-38). Rengör och desinficera alla arbetsytor ordentligt.
- I. Kontrollerna innehåller natriumazid som konserveringsmedel. Använd inte metallrör för att överföra reagens. Om lösningar som innehåller natriumazidsammansättningar kasseras i avloppssystemet ska de spädas ut och avloppet spolats med rikliga mängder rinnande vatten. Dessa försiktighetsåtgärder rekommenderas för att undvika ansamling av avlagringar i metallrören, i vilka explosiva förhållanden kan uppstå.

- J. God standardpraxis för molekylära laboratorier inbegriper miljöövervakning. För att övervaka ett laboratoriums miljö föreslås följande procedur.
1. Hämta en provpinne med bomullstopp och koppla den till ett Aptima provalikvotrör (Specimen Aliquot Tube, SAT).
 2. Märk varje SAT på lämpligt sätt.
 3. Fyll varje SAT med 1 ml Aptima provspädningsmedel.
 4. Samla in prov på ytan genom att fukta provpinnen lätt med nukleasfritt avjoniserat vatten.
 5. Ta prov från ytan av intresse med en vertikal rörelse uppifrån och ned. Vrid provpinnen cirka ett halvt varv medan du tar provet.
 6. Placera omedelbart provpinnen i provröret och virvla försiktigt provpinnen i spädningsmedlet för att extrahera potentiellt uppsamlat material. Tryck provpinnen mot transportrörets ena sida för att extrahera så mycket vätska som möjligt. Kassera provpinnen och sätt ett lock på provröret.
 7. Upprepa dessa steg för övriga provpinnar.
 8. Testa provet med en molekylär analys.

Provrelaterad information

- K. Proverna kan vara smittförande. Använd allmänt vedertagna försiktighetsåtgärder (35-37) vid utförande av denna analys. Korrekta hanterings- och kasseringsmetoder bör fastställas enligt lokala bestämmelser (38). Endast personal med adekvat utbildning i användningen av Aptima HIV-1 Quant Dx Assay samt utbildning i hantering av smittsamt material bör utföra denna procedur.
- L. Upprätthåll korrekta förvaringsförhållanden vid transport av prover för att säkerställa provernas kvalitet. Provernas stabilitet under andra transportförhållanden än de som rekommenderas har inte utvärderats.
- M. Undvik korskontamination under provhanteringen. Var särskilt försiktig för att undvika kontamination genom spridning av aerosoler när proverna lossas eller locken tas av. Prover kan innehålla extremt höga nivåer av organismer. Se till att provbehållare inte kommer i kontakt med varandra, och kassera använt material utan att förflytta dem över öppna behållare. Byt ut handskar om de kommer i kontakt med prov.

Analysrelaterad information

- N. Kvantitativa resultat av Aptima HIV-1 Quant Dx Assay har utvärderats med plasma. Serum får inte användas för att erhålla kvantitativa resultat. Kvalitativa resultat har utvärderats med både plasma och serum.
- O. Använd inte reagenssatsen, kalibratoren eller kontrollerna efter utgångsdatum.
- P. Byt inte ut, blanda eller kombinera analysreagenser från satser med olika huvudsatsnummer. Analysvätskorna kan komma från olika satsnummer. Kontroller och kalibratoren kan komma från olika satsnummer.
- Q. Undvik mikrobiell eller nukleas-förorening av reagenser.
- R. Sätt på lock och förvara alla analysreagenser vid specificerade temperaturer. Analysens prestanda kan påverkas om felaktigt förvarade analysreagenser används. Se *Förvaring och hantering av reagenser* och *Analysmetod för Panther System* för mer information.

- S. Kombinera inga analysreagens eller -vätskor om du inte fått specifik instruktion att göra det. Toppfyll inte reagens eller vätskor. Panther System verifierar reagensnivåerna.

Förvaring och hantering av reagenser

- A. I följande tabell visas förvaringsförhållanden och hållbarhet för reagenser, kontroller och kalibrator.

Reagens	Förvaring öppnat	Öppnad sats (rekonstituerad)	
		Förvaring	Hållbarhet
qHIV-1 amplifieringsreagens	2 °C till 8 °C		
qHIV-1 amplifieringsrekonstitutionslösning	2 °C till 8 °C	2 °C till 8 °C	30 dagar ^a
qHIV-1 enzymreagens	2 °C till 8 °C		
qHIV-1 enzymrekonstitutionslösning	2 °C till 8 °C	2 °C till 8 °C	30 dagar ^a
qHIV-1 promotorreagens	2 °C till 8 °C		
qHIV-1 promotorrekonstitutionslösning	2 °C till 8 °C	2 °C till 8 °C	30 dagar ^a
qHIV-1 reagens för måsekvensinfångning	2 °C till 8 °C	2 °C till 8 °C	30 dagar ^a
qHIV-1 NC CONTROL – (Negativ kontroll)	-15 °C till -35 °C	15 °C till 30 °C	Ampull för engångsbruk Ska användas inom 20 timmar
qHIV-1 LPC CONTROL + (Låg positiv kontroll)	-15 °C till -35 °C	15 °C till 30 °C	Ampull för engångsbruk Ska användas inom 20 timmar
qHIV-1 HPC CONTROL + (Hög positiv kontroll)	-15 °C till -35 °C	15 °C till 30 °C	Ampull för engångsbruk Ska användas inom 20 timmar
qHIV-1-PCAL (positiv kalibrator)	-15 °C till -35 °C	15 °C till 30 °C	Ampull för engångsbruk Ska användas inom 20 timmar

^a När reagenser avlägsnas från Panther System ska de omedelbart returneras till lämpliga förvaringstemperaturer.

- B. Kassera eventuella oanvända rekonstituerade reagenser och reagens för måsekvensinfångning (target capture reagent, TCR) efter 30 dagar eller efter att huvudsatsens utgångsdatum passerats, det som inträffar först.
- C. Reagenser som förvaras i Panther System har 72 timmars hållbarhet i instrumentet. Reagenser kan laddas i Panther System upp till 5 gånger. Panther System loggar varje gång reagenserna laddas.
- D. När kalibratoren tinats upp måste lösningen vara klar, dvs. den får inte vara grumlig eller ha utfällningar.
- ⚠ E. Promotorreagens och rekonstituerat promotorreagens är fotosensitiva. Skydda dessa reagens från ljus under förvaring och beredning inför användning.

Provtagning och provförvaring

Anmärkning: Hantera alla prover som om de innehåller potentiellt smittsamma ämnen. Använd allmänt vedertagna försiktighetsåtgärder.

Anmärkning: Var noga med att undvika korskontamination under provhanteringsstegen. Kassera t.ex. använt material utan att passera över öppna provrör.

Helblodsprover som samlats in i följande glas- eller plaströr kan användas:

För kvantitativa mätningar:

- Provrör som innehåller antikoagulanterna EDTA eller citratdextrossyra (Acid Citrate Dextrose, ACD) eller
- Plasmaberedningsrör (Plasma Preparation Tubes, PPT).

För kvalitativ bestämning:

- Provrör som innehåller antikoagulanterna EDTA eller ACD eller
- PPT eller
- Serumrör eller
- Serumseparationsrör (Serum Separator Tubes, SST).

För serum ska ett koagel få bildas före fortsatt bearbetning.

A. Provtagning

Helblod kan förvaras vid 2 °C till 30 °C och måste centrifugeras inom 24 timmar efter provtagningen. Separera plasma eller serum från de pelletterade röda blodkropparna enligt tillverkarens anvisningar för det provrör som används. Plasma eller serum kan testas i Panther System i det primära röret eller överföras till ett sekundärt Aptima provalikvotrör (SAT) och testas på Panther System. Den lägsta volymen serum eller plasma för erhållande av reaktionsvolymen på 500 µL är 1 200 µL för primära provrör och 700 µL för provalikvotrör.

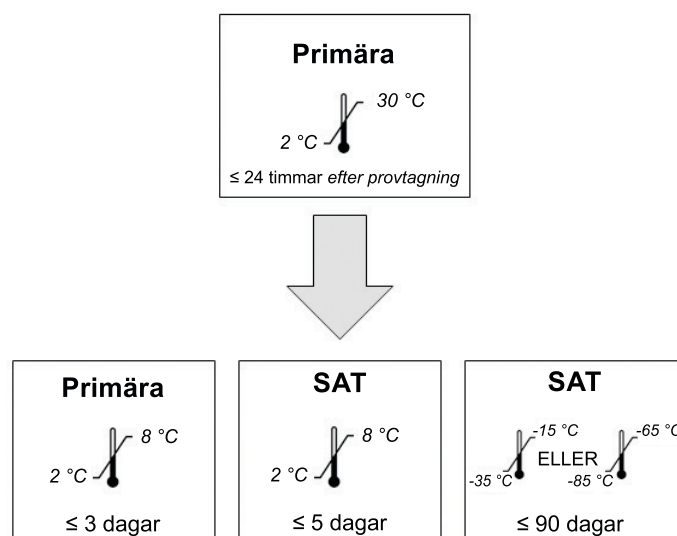
Om det inte testas omedelbart kan plasma och serum förvaras i enlighet med nedanstående specifikationer. Plasma som överförs till provalikvotröret kan frysas ned till -20 °C eller -70 °C. Serum kan frysas ned till -20 °C. Överskrid inte tre infrysnings-upptiningcykler för att undvika påverkan på resultatet. Frys inte prover i EDTA-, ACD- eller primära provtagningsrör för serum.

B. Förvaringsförhållanden för prover

1. EDTA- och ACD-plasmaprover

I upp till 24 timmar efter provtagningen kan primära provrör innehållande centrifugerad plasma förvaras vid 2 °C till 30 °C (Figur 1, övre rutan). Efter 24 timmar kan plasma förvaras för en längre tidsperiod under något av följande förhållanden (Figur 1, nedre rutorna):

- I det primära provtagningsröret vid 2 °C till 8 °C i upp till 3 dagar
- I SAT vid 2 °C till 8 °C i upp till 5 dagar eller
- I SAT vid -20 °C eller -70 °C i upp till 90 dagar.

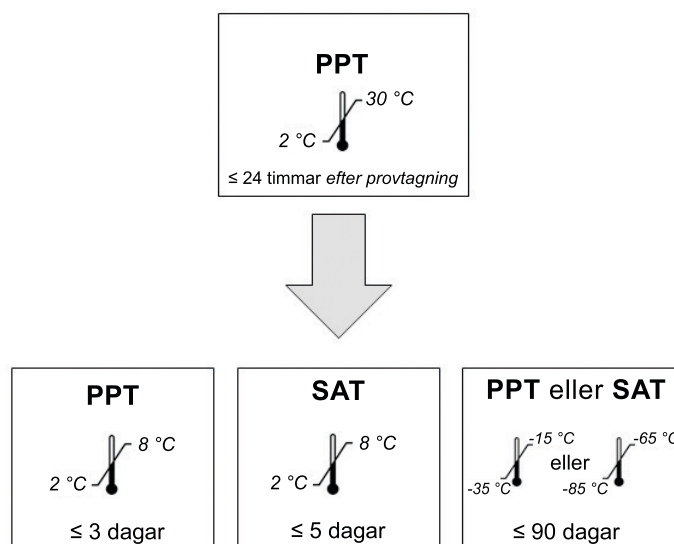


Figur 1. Förvaringsförhållanden för EDTA-/ACD-rör

2. PPT-prover

I upp till 24 timmar efter provtagningen kan PPT-rör innehållande centrifugerad plasma förvaras vid 2 °C till 30 °C (Figur 2, övre rutan). Efter 24 timmar kan plasma förvaras för en längre tidsperiod under något av följande förhållanden (Figur 2, nedre rutorna):

- I PPT-röret vid 2 °C till 8 °C i upp till 3 dagar
- I SAT vid 2 °C till 8 °C i upp till 5 dagar eller
- I PPT- eller SAT-röret vid -20 °C eller -70 °C i upp till 90 dagar.

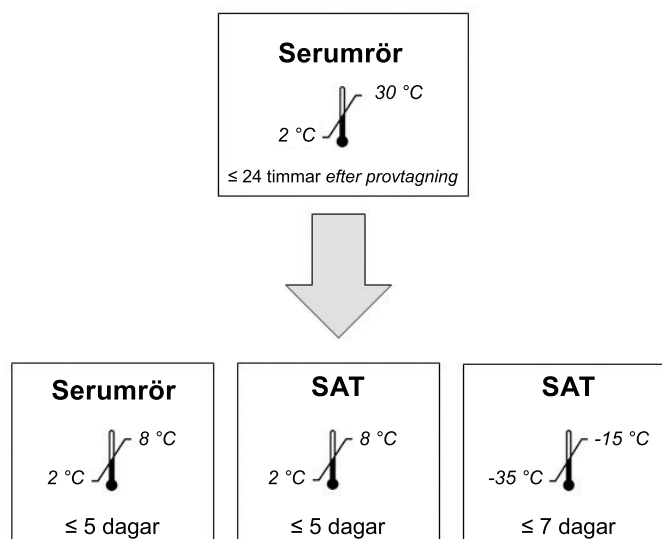


Figur 2. Förvaringsförhållanden för PPT-rör

3. Prover i serumrör

I upp till 24 timmar efter provtagningen kan serumprovör innehållande centrifugerat serum förvaras vid 2 °C till 30 °C (Figur 3, övre rutan). Efter 24 timmar kan serum förvaras för en längre tidsperiod under något av följande förhållanden (Figur 3, nedre rutorna):

- I serumröret vid 2 °C till 8 °C i upp till 5 dagar
- I SAT vid 2 °C till 8 °C i upp till 5 dagar eller
- I SAT vid -20 °C i upp till 7 dagar.

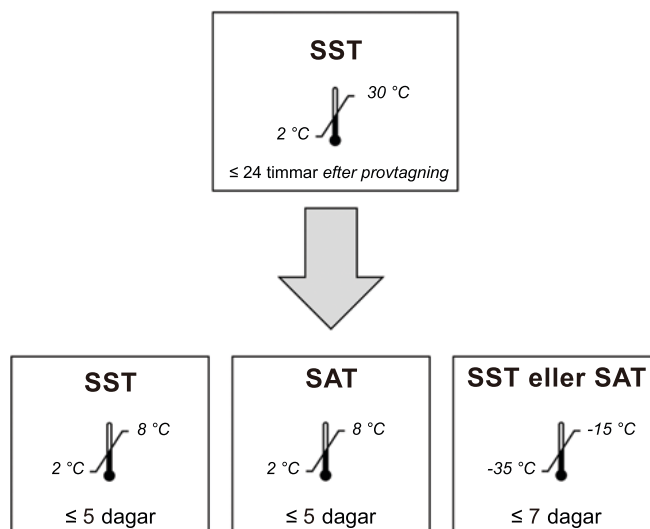


Figur 3. Förvaringsförhållanden för serumprovör

4. SST-prover

I upp till 24 timmar efter provtagningen kan SST-provrör innehållande centrifugerat serum förvaras vid 2 °C till 30 °C (Figur 4, övre rutan). Efter 24 timmar kan serum förvaras för en längre tidsperiod under något av följande förhållanden (Figur 4, nedre rutorna):

- I SST-röret vid 2 °C till 8 °C i upp till 5 dagar
- I SAT vid 2 °C till 8 °C i upp till 5 dagar eller
- I SAT eller SST vid -20 °C i upp till 7 dagar.



Figur 4. Förvaringsförhållanden för SST-rör

C. Utspädning av plasmaprover

Ett plasmaprov kan spädas ut i provalikvotröret för analys i Panther System. Se *Analysmetod för Panther System*, steg E.6 nedan för mer information.

Anmärkning: Om ett prov späds ska det testas omedelbart efter spädningen. Fry inte in ett utspätt prov.

⚠ Spädning av plasmaprover får endast användas för kvantitativa resultat. Plasmaprover får ej spädas för diagnostiska resultat.

Prover i Panther System

Prover kan lämnas kvar i Panther System utan lock i upp till sammanlagt 8 timmar. Prover kan tas ut från Panther System och testas så länge den totala tiden i instrumentet inte överstiger 8 timmar före pipettering av provet av Panther System.

Transport av prover

Upprätthåll de förvaringsförhållanden för proverna som beskrivs i *Provtagning och provförvaring*.

Anmärkning: Prover måste skickas i enlighet med gällande nationella, internationella och regionala transportföreskrifter.

Panther System

Reagenser för Aptima HIV-1 Quant Dx Assay anges nedan för Panther System. Reagens-ID-symboler anges även bredvid respektive reagensnamn.

Tillhandahållna reagenser och material

Anmärkning: Information om uttalanden om eventuella risker och försiktighetsåtgärder som kan förekomma i samband med reagenser finns i Safety Data Sheet Library (bibliotek med säkerhetsdatablad) på www.hologic.com/sds.

Aptima HIV-1 Quant Dx Assay-sats, 100 tester, artikelnr. PRD-03000 (1 kartong med analyser, 1 kalibratorsats och 1 kontrollsats)

Ytterligare kalibratorer och kontroller kan beställas separat. Se respektive artikelnummer nedan.

Kartong med Aptima HIV-1 Quant Dx Assay

(förvaras i 2 till 8 °C efter leverans)

Symbol	Komponent	Antal
A	qHIV-1 amplifieringsreagens <i>Icke smittförande nukleinsyror torkade i buffrad lösning.</i>	1 ampull
E	qHIV-1 enzymreagens <i>Omvänt transkriptas och RNA-polymeras torkat i HEPES-buffrad lösning.</i>	1 ampull
PRO	qHIV-1 promotorreagens <i>Icke smittförande nukleinsyror torkade i buffrad lösning.</i>	1 ampull
AR	qHIV-1 amplifieringsrekonstitutionslösning <i>Vattenlösning innehållande glycerol och konserveringsmedel.</i>	1 x 7,2 ml
ER	qHIV-1 enzymrekonstitutionslösning <i>HEPES-buffrad lösning innehållande ett ytaktivt ämne och glycerol.</i>	1 x 5,8 ml
PROR	qHIV-1 promotorrekonstitutionslösning <i>Vattenlösning innehållande glycerol och konserveringsmedel.</i>	1 x 4,5 ml
TCR	qHIV-1 reagens för målsekvensinfångning <i>Nukleinsyror i buffrad saltlösning innehållande icke smittförande nukleinsyror i fast fas samt en intern kalibrator.</i>	1 x 72,0 ml
	Rekonstitutionskragar	3
	Streckkodsblad för huvudsatsens reagenssats	1 blad

Aptima HIV-1 Quant Dx kalibratorsats (artnr. PRD-03001)
(förvaras i –15 till 35 °C efter leverans)

Symbol	Komponent	Antal
PCAL	qHIV-1 Positiv kalibrator <i>Transkript i buffrad lösning.</i>	5 x 2,5 ml
	Strekkodsetikett för kalibrator	—

Aptima HIV-1 Quant Dx kontrollsats (artnr. PRD-03002)
(förvaras i –15 till 35 °C efter leverans)

Symbol	Komponent	Antal
NC	qHIV-1 negativ kontroll <i>HIV-1-negativ defibrinerad human plasma innehållande gentamicin och 0,2 % natriumazid som konserveringsmedel.</i>	5 x 1,5 ml
LPC	qHIV-1 låg positiv kontroll <i>Icke smittförande HIV-1 Armored RNA i defibrinerad human plasma innehållande gentamicin och 0,2 % natriumazid som konserveringsmedel.</i>	5 x 1,5 ml
HPC	qHIV-1 hög positiv kontroll <i>Icke smittförande HIV-1 Armored RNA i defibrinerad human plasma innehållande gentamicin och 0,2 % natriumazid som konserveringsmedel.</i>	5 x 1,5 ml
	Kontrollens strekkodsetikett	—

Material som krävs men som införskaffas separat

Anmärkning: Materiel tillgängligt från Hologic anges med artikelnummer, såvida det inte specificeras på annat sätt.

Material	Artikelnr
Panther System	—
Panther Run Kit for Real Time Assays (endast för realtidsassayer)	PRD-03455 (5000 analyser)
<i>Aptima-analysvätskesats (kallas även universalvätskesats) innehåller Aptima-tvättlösning, Aptima-buffert för inaktiveringsvätska och Aptima-oljereagens</i>	303014 (1 000 analyser)
<i>Multirörsenheter (Multi-Tube Units, MTU)</i>	104772-02
<i>Sats med Panther-avfallspåsar</i>	902731
<i>Lock till Panther-avfallsbehållare</i>	504405
Eller, Panther System Run Kit	303096 (5000 analyser)
<i>(vid körning av icke-realtids-TMA-assayer parallellt med TMA-assayer i realtid) innehåller MTU-enheter, avfallspåsar, lock till avfallsbehållare, auto detect och analysvätskor</i>	
Spetsar, 1 000 µl konduktiva, vätskeavkännande	10612513 (Tecan)

Blekmedel, 5 % till 7 % (0,7 M till 1,0 M) natriumhypokloritlösning	—
Puderfria engångshandskar	—
Ogenomträngliga utbyteslock	103036A
Utbyteslock till reagens	
<i>Flaskor för rekonstitutionslösningar för amplifierings-, enzym- och promotorreagens</i>	CL0041 (100 lock)
<i>TCR-flaska</i>	CL0040 (100 lock)
Plastade överdrag för laboratoriebank	—
Luddfria dukar	—
Pipett	—
Spetsar	—
Primära provtagningsrör (ACD, EDTA, PPT, SST, Serum) med följande dimensioner kan användas:	—
13 mm x 100 mm	
13 mm x 75 mm	
16 mm x 100 mm	
Centrifug	—
Vortexblandare	—

Valfri materiel

Material	Artikelnr
Aptima-provalikvotrör (SAT), (100-pack)	503762
Lock till transportrör (100-pack) <i>lock till SAT</i>	504415
Aptima provspädningsmedel	PRD-03003
Aptima provspädningsmedelssats <i>innehåller provspädningsmedel, 100 provalikvotrör och 100 lock</i>	PRD-03478
Överföringspipetter	—
Kommersiellt tillgängliga paneler, exempelvis: <i>HIV-1 från kvalitetskontroll för molekylärdiagnostik (Quality Control for Molecular Diagnostics, QCMD) eller College of American Pathologists (CAP) HIV – undersökningspanel för virusbelastning – eller SeraCare ACCURUN HIV-paneler</i>	—
Provpinnar med bomullstopp	—
Provrörsvagga	—

Analysmetod för Panther System

Anmärkning: Se Panther System Operator's Manual (användarhandledning till Panther System) för ytterligare metodinformation.

A. Förberedelse av arbetsyta

1. Rengör arbetsytor där reagenser ska förberedas. Torka av arbetsytor med 2,5 % till 3,5 % (0,35 M till 0,5 M) natriumhypokloritlösning. Låt natriumhypokloritlösningen vara i kontakt med ytorna i minst 1 minut och skölj sedan med avjoniserat vatten (deionized, DI). Låt inte natriumhypokloritlösningen torka. Täck ytan på bänken där reagenserna och proverna ska förberedas med rena, plastfodrade, absorberande laboratoriebänkskydd.
2. Rengör en separat arbetsyta där prover ska beredas. Använd ovan beskriven metod (steg A.1).
3. Rengör eventuella pipetter. Använd ovan beskriven metod (steg A.1).

B. Beredning av kalibrator och kontroller

Låt kalibratoren och kontrollerna nå 15 °C till 30 °C innan de bereds enligt följande:

1. Ta ut kalibratoren och kontrollerna från förvaringen (-15 °C till -35 °C) och placera dem i 15 °C till 30 °C. Invertera försiktigt varje provrör för att blanda dem noga under hela upptyningsprocessen. Kontrollera att provrörens innehåll är helt upptinat före användning.

Tillval. Kalibrator- och kontrollrören kan placeras i en provrörsvagga för grundlig blandning. Kontrollera att provrörens innehåll är helt upptinat före användning.

Anmärkning: Undvik omfattande skumbildning när du inverterar kalibratoren och kontrollerna. Skum äventyrar nivåavkänning i Panther System.

2. När provrörens innehåll har tinat torkar du av provrörens utsida med en ren, torr engångsduk.
3. Öppna inte rören i det här stadiet eftersom det kan leda till förorening av innehållet.

C. Reagensrekonstitution/förberedelse av en ny sats

Anmärkning: Reagensrekonstitution ska utföras innan något arbete påbörjas på Panther System.

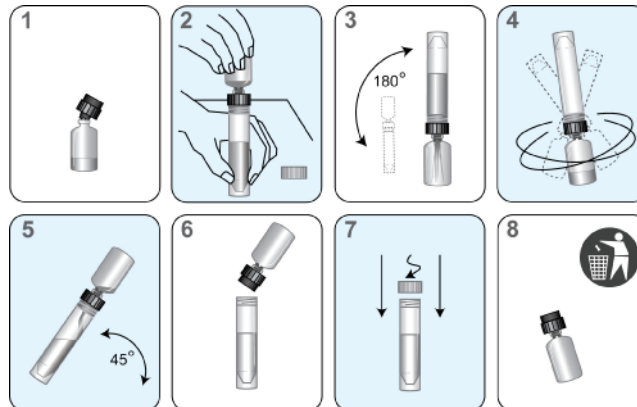
1. Gör följande för att bereda reagens för målsekvensinfångning (TCR):
 - a. Ta ut TCR ur förvaringen (2 °C till 8 °C). Kontrollera satsnumret på TCR-flaskan för att kontrollera att det motsvarar satsnumret på streckodsbladet för huvudsatsen.
 - b. Skaka omedelbart TCR-flaskan kraftigt 10 gånger. Låt TCR-flaskan stå i 15 °C till 30 °C i minst 45 minuter för att värmas upp. Virvla och invertera på TCR-flaskan minst var 10:e minut under denna period.

Tillval. TCR-flaskan kan beredas på en provrörsvagga enligt följande anvisningar: Ta ut TCR ur förvaringen (2 °C till 8 °C) och skaka den omedelbart kraftigt 10 gånger. Placera TCR-flaskan på en provrörsvagga och låt den stå i 15 °C till 30 °C i minst 45 minuter för att värmas upp.

- c. Kontrollera att alla utfällningar har lösts upp och att magnetpartiklarna har suspenderats innan du använder den.

2. Gör så här för att rekonstituera amplifierings-, enzym- och promotorreagens:
 - a. Ta ut de frystorkade reagensen och motsvarande rekonstitutionslösningar från förvaringen (2 °C till 8 °C). Para ihop varje rekonstitutionslösning med motsvarande frystorkade reagens.
 - b. Kontrollera att rekonstitutionslösningen och det frystorkade reagenset har matchande etikettfärger. Kontrollera partinumret på huvudsatsens streckodsblad så att korrekta reagenser paras ihop.
 - i. Öppna ampullen med frystorkat reagens genom att avlägsna metallförseglingen och gummiproppen.
 - ii. För bestämt in den skårade änden av rekonstitutionskragen (svart) i ampullen (Figur 5, Steg 1).
 - iii. Öppna motsvarande flaska med rekonstitutionslösning och lägg locket på en ren, täckt arbetsyta.
 - iv. Placera flaskan med rekonstitutionslösning på en stabil yta (t.ex. bänken). Invertera sedan ampullen med frystorkat reagens över flaskan med rekonstitutionslösning och fäst kragen på flaskan med rekonstitutionslösning ordentligt (Figur 5, Steg 2).
 - v. Invertera långsamt de hopmonterade flaskorna (ampullen ansluten till lösningsflaskan) så att lösningen får rinna in i glasampullen (Figur 5, Steg 3).
 - vi. Ta upp de hopmonterade flaskorna och virvla dem i minst 10 sekunder (Figur 5, Steg 4).
 - vii. Vänta i minst 30 minuter tills det frystorkade reagenset har lösts upp i lösningen.
 - viii. När det frystorkade reagenset har lösts upp i lösningen ska du virvla de hopmonterade flaskorna i minst 10 sekunder och därefter försiktigt vagga lösningen i glasampullen fram och tillbaka för att blanda noga.
 - c. Luta långsamt de hopmonterade flaskorna igen för att låta all lösning rinna tillbaka in i rekonstitutionslösningsflaskan (Figur 5, Steg 5).
 - d. Ta försiktigt bort rekonstitutionskragen och glasampullen (Figur 5, Steg 6).
 - e. Sätt tillbaka locket på flaskan. Notera operatörens initialer och rekonstitutionsdatum på etiketten (Figur 5, Steg 7).
 - f. Kassera rekonstitutionskragen och glasampullen (Figur 5, Steg 8).

Varning: Undvik kraftig skumbildning vid rekonstitution av reagenser. Skum äventyrar nivåavkänning i Panther System.



Figur 5. Reagensrekonstitutionsprocess

D. Reagensförberedelse för tidigare beredda reagenser

1. Avlägsna de tidigare beredda reagenserna från förvaringen (2 °C till 8 °C).
2. Tidigare beredda amplifierings-, enzym- och promotorreagens samt infångade målreagens måste nå 15 till 30 °C innan analysen påbörjas.
3. För tidigare berett TCR, utför steg C.1 ovan innan du laddar det i systemet.
4. Virvla och invertera på amplifierings-, enzym- och promotorreagenserna för att blanda dem noga innan de laddas i systemet. Undvik att skapa kraftig skumbildning när du inverterar reagenser.
5. Toppfyll inte reagensflaskor. Panther System känner av och avvisar flaskor som är toppfyllda.

E. Provhantering

1. Kontrollera att frysta prover har tinats upp ordentligt. Vortexblanda de upptinade proverna i 3 till 5 sekunder för att blanda dem ordentligt.
2. Låt proverna nå 15 °C till 30 °C innan de behandlas. Se *Prover i Panther System* för mer information om prover i instrumentet.
3. Kontrollera att varje primärt provtagningsrör innehåller minst 1 200 µl prov. Se till att varje Aptima-provalikvotrör (SAT) innehåller minst 700 µl prov. Om provspädning krävs se steg E.6 nedan för ytterligare information.
4. Vortexblanda prover i SAT-rör i 3 till 5 sekunder för att blanda dem noga.
5. Centrifugera varje prov vid 1 000 till 3 000g i 10 minuter alldeles innan proverna laddas i ett provställ. Ta inte av locken. Bubblor i provröret äventyrar nivåavkänning av Panther System.

Se *Systemförberedelse*, steg F.2 nedan för information om laddning av ställ och avlägsnande av locken.

6. Späda ut ett plasmaprov i provalikvotröret.

Ett plasmaprov kan spädas ut i provalikvotröret för analys i Panther System.

- ⚠ Spädning av plasmaprover får endast användas för kvantitativa resultat. Späd inte ut plasmaprover för diagnostiska resultat.

Anmärkning: Om ett prov späds ut måste det testas omedelbart efter spädningen.

a. Späda ut prover med låg volym

Volymen på plasmaprover kan ökas till den minsta volym som krävs (700 µl) med användning av Aptima provspädningsmedel. Prover med minst 240 µl plasma kan spädas med två delar provspädningsmedel (1:3) enligt följande:

- i. Placera 240 µl provämne i provalikvotröret.
- ii. Tillsätt 480 µl provspädningsmedel.
- iii. Sätt lock på röret.
- iv. Invertera försiktigt 5 gånger för att blanda.

Prover som späts 1:3 kan testas med alternativet 1:3 på Panther System (Se *Panther System Operator's Manual* (användarhandledning för Panther System) för mer information). Programvaran rapporterar automatiskt det utspädda resultatet genom att använda spädningsfaktorn. Dessa prover flaggas som utspädda prover.

b. Utspädning av prover med högre titrer

Om ett provs resultat ligger över den övre kvantifieringsgränsen kan det spädas med 99 delar Aptima provspädningsmedel (1:100) enligt följande:

- i. Placera 30 µl provämne i provalikvotröret.
- ii. Tillsätt 2 970 µl provspädningsmedel.
- iii. Sätt lock på röret.
- iv. Invertera försiktigt 5 gånger för att blanda.

Prov som späds ut med förhållandet 1:100 kan analyseras med alternativet 1:100 på Panther System (se *användarhandledningen för Panther System* för mer information). Programvaran rapporterar automatiskt det utspädda resultatet genom att tillämpa spädningsfaktorn. Dessa prover flaggas som utspädda prover.

Anmärkning: För utspädda prover med rena koncentrationer högre än övre kvantifieringsgränsen kommer resultaten att rapporteras med hjälp av vetenskaplig notering.

F. Systemförberedelse

1. Ställ in systemet enligt instruktionerna i *Panther System Operator's Manual* (användarhandledning för Panther System) och *Metodanmärkingar*. Kontrollera att reagensställ och TCR-adaptrar av lämplig storlek används.
2. Ladda proverna i provstället. Utför följande steg för varje provrör (prov, och om så krävs, kalibrator och kontroller):

- a. Lossa locket på ett provrör, men ta inte bort det än.

Anmärkning: Var särskilt försiktig för att undvika kontamination genom spridning av aerosoler. Lossa försiktigt locken på proverna.

- b. Ladda provröret i provstället.
- c. Upprepa steg 2.a och 2.b för varje kvarvarande prov.
- d. När proverna har laddats i provstället, ta bort och kassera varje provrörslock i ett provställ. Undvik kontamination genom att inte föra ett lock över några andra provställ eller provrör.
- e. Använd om så krävs en ny överföringspipett för engångsbruk för att avlägsna eventuella bubblor eller skum.
- f. När det sista locket har tagits bort laddar du provstället i provfacket.

Anmärkning: Om du kör andra analyser och provtyper samtidigt måste du säkra provhållaren innan provstället laddas i provfacket.

g. Upprepa steg 2.a till 2.f för nästa provställ.

Metodanmärkingar

A. Kalibrator och kontroller

1. Rören för qHIV-1 positiv kalibrator, qHIV-1 låg positiv kontroll, qHIV-1 hög positiv kontroll och qHIV-1 negativ kontroll kan laddas i alla positioner i provstället och i alla provfackbanor i Panther System. Provpipettering inleds när ett av följande två villkor är uppfyllt:
 - a. Systemet bearbetar kalibratorm och kontrollerna.
 - b. Systemet registrerar giltiga resultat för kalibratorm och kontrollerna.
2. När kalibrator- och kontrollrören har pipetterats och behandlar för Aptima HIV-1 Quant Dx-assayreagenssats kan proverna testas med motsvarande rekonstituerad sats i upp till 24 timmar, **såvida inte**:
 - a. Kalibrator- eller kontrollresultaten är ogiltiga,
 - b. Den tillhörande analysreagenssatsen avlägsnas från systemet.
 - c. Den associerade assayreagenssatsen har överskridit stabilitetsgränserna.
3. Kalibratorm och varje kontrollrör kan användas en gång. Om du försöker att använda röret mer än en gång kan bearbetningsfel uppstå.

B. Handskpuder

Som med alla reagenssystem kan för mycket puder på vissa handskar orsaka kontamination av öppna rör. Puderfria handskar rekommenderas.

Kvalitetskontroll

Ett körnings- eller provresultat kan anges som ogiltigt av en operatör om tekniska, operatörs- eller instrumentrelaterade svårigheter observeras under genomförandet av analysen och dessa har dokumenterats. I det här fallet måste proverna analyseras igen.

Analyskalibrering

För att få fram giltiga resultat måste en analyskalibrering utföras. En enskild positiv kalibrator körs i tre replikat varje gång en reagenssats laddas i Panther System. En utförd kalibrering gäller i upp till 24 timmar. Programvaran i Panther System varnar operatören när kalibrering krävs. Operatören scannar en kalibreringskoefficient som finns på det streckkodsblad för huvudsatsen som medföljer varje reagenssats.

Under behandlingen verifieras acceptanskriterierna för kalibratören automatiskt av programvaran i Panther System. Om mindre än två av kalibratorreplikaten är giltiga anger programvaran automatiskt att körningen är ogiltig. Prover i en ogiltig körning måste analyseras på nytt med nyberedd kalibrator och nyberedda kontroller.

Negativa och positiva kontroller

För att få fram giltiga resultat måste en uppsättning analyskontroller testas. Ett replikat av den negativa kontrollen, den låga positiva kontrollen och den höga positiva kontrollen måste analyseras varje gång en reagenssats laddas i Panther System. En utförd kontroll gäller i upp till 24 timmar. Programvaran i Panther System varnar operatören när kontroller krävs.

Under behandlingen verifieras acceptanskriterierna för kontrollerna automatiskt av programvaran i Panther System. För att generera giltiga resultat måste den negativa kontrollen ge resultatet "Ej detekterat" och de positiva kontrollerna måste ge resultat inom på förhand definierade parametrar. Om någon av kontrollerna har ett ogiltigt resultat anger programvaran automatiskt att körningen är ogiltig. Prover i en ogiltig körning måste analyseras på nytt med nyberedd kalibrator och nyberedda kontroller.

Intern kalibrator/intern kontroll

Varje prov innehåller en intern kalibrator/intern kontroll (IC). Under behandlingen verifieras acceptanskriterierna för IC automatiskt av programvaran i Panther System. Om ett IC-resultat är ogiltigt blir även provresultatet ogiltigförklarat. Varje prov med ett ogiltigt IC-resultat måste testas på nytt för att få fram ett giltigt resultat.

Panther System-programvaran är konstruerad för exakt verifiering av processer då procedurerna utförs i enlighet med anvisningarna i den här bipacksedeln och användarhandledningen för *Panther System*.

Tolkning av resultat

Anmärkning: Kvantitativa resultat av Aptima HIV-1 Quant Dx Assay har utvärderats med plasma. Serum får inte användas för att erhålla kvantitativa resultat. Kvalitativa resultat har utvärderats med både plasma och serum.

Panther System fastställer automatiskt koncentrationen av HIV-1-RNA för prover och kontroller genom att jämföra resultaten med en kalibreringskurva. HIV-1-RNA-koncentrationerna rapporteras i kopior/ml och \log_{10} -kopior/ml. Tolkningen av resultaten ges i Tabell 1. Om spädningen på 1:3 eller 1:100 används för utspädda prover beräknar Panther System automatiskt HIV-1-koncentrationen för det rena provet genom att multiplicera den utspädda koncentrationen med spädningsfaktorn, och utspädda prover flaggas som utspädda.

Anmärkning: Med utspädda prover kan resultat listade som "Ej detekterat" eller "<30 detekterat" komma att genereras vid utspädning av ett prov med en koncentration över men i närheten av LOD (detekteringsgränsen) eller LLOQ (nedre kvantifieringsgränsen). Det rekommenderas att ytterligare ett outspätt prov tas och analyseras om inget kvantitativt resultat erhålls.

Panther System tillhandahåller inte något kvalitativt resultat (t.ex. "Reaktivt" eller "Icke-reaktivt") för diagnostisk användning. Operatören måste tolka den rapporterade HIV-1-RNA-koncentrationen till ett kvalitativt resultat (Tabell 1). Prover med resultat som anges som "Har ej detekterats" är icke-reaktiva för HIV-1-RNA. Prover med resultat som anges som "<30 har detekterats" eller prover med angivna resultat inom det linjära intervallet innebär att HIV-1-RNA har detekterats, och dessa prover är reaktiva för HIV-1-RNA.

Tabell 1: Tolkning av resultat

Rapporterat resultat för Aptima HIV-1 Quant Dx Assay		Tolkning av HIV-1-RNA-koncentration	Användarens diagnostiska kvalitativa tolkning ^c
Kopior/ml ^a	Log ₁₀ -värde ^b		
Ej detekterat	Ej detekterat	HIV-1-RNA har ej detekterats.	Icke-reaktivt för HIV-1-RNA
<30 har detekterats	<1,47	HIV-1 RNA har detekterats, men på en nivå under den nedre kvantifieringsgränsen (Lower Limit of Quantitation, LLOQ).	Reaktivt för HIV-1-RNA
30 till 10 000 000	1,47 till 7,00	HIV-1-RNA-koncentrationen ligger inom det linjära intervallet 30 till 10 000 000 kopior/ml.	Reaktivt för HIV-1-RNA
>10 000 000	>7,00	HIV-1-RNA-koncentrationen ligger över den övre kvantifieringsgränsen (Upper Limit of Quantitation, ULOQ).	Reaktivt för HIV-1-RNA
Ogiltigt ^d	Ogiltigt ^d	Ett fel har uppstått när resultatet genererades. Provet måste analyseras på nytt.	Ogiltigt

^a Konverteringsfaktorn för kopior till internationella enheter (IE) för den 3:e internationella standarden för HIV-1-RNA (10/152) är 0,35 kopior/IE.

^b Värdet trunckeras till två decimaler.

^c En diagnostisk tolkning kan göras från antingen serum- eller plasmaprover som inte har späts ut.

^d Ogiltiga resultat visas med blå text.

Begränsningar

- A. Användning av denna analys förbehålls personal som har utbildning i förfarandet. Underlåtenhet att följa anvisningarna i denna bipacksedel kan ge felaktiga resultat.
- B. Tillförlitliga resultat kräver adekvat provtagning, transport, förvaring och behandling av prover.
- C. Denna analys har validerats för användning som en kvantitativ analys med endast human plasma.
- D. Denna analys har validerats för användning som en kvalitativ analys med human plasma och serum.
- E. Även om det är sällsynt kan mutationer i de högkonserverade regionerna av det virala genomet som täcks av primrar och/eller prober i Aptima HIV-1 Quant Dx Assay leda till underkvantifiering av eller misslyckad detektion av viruset.

Prestanda

Detekteringsgräns (Limit of Detection, LOD) vid användning av WHO:s tredje internationella HIV-1-standard

Detektionsgränsen (Limit of Detection, LOD) definieras som den koncentration av HIV-1-RNA som detekteras med 95 % sannolikhet eller högre enligt CLSI EP17-A2 (39). LOD fastställdes genom att testa paneler som bestod av spädningar av 3rd HIV-1 WHO International Standard (subtyp B, NIBSC-kod: 10/152) i HIV-1-negativ plasma. Trettio replikat av varje spädning kördes på tre Panther System med användning av tre olika reagenssatser, sammanlagt 90 replikat av varje spädning. Enligt CLSI EP17-A2 definieras resultaten från den reagenssats som hade den högsta koncentrationen för förutspådd detektionsgräns som LOD och visas i Tabell 2. Genom Probit-analys är LOD för Aptima HIV-1 Quant Dx Assay 12 kopior/ml (35 IE/ml, 0,35 kopior = 1 IE).

Tabell 2: Detektionsgräns för Aptima HIV-1 Quant Dx Assay med användning av 3rd HIV-1 WHO International Standard

Förutspådd detektionsgräns	Koncentration (kopior/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

Detektionsgräns för olika HIV-1-undertyper och -grupper

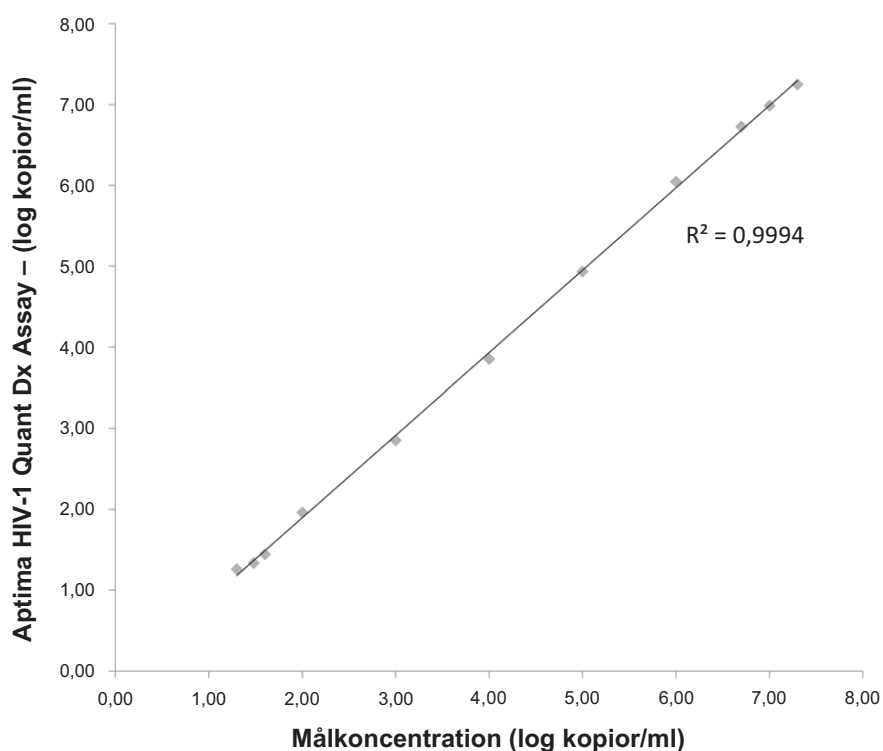
För HIV-1 grupp M (undertyperna A, C, D, F, G, CRF01_AE, CRF02_AG) samt grupp N och O skapades sju paneler genom att tillsätta antingen odlad HIV-1-virus eller positiva kliniska prover till HIV-1-negativ human plasma (0 till 40 kopior/ml). Varje panelmedlem testades i 30 replikat med två reagenssatser, sammanlagt 60 replikat per panelmedlem. Tilldelning av koncentration för kliniska prover eller odlade virusstammar fastställdes med användning av en jämförande analys. Probit-analys utfördes för att få fram förutspådda 50 % och 95 % detektionsgränser. Enligt CLSI EP17-A2 (39) definieras resultaten från den reagenssats som hade den högsta koncentrationen för förutspådd detektionsgräns som LOD och visas i Tabell 3.

Tabell 3: Detektionsgräns för olika HIV-1-undertyper och -grupper

Undertyp/grupp	Förutspådd detektionsgräns	Koncentration (kopior/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

Linjärt intervall

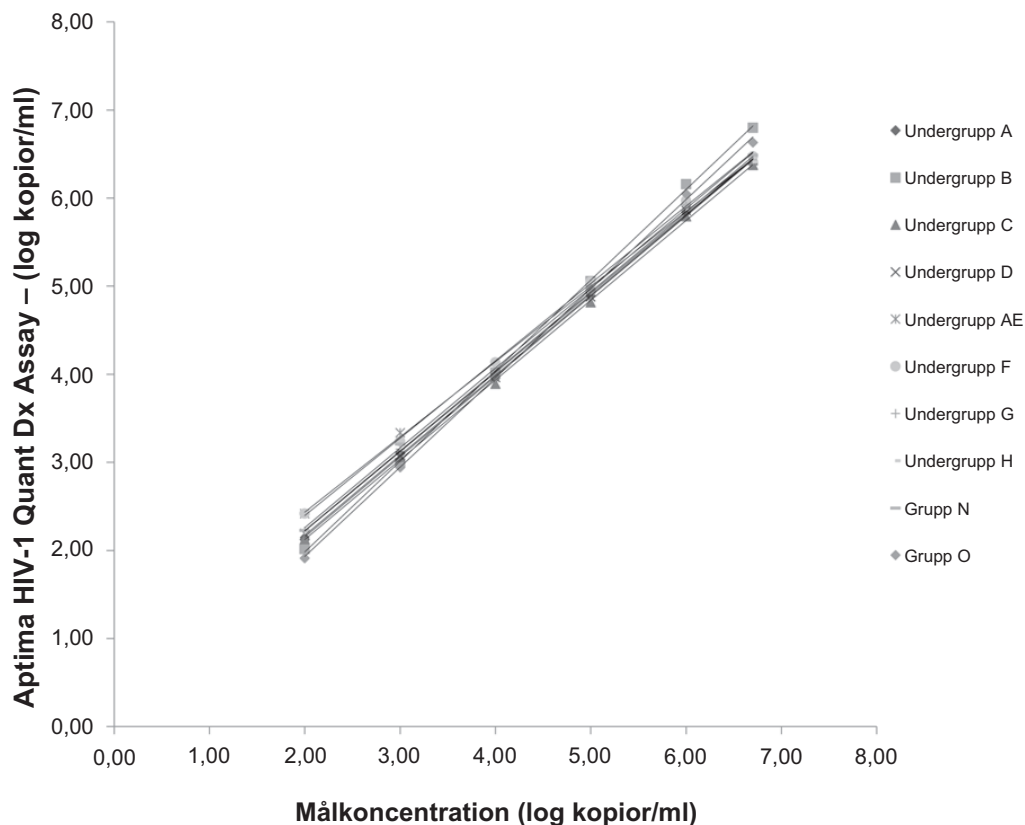
Det linjära intervallet för Aptima HIV-1 Quant Dx Assay fastställdes genom att testa paneler bestående av odlade HIV-1-virus undertyp B utspädda i HIV-1-negativ human plasma enligt CLSI EP06-A (40). Panelerna hade en koncentration från 1,30 till 7,30 log-kopior/ml. Analys utfördes på sju Panther System med två reagenssatser Aptima HIV-1 Quant Dx Assay. Som framgår av Figur 6 uppvisade Aptima Quant Dx Assay linjäritet över hela det testade intervallet.



Figur 6. Linjäritet för Aptima HIV-1 Quant Dx Assay

Linjäritet över olika HIV-1-undertyper och -grupper

Den linjära responsen för Aptima HIV-1 Quant Dx Assay över grupperna M (undertyperna A, B, C, D, F, G, H, CRF01_AE) samt grupp N och O bekräftades genom att testa paneler som bestod av HIV-1-transkript utspädd i buffert vid koncentrationer från 2,00 till 6,70 log-kopior/ml. Analyserna utfördes på fyra Panther System och sex körningar. Linjäritet påvisades över det intervall som testades (Figur 7).



Figur 7. Linjäritet över grupp M (undertyp A, B, C, D, F, G, H, CRF01_AE) samt grupp N och O

Nedre kvantifieringsgräns (Lower Limit of Quantitation, LLOQ) vid användning av WHO:s tredje internationella HIV-1-standard

Den nedre kvantifieringsgränsen (LLOQ) definieras som den lägsta koncentration vid vilken HIV-1-RNA på ett tillförlitligt sätt kan kvantifieras inom ett totalt fel (total error, TE) enligt CLSI EP17-A2 (39). TE beräknades med Westgard-modellen ($TE = |\text{bias}| + 2SD$). För att säkerställa mätningarnas noggrannhet och precision fastställdes TE för Aptima HIV-1 Quant Dx Assay till 1 log-kopior/ml (dvs. vid LLOQ är en skillnad mellan två mätningar på mer än 1 log-kopior/ml statistiskt signifikant).

LLOQ fastställdes genom att testa paneler som bestod av spädningar av 3rd HIV-1 WHO International Standard (subtyp B, NIBSC-kod: 10/152) i HIV-1 negativ plasma. Enligt CLSI EP17-A2 testades panelerna med tre reagenssatser i replikat om 30 för varje sats från 23 körningar. Resultaten visas i Tabell 4. Den högsta nedre kvantifieringsgränsen för de tre satserna som har analyserats på Aptima HIV-1 Quant Dx assay med hjälp av WHO:s tredje internationella HIV-1-standard är 15 kopior/ml (1,17 log kopior/ml) (Tabell 5).

Tabell 4: Bestämning av LLOQ för Aptima HIV-1 Quant Dx Assay med användning av 3rd HIV-1 WHO International Standard

Reagenssats	Målkoncentration (log-kopior/ml)	Aptima HIV-1 Quant Dx (log-kopior/ml)	SD (log-kopior/ml)	Bias (log-kopior/ml)	Beräknad TE (log-kopior/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 = standardavvikelser

Tabell 5: Sammanfattning av LLOQ med användning av 3rd HIV-1 WHO International Standard (3 reagenssatser)

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

Verifiering av LLOQ över HIV-1-undertyper och -grupper

LLOQ över HIV-1-undertyper och -grupper verifierades enligt CLSI EP17-A2 (39). Paneler skapades för varje HIV-1-grupp M (undertyp A, B, C, D, F, G, CRF01_AE, CRF02_AG), samt grupp N och O genom att tillsätta antingen naturligt infekterade kliniska prover eller kliniska isolat till poolad HIV-1-negativ human plasma. Analysen bestod av sammanlagat 30 replikat per panelmedlem. Uppgifterna i Tabell 6 visar den lägsta koncentrationen för varje undertyp eller grupp vid vilken TE var mindre än 1 log-kopior/ml. Den högsta LLOQ för samtliga undertyper och grupper som testades var 30 kopior/ml, detta högre värde valdes därför som LLOQ för Aptima HIV-1 Quant Dx Assay.

Tabell 6: Verifiering av LLOQ efter HIV-1-undertyp eller -grupp

Panel	LLOQ (kopior/ml)
Undertyp A	30
Undertyp CRF01_AE	10
Undertyp CRF02_AG	30
Undertyp B	10
Undertyp C	30
Undertyp D	15
Undertyp F	15
Undertyp G	30
Grupp N	10
Grupp O	15

Precision

För att bedöma precisionen för Aptima HIV-1 Quant Dx Assay testades en panel som skapades genom att tillsätta odlad HIV-1 undertyp B-virus till HIV-1-negativ plasma av tre operatörer med användning av tre reagenssatser på tre olika Panther System under 20 dagar (Tabell 7). Panelen bestod av en HIV-1-negativ panelmedlem och åtta HIV-1-positiva panelmedlemmar. Tilldelning av koncentration för kliniska prover eller odlade virusstammar fastställdes med användning av en jämförande analys.

Tabell 7: Precision för Aptima HIV-1 Quant Dx Assay

Antal giltiga replikat	Medelkoncentration (log-kopior/ml)	Mellan instrument		Mellan operatörer		Mellan batcher		Mellan körningar		Inom körning		Totalt	
		SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)
137	1,80	0,00	0,00	0,03	1,72	0,00	0,00	0,00	0,00	0,16	8,93	0,16	9,10
157	2,37	0,00	0,00	0,05	2,08	0,01	0,36	0,08	3,33	0,15	6,19	0,17	7,34
160	2,47 ^a	0,00	0,00	0,03	1,37	0,03	1,35	0,07	2,97	0,12	5,03	0,15	6,15
162	2,95	0,00	0,00	0,08	2,57	0,02	0,61	0,10	3,29	0,09	3,04	0,15	5,20
162	3,80	0,01	0,32	0,03	0,80	0,02	0,48	0,06	1,49	0,07	1,80	0,10	2,53
159	4,93	0,00	0,00	0,02	0,37	0,04	0,77	0,05	1,10	0,04	0,71	0,08	1,56
162	5,69	0,00	0,00	0,02	0,27	0,04	0,66	0,03	0,58	0,07	1,29	0,09	1,58
162	6,71	0,00	0,00	0,01	0,22	0,04	0,52	0,04	0,60	0,05	0,78	0,08	1,13

CV = variationskoefficient, SD = standardavvikelse

^a Den här panelmedlemmen späddes ut 1:3 med provspädningsmedel och analyserades för utvärdering av det utspädda provets precision.

Anmärkning: Variabiliteten för vissa faktorer kan vara numeriskt negativ, vilket kan inträffa om variabiliteten på grund av dessa faktorer är mycket liten. När detta inträffar är SD = 0 och VK = 0 %. Det totala antal replikat som testades var 162 för varje panel; endast replikat med ett numeriskt värde analyserades.

Potentiellt störande substanser

Aptima HIV-1 Quant Dx Assays känslighet för interferens från förhöjda nivåer av endogena substanser och läkemedel som ofta ordineras till personer som är infekterade med HIV-1 utvärderades. HIV-1-negativa plasmaprover från människa och prover med tillsats till en koncentration av 3 log kopior/ml av HIV-1 RNA testades.

Ingen interferens av prestandan hos Aptima HIV-1 Quant Dx Assay observerades i närvaro av albumin (90 mg/ml), hemoglobin (5 mg/ml), triglycerider (30 mg/ml) eller okonjugerat bilirubin (0,2 mg/ml).

Ingen interferens av prestandan hos Aptima HIV-1 Quant Dx Assay observerades i närvaro av de exogena substanser som anges i Tabell 8 vid koncentrationer på minst tre gånger C_{\max} (human plasma).

Tabell 8: Exogena substanser

Exogen substanspool	Exogena substanser som testats
1	Lopinavir, indinavir, sakvinavir, ritonavir, nelfinavirmesylat, darunavir, amprenavir, atazanavir
2	Nevirapin, efavirenz, rilpivirin, klaritromycin, amfotericin B
3	Tenofovirdisoproxilfumarat, adefovirdipivoxil, ribavirin, enfuvirtid, maraviroc, raltegravir, dolutegravir
4	Abakavirsulfat, didanosin, zidovudin, lamivudin, stavudin, entecavir, telbivudin, emtricitabin
5	Paroxetin-HCl, fluoxetin, sertralin
6	Ganciklovir, valacyklovir, acyclovir, rifampicin, etambutol
7	Ciprofloxacin, azitromycin, amoxicillin, cefalexin, ampicillin, trimetoprim
8	Valganciklovirhydroklorid, boceprevir, telaprevir, simeprevir, sofosbuvir
9	Pegylerad alfa-interferon-2b, alfa-interferon-2a, alfa-interferon-2b
10	Heparin, EDTA, natriumcitrat
11	Tipranavir
12	Isoniazid

De kliniska plasmaprover som anges i Tabell 9 från patienter med förhöjda nivåer av definierade substanser eller från patienter med de sjukdomar som anges i listan testades med Aptima HIV-1 Quant Dx Assay med och utan närvaro av 3 log-kopior av HIV-1 RNA. Ingen interferens på prestandan observerades.

Tabell 9: Kliniska provtyper som testats

Kliniska provtyper	
1	Reumatoid faktor (RF)
2	Antinukleär antikropp (ANA)
3	Anti-Jo-1-antikropp (JO-1)
4	Systemisk lupus erythematosus (SLE)
5	Reumatoid Artrit (RA)
6	Multipel skleros (MS)
7	Hyperglobulinemi
8	Förhöjd alaninaminotransferas (ALT)
9	Alkoholcirros (AC)
10	Multipelt myelom (MM)
11	Lipemi (förhöjt lipidvärde)
12	Ikterisk (förhöjt bilirubin)
13	Hemolyserat (förhöjt hemoglobin)
14	Förhöjt proteinalbumin
15	HCV-antikroppar
16	HBV-antikroppar
17	HIV-2-antikroppar

Specificitet

Specificiteten för Aptima HIV-1 Quant Dx Assay fastställdes med användning av 120 färsk och 510 frysta HIV-1-negativa plasmaprover samt 120 färsk och 510 frysta HIV-1-negativa serumprover. Samtliga resultat var icke-reaktiva (specificitet 100 %, 95 % KI: 99,4-100 %).

Tabell 10: Specificitet i plasma- och serumprover

	Färsk plasma	Fryst plasma	Plasma totalt	Färskt serum	Fryst serum	Serum totalt
Giltiga replikat (n)	120	510	630	120	510	630
Icke-reaktiv	120	510	630	120	510	630
Specificitet (95 % KI)	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 = konfidensintervall

Analytisk specificitet

Potentiell korsreaktivitet för patogener (Tabell 11) utvärderades för Aptima HIV-1 Quant Dx Assay i närvaro eller frånvaro av 3 log-kopior/ml HIV-1-RNA i HIV-1-negativ plasma. Ingen interferens på analysens prestanda observerades i närvaro av dessa patogener.

Tabell 11: Patogener som testats för analytisk specificitet

Patogen	Koncentration
Hepatit A-virus	100 000 PBE/ml ^a
Hepatit B-virus	100 000 IE/ml ^b
Hepatit C-virus	100 000 IE/ml
Hepatit G-virus	100 000 kopior/ml
Herpes simplex-virus 1 (HSV-1)	100 000 PBE/ml
Herpes simplex-virus 2 (HSV-2)	75 000 PBE/ml
Humant herpesvirus 6	100 000 kopior/ml
Humant herpesvirus 8	42 000 PBE/ml
HIV-2	5 500 PBE/ml
Humant lymfotropiskt T-cellvirus (HTLV)	100 000 vp/ml ^c
Västra Nilen-virus	100 000 kopior/ml
Parvovirus B19	100 000 IE/ml
Cytomegalovirus	100 000 kopior/ml
Epstein-Barr-virus	100 000 kopior/ml
Adenovirus typ 5	100 000 PBE/ml
Denguevirus	100 000 kopior/ml
Influensa A-virus	100 000 PBE/ml
<i>Staphylococcus aureus</i>	1 000 000 CBE/ml ^d
<i>Propionibacterium acnes</i>	1 000 000 CBE/ml
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1 000 000 CBE/ml
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1 000 000 CBE/ml
<i>Chlamydia trachomatis</i>	300 000 IFU/ml ^e
<i>Candida albicans</i>	1 000 000 CBE/ml

^a PBE/ml = Plackbildande enheter per ml.

^b IE/ml = Internationella enheter per ml.

^c vp/ml = Virala partiklar per ml.

^d CBE/ml = Kolonibildande enheter per ml.

^e IFU/ml = Inklusionsbildande enheter per ml.

Repeterbarhet för kliniska prover

Tio kliniska plasmaprover testades i tre replikat med användning av Aptima HIV-1 Quant Dx Assay. Den genomsnittliga koncentrationen och standardavvikelse framgår av Tabell 12.

Tabell 12: Repeterbarhet för kliniska prover

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

Provspädning med provspädningsmedel

För att bedöma provspädningen testades en panel bestående av 11 prover med koncentrationer som sträckte sig över det linjära intervallet för Aptima HIV-1 Quant Dx Assay och som bestod av två prover över den övre kvantifieringsgränsen för analysen utspädd samt utspädd (1:3 eller 1:100 i provspädningsmedel) i tredubbla replikat (Tabell 13).

Tabell 13: Provspädning

Spädning	Genomsnittlig utspädd koncentration (log-kopior/ml)	Genomsnittlig rapporterad koncentration ^a (log-kopior/ml)	Differens
1:3	2,57	2,72	0,15
	3,20	3,33	0,13
	3,24	3,55	0,30
	3,97	4,05	0,07
	4,20	4,24	0,04
	4,85	4,81	-0,04
	5,17	5,08	-0,08
	5,51	5,32	-0,19
	5,84	5,94	0,10
	6,64	6,66	0,02
	2,46 ^b	2,19	-0,27
1:100	>7,00 (7,16 ^c)	7,48	0,32
1:100	>7,00 (7,40 ^c) ^b	7,39	-0,01

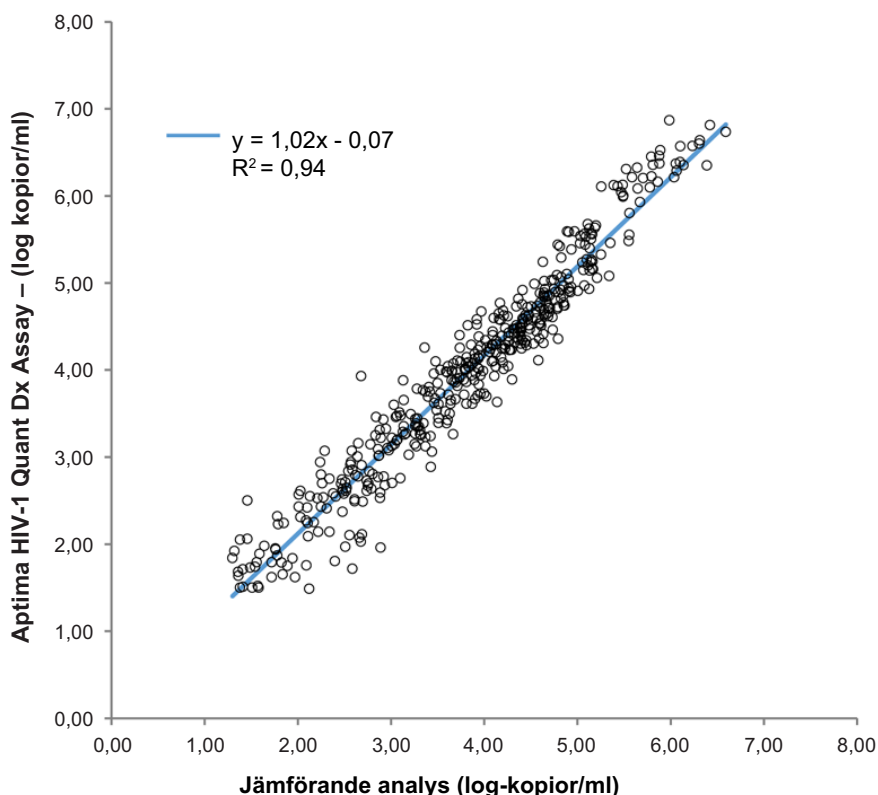
^a Rapporterad koncentration är det värde som Panther System rapporterar efter det att spädningsfaktorn har tillämpats.

^b Prov med tillsats.

^c Samtliga resultat >7,00 log-kopior/ml bedömdes med ytterligare analys.

Metodkorrelation

Prestandan för Aptima HIV-1 Quant Dx Assay bedömdes mot en CE-märkt jämförande analys genom att testa utspädda kliniska plasmaprover från HIV-1-infekterade patienter i fyra Panther System med två reagenssatser. Sammanlagt 342 frysta och 108 färska plasmaprover med kvantifierbara resultat i både Aptima HIV-1 Quant Dx Assay och den jämförande analysen användes för linjär regression (Figur 8). Proverna inbegrep HIV-1 grupp M (undertyp A, B, C, D, F, G, H, CRF01_AE, CRF02_AG).



Figur 8. Korrelation mellan Aptima HIV-1 Quant Dx Assay och den jämförande analysen

Diagnostisk överensstämmelse

För att bedöma den diagnostiska överensstämmelsen testades prover från HIV-1-positiva personer med Aptima HIV-1 Quant Dx Assay och en jämförande CE-märkt kvalitativ HIV-1-analys. 414 prover hade giltiga resultat (Tabell 14). Resultaten för de båda analyserna kategoriserades enligt följande. Varje resultat som gav ett kvantifierbart eller detekterbart resultat kategoriserades som "Detekterat". Varje resultat med mål som inte detekterades kategoriserades som "Mål ej detekterat".

Tabell 14: Diagnostisk överensstämmelse mellan Aptima HIV-1 Quant Dx Assay och den jämförande analysen

		Aptima HIV-1 Quant Dx Assay	
		Detekterat	Mål ej detekterat
Jämförande analys	Detekterat	214	0
	Mål ej detekterat	0	200

Överföring

För att fastställa att Panther System minimerar risken för att falskt positiva resultat uppstår på grund av överföring av kontamination genomfördes en analytisk studie med flera körningar med användning av paneler med tillsats på två Panther System. Överföringen bedömdes med användning av prover med tillsats av höga titrer av HIV-1 (7 log kopior/ml) spridda mellan HIV-1-negativa prover i ett schackrutigt mönster. Analyserna gjordes över fem körningar. Den övergripande överföringsfrekvensen var 0 % (n = 469).

Serokonverteringspanel

Nitton uppsättningar HIV-1-serokonverteringspaneler, bestående av 204 prover, testades med användning av Aptima HIV-1 Quant Dx Assay. Detektion av HIV-1-RNA jämfördes med detektion med p24-antigentester samt HIV-1/2-antikroppstester. Antalet dagar till första reaktiva resultat med användning av p24-antigentester, anti-HIV-1/2-antikroppstester och Aptima HIV-1 Quant Dx Assay anges i Tabell 15. Aptima HIV-1 Quant Dx assay detekterade HIV-1 RNA, ett genomsnitt på 5,58 och 11,16 dagar före p24 antigen- och anti-HIV 1/2 antikroppstester.

Tabell 15: Sammanfattning av serokonverteringspaneldata

Panel-ID	Antal testade panelmedlemmar	Antal reaktiva panelmedlemmar			Dagar till första reaktiva resultat			Skillnad i dagar till första reaktiva resultat (baserat på luftningsdatum)	
		Aptima HIV-1 Quant Dx	HIV p24-antigen	Anti-HIV-1/2-antikropp	Aptima HIV-1 Quant Dx	HIV p24-antigen	Anti-HIV-1/2-antikropp	Dagar tidigare detektion än HIV p24-antigen	Dagar tidigare detektion än anti-HIV-1/2-antikropp
6248	7	3	2	1	14	18	25	4	11
6243	10	6	3	2	18	25	32	7	14
6247	9	4	4	1	21	21	30	0	9
9016	10	3	2	0	27	30	34 ^a	3	7
9018	11	5	3	2	21	28	32	7	11
9020	22	5	4	1	83	87	97	4	14
9021	17	5	4	1	43	47	57	4	14
9022	9	3	2	1	23	25	32	2	9
9023	22	5	3	0	71	78	85 ^a	7	14
9030	16	5	3	1	40	47	54	7	14
9034	13	4	3	1	41	46	53	5	12
9089	6	5	3	2	7	16	20	9	13
12008	13	7	4	4	21	28	33	7	12
PRB962	6	4	2	0	7	14	17 ^a	7	10
PRB963	7	4	2	0	9	17	21 ^a	8	12
PRB966	10	5	3	2	35	44	48	9	13
PRB974 ^b	4	3	2	1	7	9	16	2	9
PRB975 ^b	5	3	1	0	7	14	14 ^a	7	7
PRB978 ^b	7	3	1	0	26	33	33 ^a	7	7
Totalt	204	82	51	20	Medelvärde			5,58	11,16
					Median			7	12

^a All luftning i denna panel var icke-reaktiv för anti-HIV-1/2-antikropp. Sista luftningsdag användes som "Dagar till första reaktiva resultat".

Testning av anti-HIV-1/2-antikropp genomfördes med Abbott Anti-HIV-1/2, med följande undantag:

^b Panel PRB974, PRB975 och PRB978 testades med Siemens Anti-HIV-1/2-test.

Testning av HIV-1 p24-antigen genomfördes med Coulter HIV-1 p24 Ag, med följande undantag:

^b Panel PRB974, PRB975 och PRB978 testades med BioMerieux p24 Ag-test.

Serum-, plasmaekvivalensstudie

För att bedöma ekvivalensen testades matchande uppsättningar med serum- och plasmaprover (25 HIV-1-positiva och 25 HIV-1-negativa) samt 40 prover som fått tillsats av odlat HIV-1 (50-1 000 000 kopior/ml i HIV-1-negativ plasma och serum) med Aptima HIV-1 Quant Dx Assay. Den negativa överensstämmelsen var 100,0 % (95 % KI: 97,0 %-100,0 %). Den positiva överensstämmelsen var 98,4 % (95 % KI: 95,4 %-99,5 %).

Referenser

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

- levels in patients with advanced HIV-1 disease and with little or no zidovudine therapy. AIDS Clinical Trials Group Protocol 116A/116B/117 Team. *J. Infect. Dis.* **174**:696–703.
25. **Coombs, R. W., S. L. Welles, C. Hooper, P. S. Reichelderfer, R. T. D'Aquila, A. J. Japour, V. A. Johnson, D. R. Kuritzkes, D. D. Richman, S. Kwok, J. Todd, J. B. Jackson, V. DeGruttola, C. S. Crumpacker, and J. Kahn.** 1996. Association of plasma Human Immunodeficiency Virus Type I RNA level with risk of clinical progression in patients with advanced infection. AIDS Clinical Trials Group (ACTG) 116B/117 Study Team. ACTG Virology Committee Resistance and HIV-1 RNA Working Groups. *J. Infect. Dis.* **174**:704–712.
 26. **Hammer, S., C. Crumpacker, R. D'Aquila, B. Jackson, J. Lathey, D. Livnat, and P. Reichelderfer.** 1993. Use of virologic assays for detection of human immunodeficiency virus in clinical trials: Recommendations of the AIDS Clinical Trials Group Virology Committee. *J. Clin. Microbiol.* **31**:2557–2564.
 27. **Schochetman, G., and J. R. George,** ed. 1994. *AIDS Testing: A Comprehensive Guide To Technical, Medical, Social, Legal and Management Issues*, 2nd ed. Springer-Verlag, New York.
 28. **Mulder, J., N. McKinney, C. Christopherson, J. Sninsky, L. Greenfield, and S. Kwok.** 1994. Rapid and simple PCR assay for quantitation of human immunodeficiency virus type 1 RNA in plasma: application to acute retroviral infection. *J. Clin. Microbiol.* **32**:292–300.
 29. **Dewar, R. L., H. C. Highbarger, M. D. Sarmiento, J. A. Todd, M. B. Vasudevachari, R. T. Davey, Jr., J. A. Kovacs, N. P. Salzman, H. C. Lane, and M. S. Urdea.** 1994. Application of branched DNA signal amplification to monitor human immunodeficiency virus type 1 burden in human plasma. *J. Infect. Dis.* **170**:1172–1179.
 30. **van Gemen, B., T. Kievits, R. Schukink, D. van Strijp, L. T. Malek, R. Sooknanan, H. G. Huisman, and P. Lens.** 1993. Quantification of HIV-1 RNA in plasma using NASBA during HIV-1 primary infection. *J. Virol. Methods* **43**:177–187.
 31. **Centers for Disease Control and Association of Public Health Laboratories.** 2014. Laboratory testing for the diagnosis of HIV infection: Updated recommendations.
 32. **Pandori, M. W., J. Hackett Jr., B. Louie, A. Vallari, T. Dowling, S. Liska, and J. D. Klausner.** 2009. Assessment of the ability of a fourth-generation immunoassay for human immunodeficiency virus (HIV) antibody and p24 antigen to detect both acute and recent HIV infections in a high-risk setting. *J. Clin. Microbiol.* **47**:2639–2642.
 33. **Gill, P. och Ghaemi, A.** 2008. Nucleic acid isothermal amplification technologies: a review. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids.* **27**(3):224–43.
 34. **Hill, C.** 2001. Molecular diagnostic testing for infectious diseases using TMA technology. *Expert Rev. Mol. Diagn.* **1**(4): 445–455.
 35. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2005. *Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods; Approved Guideline.* CLSI Document MM13-A. Wayne, PA.
 36. **29 CFR Part 1910.1030.** Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens; current version.
 37. **Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health.** *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL); current version.*
 38. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2002. *Clinical Laboratory Waste Management.* CLSI Document GP5-A2. Villanova, PA.
 39. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2012. *Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline—Second Edition.* CLSI Document EP17-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
 40. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2003. *Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline.* CLSI document EP06-A. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.



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

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

Teknisk support: +1 888 484 4747
molecularsupport@hologic.com

Besök www.hologic.com för mer kontaktinformation.



Emergo Europe
Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague
The Netherlands

Hologic, Aptima, Panther och motsvarande logotyper är varumärken eller registrerade varumärken som tillhör Hologic, Inc. och/eller dess dotterbolag i USA och/eller andra länder.

Armored RNA är ett varumärke som tillhör Asuragen, Inc.

Alla andra varumärken som förekommer i denna bipacksedel är varumärken som tillhör sina respektive ägare.

Denna produkt kan omfattas av ett eller flera USA-patent som identifieras på www.hologic.com/patents.

© 2014-2017 Hologic, Inc. Med ensamrätt.

AW-11853-1601 Rev. 003

06-2017