

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, version 2.0

cobas

Rx Only

TIL IN VITRO-DIAGNOSTIK.

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan®
HIV-1 Test, v2.0

HI2CAP

48 Tests

P/N: 05212294 190

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan®
Wash Reagent

PG WR

5.1 Liters

P/N: 03587797 190

TILSIGTET BRUG

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, version 2.0 (v2.0) er en *in vitro*-nukleinsyre-amplifikations-test til kvantificering af HIV-1 (human immunodefektvirus, type 1) RNA i humant EDTA-plasma eller fra en tørret **cobas**® Plasma Separation Card-plasmaspot (**PSC**-plasmaspot) ved hjælp af COBAS® AmpliPrep-instrumentet til automatisk prøvebehandling og COBAS® TaqMan®-analyse-instrumentet eller COBAS® TaqMan® 48-analyseinstrumentet til automatisk amplifikation og detektion. Testen kan kvantificere HIV-1 RNA i intervallet 20-10.000.000 kopier/ml (33 til $1,67 \times 10^7$ internationale enheder [IE]/ml i EDTA-plasma og 738-10.000.000 kopier/ml (1230 til $1,67 \times 10^7$ internationale enheder [IE]/ml) i en tørret **PSC**-plasmaspot). Én kopi af HIV-1 RNA svarer til 1,67 IE baseret på WHO 1st International Standard for HIV-1 RNA for Nucleic Acid-Based Techniques (NAT) (NIBSC 97/656)³⁶.

Sammen med det kliniske billede og andre laboratoriemarkører for sygdomsudvikling anvendes denne test i forbindelse med den kliniske behandling af patienter, der er smittet med HIV-1 gruppe M og HIV-1 gruppe O. Testen kan bruges til at vurdere patientens prognose ved at måle baseline-HIV-1 RNA-niveauet eller til at overvåge virkningerne af antiretroviral behandling ved at måle ændringer i HIV-1 RNA-niveauet i løbet af den antiretrovirale behandling.

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0 er ikke beregnet til brug ved screening af blod eller blodprodukter for tilstedeværelsen af HIV-1 eller som diagnostisk analyse til bekræftelse af forekomsten af HIV-1-infektioner.

OVERSIGT OVER OG FORKLARING AF TESTEN

HIV (human immunodefektvirus) er den ætiologiske agens, der forårsager AIDS (erhvervet immundefekt-syndrom)¹⁻³. HIV-infektion kan overføres ved seksuel kontakt, via inficeret blod eller inficerede blodprodukter eller fra en inficeret mor til fosteret⁴. Tre til seks uger efter udsættelsen for HIV udvikler den inficerede person typisk et kortvarigt, akut syndrom, der er kendetegnet ved influenzalignende symptomer og ledsaget af høje niveauer af viremi i det perifere blod⁵⁻⁸. Hos de fleste inficerede personer efterfølges dette af en HIV-specifik immunreaktion og et fald i plasmaviræmi, normalt inden for fire til seks uger fra symptomernes indtræden^{9,10}. Efter serokonvertering kommer de inficerede personer typisk i en klinisk stabil og symptomfri fase, der kan vare i flere år¹¹⁻¹³. Den symptomfrie periode er karakteriseret ved vedvarende, lav viremi i plasma¹⁴ og en gradvis udtømmning af CD4⁺ T-lymfocytter, der fører til svær immundefekt, flere opportunistiske infektioner, maligniteter og død¹⁵. Selvom virusniveauet i det perifere blod er relativt lavt i infektionens symptomfrie fase, ser virusreplikation og -clearance ud til at være dynamiske processer, hvor en stor forekomst af virusproduktion og -infektion af CD4⁺-celler opvejes af lige store forekomster af virus-clearance, død af inficerede celler og opfyldning af CD4⁺-celler, der resulterer i relativt stabile niveauer af både plasmaviræmi og CD4⁺-celler¹⁶⁻¹⁸.

Kvantitative målinger af HIV-viræmi i det perifere blod har vist, at højere virusniveauer kan korrelere med øget risiko for klinisk progression af HIV, og reduktionen af virusniveauer i plasma kan knyttes til nedsat risiko for klinisk progression¹⁹⁻²¹. Virusniveauerne i det perifere blod kan kvantificeres ved måling af HIV p24-antigenet i serum, ved kvantitativ dyrkning af HIV fra plasma eller ved direkte måling af viral RNA i plasma med teknikker til nukleinsyreamplifikation eller signalamplifikation²²⁻²⁶.

WHO anbefaler nu også brugen af tørrede spotprøver for at udvide rækkevidden af virusbelastningstest i omgivelser med begrænsede ressourcer uden adgang til flebotomi eller mulighed for robust transport af EDTA-plasmaprøver²⁷. En tørret **PSC**-plasmaspot, som også stabiliserer HIV RNA i tørret plasma, kan forbedre virusbelastningstestens dækningsområde i disse områder ved at give mulighed for prøvetransport over længere afstande og under mere krævende miljøforhold end for EDTA-plasma.

p24-antigenet er det primære kerneprotein i HIV og findes i serum enten frit eller bundet til anti-p24-antistof. Frit p24-antigen kan måles med kommercielt tilgængelige immunanalyser (EIA), selvom nytteværdien af p24-antigen som markør for virusbelastningen er begrænset, idet antigenet kun kan påvises hos 20 % af de symptomfrie patienter og hos 40-50 % af patienterne med symptomer. Procedurer til at spalte antigen-antistof-komplekser forbedrer sensitiviteten af p24-antigentestene, men virusproteinet kan fortsat ikke påvises hos de fleste symptomfrie patienter²².

Smitsomt HIV i plasma kan dyrkes ved podning i aktiverede PBMC'er (Peripheral Blood Mononuclear Cell, mononukleære celler fra perifert blod) fra normale donorer. Kvantificering opnås ved podning af PBMC med serielle fortyndinger af plasmaprøven. Kvantitativ dyrkning har begrænset nytteværdi til monitorering af virusniveauet hos smittede personer, idet kun en brøkdel af viruspartiklerne er smitsomme *in vitro*. Smitsomt virus kan ofte ikke påvises hos symptomfrie individer²².

HIV RNA i plasma kan kvantificeres med nukleinsyreamplifikationsteknologier, f.eks. PCR (Polymerase Chain Reaction)²⁸⁻³⁰. COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0 bruger PCR-metoden til at opnå maksimal sensitivitet og et dynamisk interval for den kvantitative detektion af HIV-1 RNA i plasma antikoaguleret med EDTA og i en tørret **PSC**-plasmaspot.

PRINCIPPER FOR PROCEDUREN

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0 er en nukleinsyreamplifikationstest til kvantificering af HIV-1 (human immunodefektvirus, type 1) RNA i humant EDTA-plasma eller fra en tørret **PSC**-plasmaspot. COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0 er baseret på tre hovedprocesser: (1) prøveforberedelse for at isolere HIV-1 RNA, (2) revers transkription af target-RNA'et for at danne komplementær DNA (cDNA) og (3) samtidig PCR-amplifikation af target-cDNA og detektion af spaltede dobbeltmærkede oligonukleotide detektionsprober, der er specifikke for target.

Med COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0 kan der foretages automatiseret prøveforberedelse efterfulgt af automatiseret revers transkription, PCR-amplifikation og detektion af HIV-1 target-RNA og HIV-1-kvantificeringsstandard (QS) Armored RNA. Master Mix-reagenset indeholder primere og prober, der er specifikke for både HIV-1 RNA og HIV-1 QS RNA. Master Mix-reagenset er udviklet med henblik på at sikre en ækvivalent kvantificering af gruppe M-undertyper af HIV-1 og HIV-1 gruppe O. Detektionen af amplifieret DNA udføres ved hjælp af targetspecifikke og kvantificeringsstandardspecifikke (QS) dobbeltmærkede oligonukleotidprober, der tillader uafhængig identifikation af HIV-1-amplikon og HIV-1 QS-amplikon.

Kvantificeringen af HIV-1-virus-RNA udføres med HIV-1 QS. Den kompenserer for virkningen af hæmning og fungerer som kontrol for forberedelsen og amplifikationsprocessen for at give mulighed for en mere nøjagtig kvantificering af HIV-1 RNA i hver prøve. HIV-1 QS er en ikke-smitsomt Armored RNA-konstruktion, der indeholder HIV-sekvenser med de samme primerbindingsregioner som HIV-1 RNA-target og en unik probebindingsregion, der gør det muligt at skelne HIV-1 QS-amplikonet fra HIV-1-targetamplikonet.

HIV-1 QS tilsættes til hver prøve med et kendt kopiantal, hvorefter der udføres prøveforberedelse, revers transkription, samtidig PCR-amplifikation og påvisning af spaltede dobbeltmærkede detektionsprober. COBAS® TaqMan®-analyseinstrumentet eller COBAS® TaqMan® 48-analyseinstrumentet beregner HIV-1 RNA-koncentrationen i testprøverne ved at sammenligne HIV-1-signalet med HIV-1 QS-signalet for hver prøve og kontrol.

Valg af target

Udvælgelsen af target-RNA-sekvensen for HIV-1 afhænger af identificeringen af de regioner i HIV-1-genomet med den højeste sekvenskonservering blandt de forskellige gruppe M-undertyper af HIV-1 og gruppe O-prøver af HIV-1. For at imødekomme den høje genetiske variationsgrad i virus er to regioner af HIV-genomet samtidige targets for amplifikation og detektion af COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0.

To targetspecifikke og en kvantificeringsstandardspecifik (QS) dobbeltmærket oligonukleotid probe tillader uafhængig identifikation af HIV-1-amplikon og HIV-1 QS-amplikon. Dermed er udvælgelsen af primere og den dobbeltmærkede oligonukleotidprobe afgørende for testens evne til at amplificere og detektere HIV-1 gruppe M-undertyper og HIV-1 gruppe O. COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0 bruger revers transkription- og PCR-amplifikationsprimere, der definerer sekvenser i den bedst konserverede region i HIV-1 *gag*-genet³³ og HIV-1 LTR-regionen.

Klargøring af prøver

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0 anvender automatisk prøveforberedelse i COBAS® AmpliPrep-instrumentet ved en generisk siliciumbaseret capture-teknik. Proceduren behandler 850 µl plasma eller SPEX-baseret ekstrakt fra **PSC**. HIV-1-viruspartiklerne lyseres under inkubation ved en forhøjet temperatur med en protease- og kaotropisk lysis/bindingsbuffer, der frigiver nukleinsyrer og beskytter det frigivne HIV-1 RNA fra RNaserne i plasma. Et kendt antal HIV-1 QS RNA-molekyler tilsættes til hver prøve samtidigt med lysisreagenset og magnetiske glasparkler (beads). Derefter inkuberes blandingen, og HIV-1 RNA'et og HIV-1 QS RNA'et bindes til overfladen af de magnetiske glasparkler. Ubundne stoffer, f.eks. salte, proteiner og andre cellulære urenheder, fjernes ved vask af de magnetiske glasparkler. Efter separation af de magnetiske glasparkler og udførelse af vasketrinene elueres de adsorberede nukleinsyrer ved en forhøjet temperatur med en vandig opløsning. Den behandlede prøve, der indeholder de magnetiske glasparkler samt det frigivne HIV-1 RNA og HIV-1 QS RNA, tilsættes til amplifikationsblandingen og overføres til COBAS® TaqMan®-analyseinstrumentet eller COBAS® TaqMan® 48-analyseinstrumentet. Derefter revers-transkriberes, amplificeres og detekteres HIV-1 target-RNA'et og HIV-1 QS RNA'et samtidigt via spaltning af to targetspecifikke og en QS-specifik dobbeltmærket oligonukleotidprobe.

Revers transkription og PCR-amplifikation

Revers transkriptions- og PCR-amplifikationsreaktionerne udføres med det termostabile rekombinante enzym *Thermus specie* Z05 DNA-polymerase (Z05). Ved tilstedeværelsen af mangan (Mn^{2+}) og under passende bufferforhold har Z05 både revers transkriptase- og DNA-polymerase-aktivitet^{31,32}. Dermed kan både revers transkription og PCR-amplifikation foregå samtidig med real-time detektion af amplikonet.

Behandlede prøver tilsættes amplifikationsblandingen i amplifikationsrørene (K-tubes), hvor der foregår både revers transkription og PCR-amplifikation. Reaktionsblandingen tempereres for at lade downstream-primere binde sig specifikt til HIV-1 target-RNA'et og til HIV-1 QS RNA'et. Ved tilstedeværelsen af Mn^{2+} og overskydende deoxynukleotidtrifosfater (dNTP'er), herunder deoxyadenosin-, deoxyguanosin-, deoxycytocin- og deoxyuridin- og deoxythymidintrifosfater, forlænger Z05-polymerase de bundne primere og danner DNA-streng, der er komplementære ift. RNA-target.

Amplifikation af target

Behandlede prøver tilsættes til amplifikationsblandingen i amplifikationsrørene (K-tubes), hvor PCR-amplifikationen foregår. Efter revers transkription af HIV-1-target-RNA og HIV-1 QS RNA'et tempereres reaktionsblandingen i thermo cycleren i COBAS® TaqMan®-analyseinstrumentet eller COBAS® TaqMan® 48-analyseinstrumentet for at denaturere RNA:cDNA-hybridene og blotlægge de specifikke primer-targetsekvenser. Når blandingen afkøler, binder primerne sig til target-DNA'et ved annealing. Z05 ved tilstedeværelsen af Mn²⁺ og overskydende deoxynukleotidtrifosfater (dNTP'er), herunder deoxyadenosin-, deoxyguanosin-, deoxycytosin- og deoxyurin- og deoxythymidintrifosfater, forlænges i primerens retning langs targetskabelonen for at producere dobbeltstrengede DNA-molekyler, kaldet amplikoner. COBAS® TaqMan®- eller COBAS® TaqMan® 48-analyseinstrumentet gentager automatisk denne proces et bestemt antal gange, hvor mængden af amplikon-DNA fordobles for hver cyklus. Det påkrævede antal cyklusser er forprogrammeret i COBAS® TaqMan®- eller COBAS® TaqMan® 48-analyseinstrumentet. Amplifikationen foregår kun i de to områder mellem primerne på HIV-1-genomet. Hele HIV-1-genomet amplificeres ikke.

Selektiv amplifikation

Selektiv amplifikation af targetnukleinsyren fra prøven opnås i COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test v2.0 ved hjælp af AmpErase-enzym (uracil-N-glycosylase) og deoxyuridintrifosfat (dUTP). AmpErase-enzymet registrerer og katalyserer nedbrydningen af DNA-strengene, der indeholder deoxyuridin³⁴, men ikke DNA, der indeholder deoxythymidin.

Deoxyuridin findes ikke i naturligt forekommende DNA, men findes altid i amplikon som følge af brugen af deoxyuridintrifosfat som et af dNTP'erne i Master Mix-reagenset. Det er derfor kun amplikonet, der indeholder deoxyuridin. Deoxyuridin gør det kontaminerende amplikon modtageligt for nedbrydning med enzymet AmpErase før amplifikationen af target-DNA'et. Desuden vil alle ikke-specifikke produkter, der dannes efter den første aktivering af Master Mix ved hjælp af mangan, blive ødelagt af AmpErase-enzymet. Enzymet AmpErase, der findes i Master Mix-reagenset, katalyserer spaltningen af deoxyuridinholdigt DNA ved deoxyuridin-residues ved at åbne deoxyribossekæden i positionen C1. Ved opvarmning i den første termiske cyklus brydes amplikonets DNA-kæde ved positionen for deoxyuridin, og dermed kan DNA'et ikke amplificeres. AmpErase-enzymet forbliver inaktivt i længere tid, når det udsættes for temperaturer over 55 °C, dvs. under thermo cyclers-processen, og derfor ødelægges target-amplikonet, der dannes under amplifikation, ikke.

Påvisning af PCR-produkter i en COBAS® TaqMan® Test

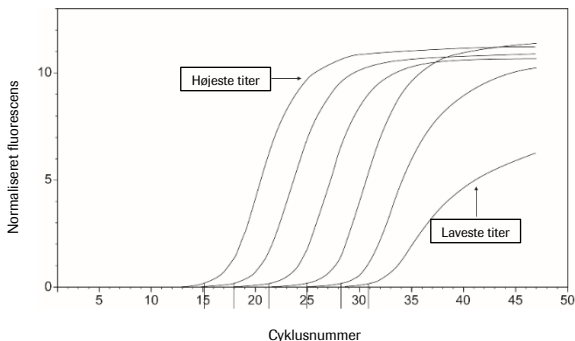
COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0 anvender real-time^{35,36} PCR-teknologi. Anvendelsen af dobbeltfluorescerende prober gør det muligt at foretage real-time påvisning af PCR-produktopbygningen ved at overvåge emissionsintensiteten i de fluorescerende rapportfarvestoffer, der frigives under amplifikationen. Proberne består af HIV-1- og HIV-1 QS-specifikke oligonukleotide prober, der er mærket med et rapportfarvestof og et quencher-farvestof. I COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0 mærkes HIV-1- og HIV-1 QS-proberne med forskellige fluorescerende rapportfarvestoffer. Når proberne er intakte, undertrykkes rapportfarvestoffets fluorescens på grund af nærheden af quencher-farvestoffet som følge af Förster-energioverførelseffekten. Under PCR-reaktionen hybridiseres proben til en targetsekvens og spaltes af 5' → 3'-nukleaseaktiviteten i den termostabile Z05 DNA-polymerase. Når rapport- og quencher-farvestofferne frigives og separeres, stopper quenching-effekten, og rapportfarvestoffets fluorescensaktivitet øges. Amplifikationen af HIV-1 RNA og HIV-1 QS RNA måles uafhængigt ved forskellige bølgelængder. Denne proces gentages et bestemt antal gange, og hver cyklus øger effektivt emissionsintensiteten i det individuelle rapportfarvestof, hvilket giver mulighed for en uafhængig identifikation af HIV-1 RNA og HIV-1 QS RNA. Den PCR-cyklus, hvor en vækstkurve starter sin eksponentielle vækst, står i forhold til mængden af udgangsmateriale ved begyndelsen af PCR-reaktionen.

Grundprincipper for kvantificering i COBAS® TaqMan®-testen

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0 giver nøjagtige kvantitative resultater over et meget bredt dynamisk interval, idet monitoreringen af ampliconet foregår under amplifikationens eksponentielle fase. Jo højere HIV-1-titeren er for en prøve, jo tidligere stiger rapportfarvestoffets fluorescens for HIV-1-proberne til over startniveauet (se Figur 1). Da mængden af HIV-1 QS RNA er konstant i alle prøver, bør rapportstoffets fluorescens for HIV-1 QS-proben optræde i samme cyklus for alle prøver (se Figur 2). I prøver, hvor QS-fluorescensen påvirkes, justeres koncentrationen tilsvarende. Tilstedeværelsen af de specifikke fluorescerende signaler rapporteres som en kritisk grænseværdi (Ct). Ct-værdien defineres som det delcyklusnummer, hvor fluorescensen i rapportfarvestoffet overstiger en foruddefineret grænse (det tildelte fluorescensniveau), og starter en eksponentiel vækstfase for dette signal (se Figur 3). En højere Ct-værdi angiver en lavere titer af det oprindelige HIV-1-targetmateriale. En fordobling af titerværdien korrelerer med et fald på 1 Ct for target-HIV-1 RNA'et, mens en 10-dobling af titerværdien korrelerer med et fald på 3,3 Ct.

Figur 1 viser targetvækstkurverne for en virusfortyndingsserie over et 5-log₁₀-interval. Når virus-koncentrationen øges, skifter vækstkurverne til tidligere cyklusser. Vækstkurven helt til venstre svarer derfor til det højeste virale titerniveau, mens kurven helt til højre svarer til det laveste virale titerniveau.

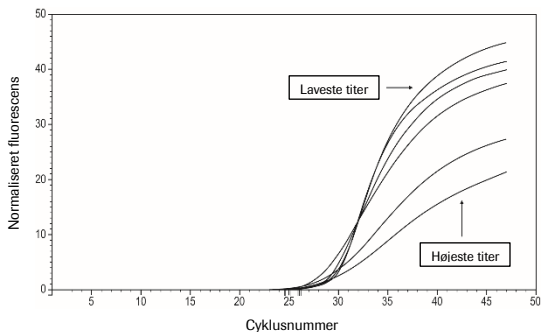
Figur 1
Targetvækstkurverne for en fortyndingsserie over et 5-log₁₀-interval



Figur 2 viser kvantificeringsstandardens vækstkurver for prøver fra en virusfortyndingsserie over et 5-log₁₀-interval. Mængden af kvantificeringsstandard, der tilsættes til hver prøve, er konstant for alle reaktioner. Kvantificeringsstandardens Ct-værdi er den samme, uafhængig af den virale titer.

Figur 2

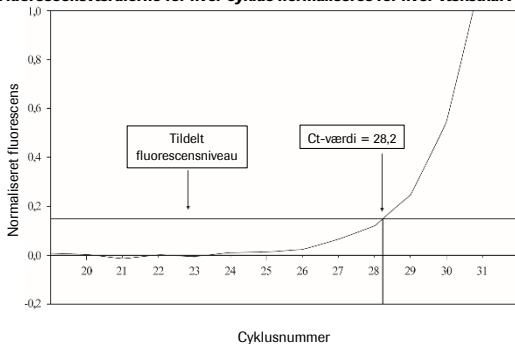
Kvantificeringsstandardens vækstkurver for en virusfortyndingsserie over et 5-Log₁₀-interval



Figur 3 viser et eksempel på, hvordan fluorescensværdierne for hver cyklus normaliseres for hver vækstkurve. Delcyklusnummeret (Ct) beregnes for det sted, hvor fluorescenssignalet krydser det tildelte fluorescensniveau.

Figur 3

Fluorescensværdierne for hver cyklus normaliseres for hver vækstkurve



Kvantificering af HIV-1 RNA

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0 kvantificerer HIV-1 viral RNA ved hjælp af en ekstra targetsekvens (HIV-1-kvantificeringsstandard), der tilsættes i hver testprøve i en kendt koncentration. HIV-1 QS er en ikke-smitsom Armored RNA-konstruktion, der indeholder fragmenter af HIV-1-sekvenser med primerbindingsregioner, der er identiske med dem i HIV-1 *gag*-targetsekvensen. HIV-1 QS indeholder HIV-1-primerbindingsregioner og genererer et amplifikationsprodukt af samme længde og basesammensætning som HIV-1-*gag*-target-RNA'et. Detektionsprobebindingsregionen for HIV-1 QS er ændret, så den skelner mellem HIV-1 QS-amplikon og HIV-1-*gag*-targetamplifikation.

Under PCR-reaktionens annealingfase på COBAS® TaqMan®- eller COBAS® TaqMan® 48-analyse-instrumentet belyses prøverne og exciteres af filtreret lys, og der indsamles filtrerede emissionsfluorescensdata for hver prøve. Aflæsningerne fra hver prøve korrigeres derefter for instrument-udsving. Fluorescensaflysninger sendes af instrumentet til AMPLILINK-softwaren og gemmes i en database. Der foretages præ-check for at bestemme, om datasættene for HIV-1 RNA og HIV-1 QS RNA er valide, og der genereres markeringer, hvis dataene falder uden for de forudindstillede grænser. Når alle præ-check er udført og godkendt, behandles fluorescensaflysningerne for at generere Ct-værdier for HIV-1 RNA'et og HIV-1 QS RNA'et. De lotspecifikke kalibreringskonstanter, der følger med COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test v2.0 bruges til at beregne titerværdien for prøverne og kontrollerne, baseret på Ct-værdierne for HIV-1 RNA og HIV-1 QS RNA. COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0 er standardiseret i henhold til en WHO-standard (World Health Organization) for HIV-1 RNA. Titerresultaterne angives i kopier/ml (cp/ml) eller internationale enheder/ml (IE/ml). Omregningsfaktoren mellem rapporterede HIV-1 RNA cp/ml og HIV-1 IE/ml er bestemt af Roche Molecular Systems, Inc. til at være 0,6 cp/IE (1,67 IE/cp).

REAGENSER

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0

(P/N: 05212294 190)

HI2CAP

48 test

HIV-1 v2.0 CS1

1 x 48 test

(HIV-1-reagenskassette med magnetiske glaspartikler)

Magnetiske glaspartikler

93 % isopropanol

HIV-1 v2.0 CS2

1 x 48 test

(HIV-1-lysisreagenskassette)

Natriumcitratdihydrat

42,5 % guanidinthiocyanat

< 14 % polydocanol

0,9 % dithiothreitol

HIV-1 v2.0 CS3

1 x 48 test

HIV-1-multireagenskassette, der indeholder:

Pase

1 x 3,8 ml

(proteinaseopløsning)

Trisbuffer

< 0,05 % EDTA

Kalciumklorid

Kalciumacetat

≤ 7,8 % proteinase

Glycerol

EB

1 x 7,0 ml

(elueringsbuffer)

Tris-base-buffer

0,2 % methylparaben

HIV-1 v2.0 CS4

1 x 48 test

HIV-1-testspecifik reagenskassette, der indeholder:

HIV-1 QS

1 x 3,6 ml

(HIV-1-kvantificeringsstandard)

Tris-HCl-buffer

EDTA

< 0,005 % poly rA RNA (syntetisk)

< 0,001 % Armored HIV-1 RNA-konstruktion, der

indeholder HIV-1-primerbindingssekvenser og en unik

probebindingsregion (ikke-smitsomt RNA i MS2-

bakteriofag)

0,05 % natriumazid

HIV-1 MMX

1 x 2,5 ml

(HIV-1 Master Mix)

Tricinbuffer

Kaliumacetat

Kaliumhydroxid

20% dimethylsulfoxid

Glycerol

- < 0,04 % dATP, dCTP, dGTP, dUTP, dTTP
- < 0,003 % upstream- og downstream-primere til *gag*- og LTR-intervallet for HIV-1
- < 0,003 % oligonukleotid aptamer
- < 0,003 % fluorescensmærkede oligonukleotide prober, der er specifikke for HIV-1 og HIV-1-kvantificeringsstandard
- < 0,05 % Z05 DNA-polymerase (mikrobiel)
- < 0,1 % AmpErase-enzym (uracil-N-glycosylase) (mikrobielt)
- 0,09 % natriumazid

CAP/CTM Mn²⁺

1 x 19,8 ml

(CAP/CTM-manganopløsning)

- < 0,5 % manganacetat
- Iseddikesyre
- 0,09 % natriumazid

HIV-1 H(+)C v2.0

4 x 1,0 ml

(HIV-1 High Positive Control, v2.0)

- < 0,001 % Armored HIV-1 RNA-konstruktion, der indeholder HIV-1-sekvenser (ikke-smitsomt RNA i MS2-bakteriofag)

Negativt humant plasma, ikke-reaktivt med test for antistoffer mod HCV, antistoffer mod HIV-1/2, HIV p24-antigen og HBsAg; HIV-1 RNA, HCV RNA og HBV DNA kan ikke detekteres ved hjælp af PCR-metoder

0,1 % ProClin® 300, konserveringsmiddel

HIV-1 L(+)C v2.0

4 x 1,0 ml

(HIV-1 Low Positive Control, v2.0)

- < 0,001 % Armored HIV-1 RNA-konstruktion, der indeholder HIV-1-sekvenser (ikke-smitsomt RNA i MS2-bakteriofag)

Negativt humant plasma, ikke-reaktivt med test for antistoffer mod HCV, antistoffer mod HIV-1/2, HIV p24-antigen og HBsAg; HIV-1 RNA, HCV RNA og HBV DNA kan ikke detekteres ved hjælp af PCR-metoder

0,1 % ProClin® 300, konserveringsmiddel

CTM (-) C

4 x 1,0 ml

[COBAS® TaqMan®-negativ kontrol (humant plasma)]

Negativt humant plasma, ikke-reaktivt med test for antistoffer mod HCV, antistoffer mod HIV-1/2, HIV p24-antigen og HBsAg; HIV-1 RNA, HCV RNA og HBV DNA kan ikke detekteres ved hjælp af PCR-metoder

0,1 % ProClin® 300, konserveringsmiddel

HIV-1 H(+)C, v2.0 Clip

1 x 4 clips

(HIV-1 High Positive Control, v2.0, barkodeclip)

HIV-1 L(+)C, v2.0 Clip

1 x 4 clips

(HIV-1 Low Positive Control, v2.0, barkodeclip)

HIV-1 (-) C Clip

1 x 4 clips

(HIV-1 Negative Control, v2.0 barkodeclip)

PG WR
(COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan®-vaskereagens)
Natriumcitratdihydrat
< 0,1 % N-methylisothiazolon-HCl

**COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® Specimen
Pre-Extraction Reagent**
(P/N: 06989861190)

SPEX

5 x 78 ml

SPEX
(cobas® Specimen Pre-Extraction Reagent (SPEX))
42,5 % guanidinthiocyanat
0,79 % natriumazid
0,01 % citronsyre
3,6 % polydocanol
1,8 % dithiothreitol

Bemærk! Dette reagens er valgfrit og må kun anvendes sammen med PSC til at generere tørrede plasmaspotprøver. Se metodeark til PSC ms_09411763190.

ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER

- A. **TIL IN VITRO-DIAGNOSTIK.**
- B. Denne test er beregnet til brug med humant plasma, der er indsamlet i det antikoagulerende middel EDTA eller fra en tørret **PSC**-plasmaspot.
- C. Brug ikke mundpipettering.
- D. Der må ikke spises, drikkes eller ryges i laboratoriets arbejdsområder. Anvend engangs-beskyttelseshandsker, særligt arbejdstøj og beskyttelsesbriller ved håndtering af prøver og reagenser. Vask hænderne grundigt efter at have håndteret prøver og testreagenser.
- E. **Undgå mikrobiel og ribonukleasekontaminering af reagenser, når der fjernes afmålte mængder fra kontrolflaskerne.**
- F. **Det anbefales at bruge sterile engangspipetter og RNase-fri pipettespidser.**
- G. Kontroller fra forskellige lotnumre eller fra forskellige flasker fra det samme lotnummer må ikke blandes.
- H. Reagenskassetter eller kontroller fra forskellige kit må ikke blandes.
- I. Der må ikke ombyttes, blandes, fjernes eller indsættes flasker i COBAS® AmpliPrep-kassetterne.
- J. Reagenser, affald og prøver skal bortskaffes i overensstemmelse med nationale, regionale og lokale bestemmelser.
- K. Brug ikke et kit efter udløbsdatoen.
- L. Der kan rekvireres sikkerhedsdatablade (SDS) ved henvendelse til det lokale Roche-kontor.
- M. Prøver og kontroller skal håndteres som smittefarligt materiale i overensstemmelse med forskrifterne for sikkerhed i laboratoriet, f.eks. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*³⁸ og CLSI-dokument M29-A3³⁹. Rengør og desinficer alle arbejdsflader grundigt med en nyfremstillet 0,5 % opløsning af natriumhypoklorit i deioniseret eller destilleret vand.

Bemærk! Almindeligt tilgængeligt flydende blegemiddel til husholdningsbrug indeholder typisk natriumhypoklorit med en koncentration på 5,25 %. En 1:10 fortynding af blegemidlet giver en 0,5 % opløsning af natriumhypoklorit.

Bemærk! Hvis der forekommer spildt materiale fra tørrede PSC-plasmaspotprøver i cobas® Specimen Pre-Extraction Reagent (SPEX) (der indeholder guanidinthiocyanat), må det ikke komme i kontakt med natriumhypoklorit, der indeholder desinfektionsmidler som f.eks. blegemiddel. Denne blanding kan danne en meget giftig gas.

- N. **FORSIGTIG: CTM (-) C, HIV-1 L(+)C, v2.0 og HIV-1 H(+)C, v2.0** indeholder humant plasma, der stammer fra humant blod. Kildematerialet er ved test fundet ikke-reaktivt for tilstedeværelsen af hepatitis B-overfladeantigen (HBsAg), antistoffer mod HIV-1/2 og HCV samt HIV p24-antigen. Test af negativt humant plasma ved PCR-metoder påviste ikke forekomst af HIV-1 RNA, HCV RNA eller HBV DNA. Ingen kendte testmetoder kan helt udelukke, at produkter, der stammer fra humant blod, kan overføre smitstoffer. Alt materiale, der stammer fra mennesker, skal derfor betragtes som potentielt smittefarligt. **CTM (-) C, HIV-1 L(+)C, v2.0 og HIV-1 H(+)C, v2.0** skal håndteres som smittefarligt materiale i overensstemmelse med forskrifterne for sikkerhed i laboratoriet, f.eks. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*³⁸ og i CLSI-dokumentet M29-A3³⁹. Rengør og desinficer alle arbejdsflader grundigt med en nyfremstillet 0,5 % opløsning af natriumhypoklorit i deioniseret eller destilleret vand.
- O. **HIV-1 QS, CAP/CTM Mn²⁺ og HIV-1 MMX** indeholder natriumazid. Natriumazid kan reagere med bly- og kobberinstallationer og danne højeksplosive metalazider. Når natriumazidholdige opløsninger hældes ud i laboratorievasken, skal afløbet skylles med store mængder vand for at undgå ophobning af azider.
- P. Anvend beskyttelsesbriller, særligt arbejdstøj og engangsbeskyttelseshandsker ved håndtering af alle reagenser. Undgå kontakt med huden, øjnene og slimhinderne. Ved kontakt skylles straks med store mængder vand. Der kan opstå ætsninger, hvis området ikke behandles. Hvis disse reagenser spildes, skal de fortyndes med vand, før de tørres op.
- Q. **HIV-1 v2.0 CS2, SPEX** (anvendt i proceduren for tørrede PSC-plasmaspotprøver) og flydende affald fra COBAS® AmpliPrep-instrumentet, der indeholder guanidinthiocyanat, må ikke komme i kontakt med natriumhypoklorit (blegemiddel). Denne blanding kan danne en meget giftig gas.
- R. **SPEX** er lysfølsomt og leveres i lysbeskyttende flasker.
- S. Ved bortskaffelse af brugte COBAS® AmpliPrep-SPU'er (Specimen Processing Units), der indeholder guanidinthiocyanat, skal enhver kontakt med natriumhypokloritopløsning (blegemiddel) undgås. Denne blanding kan danne en meget giftig gas.
- T. Se flere advarsler og forholdsregler i metodeark til **PSC** ms_09411763190.

KRAV TIL OPBEVARING OG HÅNDTERING

- A. **Reagenser og kontroller må ikke nedfryses.**
- B. Inspicer hver reagenskassette visuelt før brug for at sikre, at der ikke er tegn på utætheder. Materialet må ikke anvendes til test, hvis der er tegn på utætheder.
- C. Opbevar **HIV-1 v2.0 CS1, HIV-1 v2.0 CS2, HIV-1 v2.0 CS3 og HIV-1 v2.0 CS4** ved 2-8 °C. Uåbnet kan disse reagenser holde sig til den angivne udløbsdato. Efter åbning kan disse reagenser holde sig i 28 dage ved 2-8 °C eller indtil udløbsdatoen afhængigt af, hvad der indtræder først. **HIV-1 v2.0 CS1, HIV-1 v2.0 CS2, HIV-1 v2.0 CS3 og HIV-1 v2.0 CS4** kan anvendes i højst 4 instrumentcyklusser, op til 64 timer i alt i COBAS® AmpliPrep-instrumentet. Reagenser skal opbevares ved 2-8 °C mellem instrumentcyklusser.
- D. Opbevar **HIV-1 H(+)C, v2.0, HIV-1 L(+)C, v2.0 og CTM (-) C** ved 2-8 °C. Kontrollerne kan holde sig til den angivne udløbsdato. Efter åbning skal ubrugt materiale kasseres.
- E. Opbevar barkodeclips [**HIV-1 H(+)C, v2.0 Clip, HIV-1 L(+)C, v2.0 Clip og HIV-1 (-) C Clip**] ved 2-30 °C.

- F. **PG WR** opbevares ved 2-30 °C. **PG WR** kan holde sig indtil den angivne udløbsdato. Efter åbning kan dette reagens holde sig i 28 dage ved 2-30 °C eller indtil udløbsdatoen afhængigt af, hvad der indtræder først.
- G. Opbevar **SPEX** (anvendt i proceduren for tørrede **PSC**-plasmaspot) ved 2-8 °C. **SPEX** kan holde sig indtil den angivne udløbsdato. Efter åbning kan dette reagens holde sig i 28 dage ved 2-30 °C eller indtil udløbsdatoen afhængigt af, hvad der indtræder først.
- H. Kravene til opbevaring og håndtering af **PSC** er specificeret i metodeark til **PSC** ms_09411763190.

MEDFØLGENDE MATERIALER

HI2CAP

- A. **COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0**
(P/N: 05212294 190)

HIV-1 v2.0 CS1

(HIV-1-reagenskassette med magnetiske glaspartikler)

HIV-1 v2.0 CS2

(HIV-1-lysisreagenskassette)

HIV-1 v2.0 CS3

(HIV-1-multireagenskassette)

HIV-1 v2.0 CS4

(HIV-1-testspecifik reagenskassette)

HIV-1 H(+)C, v2.0

(HIV-1 High Positive Control, v2.0)

HIV-1 L(+)C, v2.0

(HIV-1 Low Positive Control, v2.0)

CTM (-) C

[COBAS® TaqMan®-negativ kontrol (humant plasma)]

HIV-1 H(+)C, v2.0 Clip

(HIV-1 High Positive Control, v2.0 barkodeclip)

HIV-1 L(+)C, v2.0 Clip

(HIV-1 Low Positive Control, v2.0 barkodeclip)

HIV-1 (-) C Clip

(HIV-1 Negative Control barkodeclip)

- B. **COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® Wash Reagent**
(P/N: 03587797 190)

PG WR

- C. **COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® Specimen Pre-Extraction Reagent**
(P/N: 06989861190)

SPEX

NØDVENDIGE, MEN IKKE MEDFØLGENDE MATERIALER

Instrumenter og software

- COBAS® AmpliPrep-instrument
- COBAS® TaqMan®- eller COBAS® TaqMan® 48-analyseinstrument
- Valgfrit: **cobas p** 630-instrumentet
- Valgfrit: Dockingstation
- AMPLILINK Software, version 3.3- eller version 3.4-serien
- Kontrolenhed til AMPLILINK Software med printer
- Vejledninger til instrument og software:
 - Instrumentmanual til COBAS® AmpliPrep til brug med AMPLILINK Software, version 3.3- og 3.4-serien
 - Instrumentmanual til COBAS® TaqMan®-analyseinstrumentet til brug med AMPLILINK Software, version 3.3- og 3.4-serien
 - Instrumentmanual til COBAS® TaqMan® 48-analyseinstrumentet til brug med AMPLILINK Software, version- 3.3 og 3.4-serien
 - Applikationsmanual til AMPLILINK Software, version 3.3-serien til brug med COBAS® AmpliPrep-instrumentet, COBAS® TaqMan®-analyseinstrumentet, COBAS® TaqMan® 48-analyseinstrumentet, COBAS® AMPLICOR®-analyseinstrumentet og **cobas p** 630-instrument
- eller
- Applikationsmanual til AMPLILINK Software, version 3.4-serien
- Valgfrit: Brugermanual til **cobas p** 630-instrument, softwareversion 2.2
- Testdefinitionsfil (TDF). Se navnet på og versionen af testdefinitionsfilen på det produktoplysningskort, der fulgte med kittet.

Forbrugsartikler

- Prøvebehandlingsenheder: SPU'er
- S-tubes (Sample input tubes) med barkodeclips
- Racks med K-tips
- K-tube, æske med 12 x 96

ANDRE NØDVENDIGE, MEN IKKE MEDFØLGENDE MATERIALER (KUN VED ANVENDELSE AF EDTA-PLASMAPRØVER)

- Prøverack (SK24-rack)
- Reagensrack
- SPU-rack
- Capper til K-tubes, motoriseret
- Capper til K-tubes
- K-carrier
- K-carrier-transportør
- K-carrier-rack
- Pipetter med aerosolfiler eller RNase-frie stempelspidser (kapacitet 1000 µl)*
- Engangsbeskyttelseshandsker, uden talkum
- Vortex-mixer

* Pipetter skal være nøjagtige inden for 3 % af den angivne volumen. Der skal anvendes aerosolbarriere- eller RNase-fri "positive displacement"-spidser, hvor det er angivet, for at undgå krydskontaminering af prøver og applikationer.

ANDRE NØDVENDIGE, MEN IKKE MEDFØLGENDE MATERIALER OG FORBRUGSARTIKLER (KUN VED ANVENDELSE AF TØRREDE PSC-PLASMAPOTPRØVER)

- **cobas®** Plasma Separation Card (P/N 07963084190 eller P/N 09411763190)*
- Steril eller engangstang eller -pincet**
- 140 µl kapillærrør (f.eks. Vitrex-plastikrør) med kompatibel dispenser (f.eks. Vitrex-pipetteholder)*
- En fingerprikker til engangsbrug (f.eks. Greiner Bio-one: MiniCollect® Safety Lancet med en indstiksdybde på 2,00 mm)*
- Prøvepose (i gennemsnitlig plastik med genlukkelig lynlås) og silikagelposer med tørremiddel (til i alt 4 gram. Se metodeark til **PSC** ms_09411763190 for at få flere oplysninger om opbevaring og levering af **PSC**).
- Transportpose (f.eks. Wicoseal 180 x 60 x 240 mm)
- Pipette (f.eks. Multisteppe-pipette)
- Eppendorf Thermomixer® (f.eks. model R 5355 eller C eller tilsvarende) med Thermoblock til 24 cryorør

* Se metodeark til **PSC** ms_09411763190 for at få flere oplysninger om **PSC**-prøvetagning.

** For at forhindre krydskontaminering må man kun bruge én tang til hver patient! Det anbefales at bruge en metaltang, der autoklaveres efter en enkelt anvendelse.

UDTAGNING, TRANSPORT OG OPBEVARING AF EDTA-PLASMAPRØVER

Bemærk! *Alle prøver og kontroller skal håndteres som potentielt smittefarlige.*

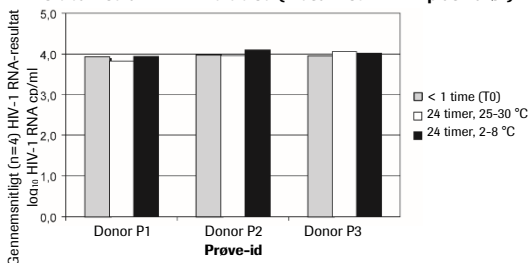
Bemærk! *Denne test er kun valideret til brug med humant plasma, der er indsamlet i det antikoagulerende middel EDTA eller fra en tørret PSC-plasmaspot. Test af andre prøvetyper kan medføre uøjagtige resultater.*

A. Prøvetagning

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test v2.0 er kun beregnet til plasmaprøver. Blod skal tages i sterile rør med EDTA som antikoagulerende middel og blandes tilstrækkeligt i henhold til instruktionerne fra rørproducenten.

Fuldblod skal opbevares ved 2-25 °C i højst 24 timer. Plasma skal separeres fra fuldblod inden for 24 timer efter prøvetagning ved centrifugering ved 800-1600 x g i 20 minutter ved stuetemperatur. Plasmaet overføres til et sterilt polypropylenrør. Figur 4 viser data for prøveholdbarhed fra undersøgelser udført med COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1-testen (P/N: 03543005 190).

Figur 4
Holdbarhed af HIV-1 i fuldblod (indsamlet i EDTA-plasmarør)



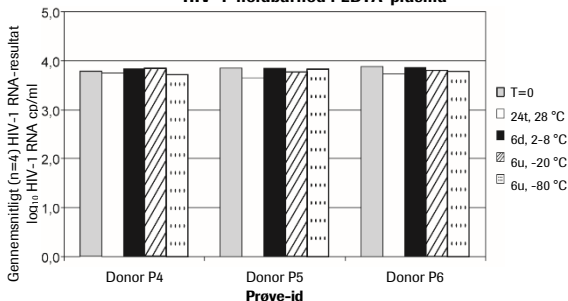
B. Transport af prøver

Transport af fuldblod eller plasma skal overholde nationale, regionale og lokale bestemmelser for transport af ætiologiske stoffer⁴⁰. Fuldblod skal transporteres ved 2-25 °C og centrifugeres inden for 24 timer efter prøvetagningen. Plasma skal transporteres ved 2-8 °C eller nedfrosset ved -20 °C til -80 °C.

C. Opbevaring af prøver

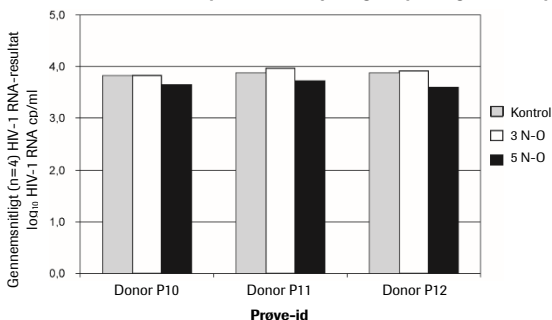
Plasmaprøver kan opbevares ved stuetemperatur (25-30 °C) i op til 1 dag eller i op til 6 dage ved 2-8 °C. Plasmaprøver har vist sig at være stabile i seks uger nedfrosset ved -20 °C til -80 °C. Det anbefales at opbevare prøver i mængder på 1100-1200 µl i sterile 2,0 ml polypropylenrør med skruelåg (f.eks. Sarstedt 72.694.006). Figur 5 viser data for prøveholdbarhed fra undersøgelser af prøveopbevaring udført med COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1-testen (P/N: 03543005 190).

Figur 5
HIV-1-holdbarhed i EDTA-plasma



Plasmaprøverne kan nedfryses og optøs op til fem gange uden betydelige tab af HIV-1 RNA. Figur 6 viser data for undersøgelser af nedfrysning/optøning af prøver udført med COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1-testen (P/N: 03543005 190).

Figur 6
HIV-1-resultater efter op til fem nedfrysninger/optøninger (EDTA-plasma)



UDTAGNING, TRANSPORT OG OPBEVARING AF TØRREDE PSC-PLASMASPOTPRØVER

Bemærk! *Alle prøver og kontroller skal håndteres som potentielt smittefarlige.*

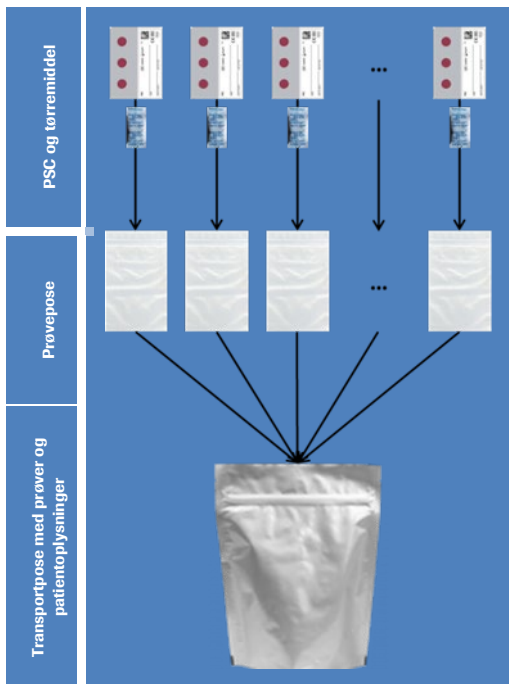
Bemærk! *Denne test er kun valideret til brug med humant plasma, der er indsamlet i det antikoagulerende middel EDTA eller fra en tørret PSC-plasmaspot. Test af andre prøvetyper kan medføre uøjagtige resultater.*

A. Prøvetagning

Tørrede **PSC**-plasmaspotprøver udtages ved brug af passende kliniske procedurer. Udløbsdatoen for **PSC** skal kontrolleres før brug. Fortsæt kun, hvis **PSC**et endnu ikke er udløbet, og hvis den forseglede pose med **PSC**et er helt lukket og intakt. Mærk **PSC**et med patientens navn, fødselsdato og klokkeslæt for prøvetagning. Anvend 140 µl af fuldblod på hver cirkel af **PSC**-membranen, der er afgrænset til laget af spotprøver, ved hjælp af et passende kapillærrør og en dispenser. Det anbefales at fylde alle tre spots på **PSC**et for at give mulighed for at teste igen. Der må ikke påføres prøver fra mere end én patient på samme **PSC**. Sørg for, at BEGGE sider af spots på **PSC**et (forsiden: membran med blod; bagsiden: spot med plasma) er mættet efter 5 minutter. Kontrollér bagsiden gennem det gennemsigtige bagerste lag. Membranerne må ikke komme i kontakt med handsker, værktøj eller potentielt kontaminerede overflader under denne procedure.

Lad **PSC**et tørre ved stuetemperatur i mindst 4 timer (højst natten over), mens det er beskyttet mod direkte sollys. Laget til spotprøver må ikke fjernes. Dette udføres i laboratoriet. Når det er tørt, skal **PSC**et opbevares i en individuel prøvepose med 4 gram tørremiddel, og posen skal forsegles (Figur 7). Prøveposerne skal pakkes i en transportpose sammen med det relevante patientoplysningsskema. Det anbefales at pakke maks. 25 **PSC**er pr. transportpose.

Figur 7
Oversigt over pakkerne til PSC-transport



B. Prøvetransport

Hvis prøverne skal sendes, skal de pakkes og mærkes i overensstemmelse med de gældende nationale og/eller internationale bestemmelser for transport af prøver og ætiologiske stoffer. Transportposer, der indeholder **PSC'er**, skal transporteres inden for 28 dage ved 18-45 °C og en luftfugtighed på op til 85 %.

C. Prøveopbevaring

PSC'er i individuelle prøveposer med 4 gram tørremiddel i en transportpose kan opbevares efter transport ved stuetemperatur (18-30 °C), ved 2-8 °C eller ved ≤ -10 °C i op til 56 dage (med eller uden adskillelse af lag).

BRUGSANVISNING

Bemærk! For at få en detaljeret brugsanvisning, en detaljeret beskrivelse af mulige konfigurationer, udskrivning af resultater og fortolkning af markeringer, kommentarer samt fejlmeddelelser henvises til: (1) instrumentmanualen til COBAS® AmpliPrep til brug med AMPLILINK Software, version 3.3- og 3.4-serien; (2) instrumentmanualen til COBAS® TaqMan®-analyseinstrumentet til brug med AMPLILINK Software, version 3.3- og 3.4-serien; (3) instrumentmanualen til COBAS® TaqMan® 48-analyseinstrumentet til brug med AMPLILINK Software, version 3.3- og 3.4-serien; (4) applikationsmanualen til AMPLILINK Software, version 3.3-serien til brug med COBAS® AmpliPrep-instrumentet, COBAS® TaqMan®-analyseinstrumentet, COBAS® TaqMan® 48-analyseinstrumentet, applikationsmanualen til COBAS® AMPLICOR®-analyseinstrumentet og cobas p 630-instrumentet eller AMPLILINK Software, version 3.4-serien; (5) valgfrit: brugermanualen til cobas p 630-instrumentet, softwareversion 2.2.

Oplysningerne i del A-C og F-J gælder for begge prøvetyper (EDTA-plasmaprøver og tørrede PSC-plasmaspotprøver). Del D indeholder kun oplysninger om bestilling og indsætning af prøver til EDTA-plasmaprøver. Del E indeholder kun oplysninger om bestilling og indsætning af prøver til tørrede PSC-plasmaspotprøver.

Batch-størrelse

Hvert kit indeholder nok reagenser til 48 test, der kan udføres i batches fra 12 til 24 test. Der skal inkluderes mindst én af hver af kontrollerne [CTM (-) C, HIV-1 L(+)C, v2.0 og HIV-1 H(+)C, v2.0] i hver batch (se afsnittet "Kvalitetskontrol").

Arbejdsgang

Kørslen i COBAS® TaqMan®-analyseinstrumentet eller COBAS® TaqMan® 48-analyseinstrumentet skal startes, inden der er gået 120 minutter efter færdiggørelsen af prøve- og kontrolforberedelsen.

Bemærk! *Behandlede prøver og kontroller må ikke nedfryses eller opbevares ved 2-8 °C.*

Prøve- og kontrolforberedelse

Bemærk! *Hvis der benyttes frosne prøver, skal prøverne placeres ved stuetemperatur, indtil de er fuldstændig optøede, og vortexes i 3-5 sekunder før brug. Hvis kontrollerne opbevares ved 2-8 °C, skal de tages ud og tempereres til den omgivende temperatur før brug.*

Opsætning af COBAS® AmpliPrep-instrumentet

Del A. Vedligeholdelse og priming

- A1. COBAS® AmpliPrep-instrumentet er klar til brug i standby-tilstand.
- A2. Tænd for kontrolenheden til AMPLILINK Software (**ON**). Forbered kontrolenheden på følgende måde:
 1. Log på Microsoft Windows-operativsystemet.
 2. Dobbeltklik på ikonet for AMPLILINK-softwaren.
 3. Log på AMPLILINK-softwaren ved at indtaste bruger-id og adgangskode.
- A3. Kontroller beholdningen af **PG WR** på skærbilledet **Status**, og foretag udskiftning, hvis det er nødvendigt.
- A4. Udfør de vedligeholdelsesprocedurer, der er angivet på fanen Due. Systemet primes automatisk af COBAS® AmpliPrep-instrumentet.

Del B. Indsætning af reagenskassetter

Bemærk! *Alle reagenskassetter skal fjernes fra opbevaringen ved 2-8 °C og indsættes i COBAS® AmpliPrep-instrumentet, mindst 30 minutter før den første prøve skal behandles, for at blive tempereret til den omgivende temperatur. Reagenserne må ikke tempereres til den omgivende temperatur uden for instrumentet, da der kan dannes kondens på barkodeetiketterne. Hvis der dannes kondens på barkodeetiketterne, må disse ikke tørres af.*

- B1. Placer **HIV-1 v2.0 CS1** på et reagensrack. Placer **HIV-1 v2.0 CS2**, **HIV-1 v2.0 CS3** og **HIV-1 v2.0 CS4** på et separat reagensrack.
- B2. Indsæt det reagensrack, der indeholder **HIV-1 v2.0 CS1**, i rackposition **A** i COBAS® AmpliPrep-instrumentet.
- B3. Indsæt det reagensrack, der indeholder **HIV-1 v2.0 CS2**, **HIV-1 v2.0 CS3** og **HIV-1 v2.0 CS4**, i rackpositionerne **B**, **C**, **D** eller **E** i COBAS® AmpliPrep-instrumentet. (Se Tabel 1 for at få flere oplysninger).

Del C. Indsætning af forbrugsartikler

Bemærk! *Bestem det antal COBAS® AmpliPrep-reagenskassetter, -SPU'er (Sample Processing Units), input-S-tubes (S-tubes), K-tips og K-tubes, der skal bruges. Der skal bruges én SPU, én input-S-tube, én K-tip og én K-tube til hver prøve eller kontrol.*

Der er flere mulige arbejdsgange for brug af COBAS® AmpliPrep-instrumentet med COBAS® TaqMan®- eller COBAS® TaqMan® 48-analyseinstrumentet. Se Tabel 1 nedenfor for at få yderligere oplysninger. Afhængigt af den valgte arbejdsgang indsættes det relevante antal reagenskassetteracks, prøveracks med input S-tubes, SPU-racks, K-tip-racks, K-tube-racks og K-carriers på K-carrier-racks i de respektive rackpositioner i COBAS® AmpliPrep-instrumentet (se Tabel 1 for at få yderligere oplysninger).

- C1. Placer SPU'erne i SPU-racket eller -rackene, og indsæt racket eller rackene i positionerne **J**, **K** eller **L** i COBAS® AmpliPrep-instrumentet.
- C2. Afhængigt af den valgte arbejdsgang indsættes det fulde rack med K-tubes på rackposition **M**, **N**, **O** eller **P** i COBAS® AmpliPrep-instrumentet.
- C3. Indsæt fulde racks med K-tips på rackposition **M**, **N**, **O** eller **P** i COBAS® AmpliPrep-instrumentet.
- C4. I forbindelse med arbejdsgang 3 med brug af COBAS® TaqMan® 48-analyseinstrumentet indsættes K-carriers på K-carrier-rack(s) i rackposition **M** og **N** eller **O** og **P** i COBAS® AmpliPrep-instrumentet.

Tabel 1

Mulige arbejdsgange ved brug af COBAS® AmpliPrep-instrumentet med COBAS® TaqMan®-analyseinstrumentet eller COBAS® TaqMan® 48-analyseinstrumentet

Arbejdsgang		Overførselstilstand til COBAS® TaqMan®- eller COBAS® TaqMan® 48-analyseinstrumentet	Racks, carriers og forbrugsartikler	Position i COBAS® AmpliPrep-instrumentet
1	COBAS® AmpliPrep-instrument, dockingstation og COBAS® TaqMan®-analyseinstrumentet	Automatisk overførsel af K-carrier	K-tubes i fulde K-tube-racks	M – P
			K-tips i fulde K-tip-racks	M – P
			Indsæt S-tubes med prøver og kontroller i prøveracks	F – H
			SPU'er i SPU-racks	J – L
			CS1 i kassetterack	A
			CS2, CS3, CS4 i kassetterack	B – E
2	COBAS® AmpliPrep-instrument og COBAS® TaqMan®-analyseinstrument	Manuel overførsel af K-tubes via prøverack(s) på COBAS® TaqMan®-analyseinstrumentet	K-tubes i fulde K-tube-racks	M – P
			K-tips i fulde K-tip-racks	M – P
			Indsæt S-tubes med prøver og kontroller i prøveracks	F – H
			SPU'er i SPU-racks	J – L
			CS1 i kassetterack	A
			CS2, CS3, CS4 i kassetterack	B – E
3	COBAS® AmpliPrep-instrument og COBAS® TaqMan® 48-analyseinstrument	Manuel overførsel af K-carrier via K-carrier-racks på COBAS® TaqMan® 48-analyseinstrumentet	Efter udførelse af prøvebehandling: K-tubes på prøveracks (klar til manuel overførsel)	Samme som ovenfor (F-H)
			K-tubes på prøveracks	F – H
			K-tips i fulde K-tip-racks	M – P
			Indsæt S-tubes med prøver og kontroller i prøveracks	F – H
			SPU'er i SPU-racks	J – L
			CS1 i kassetterack	A
			CS2, CS3, CS4 i kassetterack	B – E
			Tom barkodet K-carrier på K-carrier-rack	M – P
			Efter udførelse af prøvebehandling: K-tubes i K-carrier på K-carrier-racks	Samme som ovenfor (M-P)

Del D. Bestilling og indsætning af prøver: EDTA-plasmaprøver

- D1. Forbered prøveracks på følgende måde: Sæt en clip med barkodemærkat på alle de prøverackpositioner, hvor der skal placeres en prøve (S-tube). Sæt de specifikke clips med barkodemærkat for kontrollerne [CTM (-) C, HIV-1 L(+)C, v2.0 og HIV-1 H(+)C, v2.0] på hver prøverackposition, hvor der skal placeres kontroller (S-tubes). Clipsene med barkodemærkat til kontrollerne skal have det samme kontrollotnummer som lotnummeret på kontrolflaskerne i kittet. Sørg for at tilknytte den rigtige kontrol til positionen med den tilhørende kontrolbarkodeclip. Placer en input-S-tube på hver position, der indeholder en clip med barkodemærkat.
- D2. Brug AMPLILINK-softwaren til at vælge testdefinitionsfilen (HI2CAP96 til COBAS® AmpliPrep-instrumentet og COBAS® TaqMan®-analyseinstrumentet, HI2CAP48 til COBAS® AmpliPrep-instrumentet og COBAS® TaqMan® 48-analyseinstrumentet), opret prøvebestillinger for hver prøve og kontrol i vinduet **Orders** og mappen **Sample**, og udfør ved at gemme.
- D3. Tilknyt prøve- og kontrolordrer til prøverackpositioner på fanen **Sample Rack** i vinduet **Orders**. Prøveracknummeret skal være til racket, der blev forberedt i trin D1.
- D4. Udskriv rapporten **Sample Rack Order**, og brug den som arbejdsark.
- D5. Forbered prøve- og kontrolracks i det angivne område for tilføjelse af prøver og kontroller på følgende måde: Bland hver prøve og kontrol [CTM (-) C, HIV-1 L(+)C, v2.0 and HIV-1 H(+)C, v2.0] i 3 til 5 sekunder ved at vortexe. Undgå at kontaminere handsker ved håndtering af prøver og kontroller.
- D6. Overfør 1000-1050 µl af hver prøve og kontrol [CTM (-) C, HIV-1 L(+)C, v2.0 og HIV-1 H(+)C, v2.0] til det relevante barkodemærkede input-S-tube ved hjælp af en mikropipette med aerosolfilterspids eller en "positive displacement"-RNase-fri spids. **Undgå at overføre partikler og/eller fibrinclots fra den oprindelige prøve til input-S-tuben.** Prøver og kontroller skal overføres til de rørpositioner, der er tildelt og registreret på arbejdsarket under trin D4. Clipsene med barkodemærkat til kontrollerne skal have det samme kontrollotnummer som lotnummeret på kontrolflaskerne i kittet. Sørg for at tilknytte den rigtige kontrol til positionen med den relevante kontrolbarkodeclip. **Undgå at kontaminere den øverste del af S-tubes med prøver eller kontroller.** Se brugermanualen til **cobas p 630**-instrumentet ved brug af **cobas p 630**-instrumentet til prøveforberedelse.
- D7. Til arbejdsgangene 1 og 2 indsættes prøveracks med input S-tubes i rackpositionerne **F, G** eller **H** i COBAS® AmpliPrep-instrumentet.
- D8. Til arbejdsgangen 3 med brug af COBAS® TaqMan® 48-analyseinstrumentet indsættes prøveracks med input S-tubes og K-tubes (én til hver input S-tube, indsat i den højre position ved siden af input-S-tubes) i positionerne **F, G** eller **H** i COBAS® AmpliPrep-instrumentet.

Del E. Bestilling og indsætning af prøver: Tørrede PSC-plasmaspotprøver

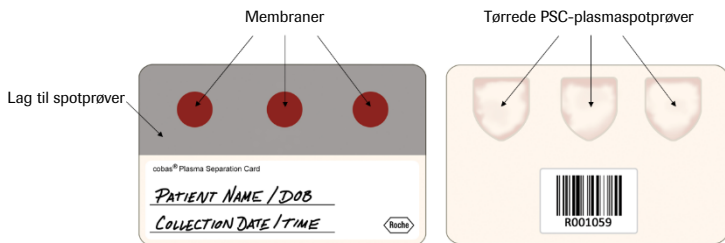
- E1. Kontrollér transportposens integritet før åbning. Fortsæt kun, hvis transportposen er fuldstændig forseglet.

Man skal åbne transportposen og kun fortsætte med hver enkelt prøvepose, hvis:

- laboratoriets rekvisitionsformular er helt udfyldt.
- barkoden på laboratoriets rekvisitionsformular og **PSC'et** svarer til hinanden.
- prøveposen er helt lukket, og hver pose indeholder et **PSC** med 4 gram tørremiddel.
- prøvetagningsdatoen er tilgængelig, og prøvetagningen fandt sted inden for de seneste 28 dage og før udløbsdatoen for **PSC'et**.
- **PSC'et** er ikke udløbet.
- den tørrede **PSC**-plasmaspot ser ensartet ud på forsiden og ser ud til at være helt dækket med plasma set fra bagsiden (se Figur 8).

Figur 8

Tørrede PSC-plasmaspotprøver, der skal behandles (venstre: forside. højre: bagside)



- E2. Tørrede **PSC**-plasmaspotprøver skal markeres og afvises, hvis:

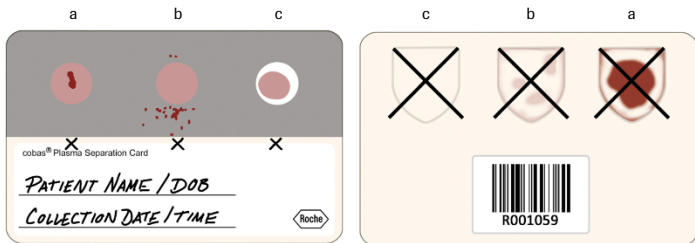
- Der er synligt spild fra blod (Figur 9b), og/eller membranen ikke er helt dækket med blod (Figur 9c), og den pågældende **PSC**-spot derfor indeholder en inhomogen forside og/eller en bagside, der ikke er helt dækket med plasma (synlig gennem carrieren).
- membranen er beskadiget (Figur 9a), og den pågældende **PSC**-spot derfor indeholder en inhomogen forside og en mørk rødbrun bagside (synlig gennem carrieren).

Bemærk! De tre spots gør, at man har mulighed for at gentage testen. Et PSC kan indeholde en dårlig spot men stadig give en god prøve til testen. De dårlige spots skal markeres korrekt, så de kan genkendes. Undgå at markere dem på laget til spotprøver. Sammenlign altid de tre spots med hinanden for at evaluere deres kvalitet.

Figur 9

Afvisningskriterium for PSC'er (venstre: forside; højre: bagside).

Spots med spildt blod (b), ikke dækket membran (c) eller synligt beskadigede membraner (a) må ikke behandles. Spots skal markeres tydeligt, når de afvises.



- E3. Forbered prøveracks på følgende måde: Sæt en clip med barkodemærkat på alle de prøverackpositioner, hvor der skal placeres en prøve (S-tube). Sæt de specifikke clips med barkodemærkat for kontrollerne [CTM (-) C, HIV-1 L(+)C, v2.0 og HIV-1 H(+)C, v2.0] på hver prøverackposition, hvor der skal placeres kontroller (S-tubes). Clipsene med barkodemærkat til kontrollerne skal have det samme kontrollotnummer som lotnummeret på kontrolflaskerne i kittet. Sørg for at tilknytte den rigtige kontrol til positionen med den tilhørende kontrolbarkodeclip. Placer en input-S-tube på hver position, der indeholder en clip med barkodemærkat.
- E4. Brug AMPLILINK-softwaren til at vælge den relevante testdefinitionsfil (HI2PSC96 til COBAS® AmpliPrep-instrumentet og COBAS® TaqMan®-analyseinstrumentet, HI2PSC48 til COBAS® AmpliPrep-instrumentet og COBAS® TaqMan® 48-analyseinstrumentet), og opret prøvebestillinger for hver prøve og kontrol i vinduet **Orders** og mappen **Sample**, og udfør ved at gemme.
- E5. Tilknyt prøve- og kontrolordrer til prøverackpositioner på fanen **Sample Rack** i vinduet **Orders**. Prøveracknummeret skal være til det rack, der blev forberedt i trin E1. Patientens barkode på bagsiden af **PSC'et** kan scannes gennem prøveposen (Figur 10). Åbn ikke prøveposen på dette tidspunkt, men udfør ved at gemme.

Figur 10

Scanning af prøvens barkode for at bestille tørrede PSC-plasmapotprøver



- E6. Udskriv rapporten **Sample Rack Order**, og brug den som arbejdsark, og bekræft brugen af den relevante testfil igen.

- E7. Udfør trin E7 til E11 i et sikkerhedskabinat. For det valgte **PSC** skal man åbne prøveposen og fjerne laget til spotprøver (Figur 11). Bøj **PSC**'et let, og fjern én tørret plasmaspot med en steril tang eller pincet ved at trække den op. Bøj den fjernede plasmaspot på **PSC**'et for at gøre det lettere at nedsætte i røret (Figur 12).

Figur 11
Fjernelse af laget til spotprøver



Figur 12
Fjernelse af den tørrede PSC-plasmaspot og bøjning

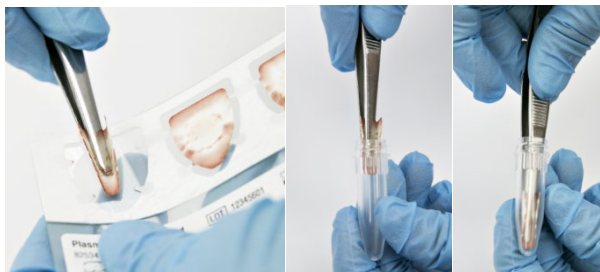


Bemærk: Brug én tang eller pincet pr. patient.

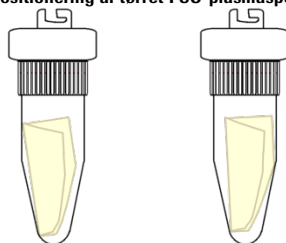
- E8. Overfør én bøjet og tørret **PSC**-plasmaspot til det tilsvarende input-S-tube, så den nederste spids af den tørrede **PSC**-plasmaspot når bunden af røret og sidder fast på rørsiden for at forhindre pipetteringsfejl (Figur 13 og Figur 14).

Bemærk! Tørrede plasmaspots kan blive skrøbelige ved opbevaring. Se kravene til opbevaring af **PSC**'er. Håndter dem forsigtigt ved indføring i røret.

Figur 13
Overførsel af den tørrede PSC-plasmaspot til røret



Figur 14
Bedste positionering af tørret PSC-plasmaspot i S-tube



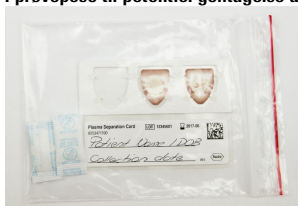
Valid

Potentiel risiko for clotdannelse

Bemærk: *Sørg for, at input-S-tubens positionsnummer i rapporten Sample Rack Order svarer til positionen af SK24-racket.*

- E9. Placer **PSC**'et med de resterende tørrede plasmaspots i dets originale prøvepose med 4 gram frisk tørremiddel til gentagelse af testen efter behov (Figur 15). **PSC**'er kan opbevares i en periode på 56 dage efter transport med og uden adskillelse af laget til spotprøver (ved 18-30 °C eller ved 2-8 °C eller ved ≤ -10 °C).

Figur 15
PSC'et i prøvepose til potentiel gentagelse af testen



- E10. Luk input-S-tuben, og overfør det rør, der indeholder den tørrede **PSC**-plasmaspot, til SK24-racket, position 4-24 (se Tabel 2 for at få yderligere oplysninger). Gentag, indtil alle prøver er behandlet.

Bemærk: ***SPEX** skal tempereres til den omgivende temperatur før brug.*

- E11. Åbn input-S-tubene enkeltvist, gem låget under rene forhold, og tilsæt 1100 µl **SPEX** i hver input-S-tube (Figur 16). Sæt låg på input-S-tuben igen. Gentag, indtil alle prøver er behandlet.

Figur 16
1100 µl SPEX tilsat i hver tørret PSC-plasmaspotprøve



Bemærk: *Undgå kontaminering af den øvre del af Input-S-tubene med prøver, og sørg for, at der er sat låg på rørene for at forhindre fordampning.*

- E12. Overfør S-input-tubene til en Eppendorf Thermomixer, og inkuber de forberedte S-input-tubes ved 56 °C og 1000 rpm, i 10 minutter for at ekstrahere virusset fra det tørrede plasma (Figur 17).

Figur 17
Inkubationen tager 10 minutter.



Bemærk! *Start inkubationen lige efter tilsætningen af SPEX.*

- E13. Under inkubationen forberedes kontrollerne på følgende måde.

Bemærk: Kontrollerne må ikke inkuberes.

Placer én S-input-tube i hver position (1 til 3) i det forberedte SK24-rack, der indeholder en clip med en barkodemærkat.

Bland én flaske med **CTM (-) C** grundigt i 20 sekunder ved at vortexe. Overfør 1000 µl **CTM (-) C** til S-input-tube 1 i SK24-racket. Sæt straks låg på den pågældende S-input-tube igen.

Bland én flaske med **HIV-1 L(+)C, v2.0** grundigt i 20 sekunder ved at vortexe. Overfør 1000 µl **HIV-1 L(+)C, v2.0** til S-input-tube 2 i SK24-racket. Sæt straks låg på den pågældende S-input-tube igen.

Bland én flaske med **HIV-1 H(+)C, v2.0** grundigt i 20 sekunder ved at vortexe. Overfør 1000 µl **HIV-1 H(+)C, v2.0** til S-input-tube 3 i SK24-racket. Sæt straks låg på den pågældende S-input-tube igen.

Tabel 2
Bestilling og indsætning for tørrede PSC-plasmaspotprøver

Prøve	AMPLILINK- bestillingsposition	Eppendorf IsoRack-position	SK24-rackposition
Prøve	S-input-tube	S-input-tube	S-input-tube
CTM(-)C	1	Tom	1
HIV-1 L(+)C v2.0	2	Tom	2
HIV-1 H(+)C v2.0	3	Tom	3
Tørret PSC -plasmaspot + 1100 µl SPEG	4-24	4-24	4-24

- E14. Efter inkubationen overføres prøverne i den korrekte rækkefølge til det SK24-rack, der indeholder kontrollerne (trin E13) (se Tabel 2 for at få yderligere oplysninger).

Bemærk: Kontrollér, at den tørrede PSC-plasmaspots position i røret stadig er korrekt (Figur 14), og juster om nødvendigt med en steril pipette. Hvis der er bobler, skal de fjernes med en steril pipettespids.

- E15. Indsæt de(t) prøverack, der er fyldt med S-input-tubes i rackpositionerne **F**, **G** eller **H** i COBAS® AmpliPrep-instrumentet.

Del F. Start af kørsel i COBAS® AmpliPrep-instrumentet

- F1. Start COBAS® AmpliPrep-instrumentet ved hjælp af AMPLILINK-softwaren.

Del G. Afslutning af kørslen i COBAS® AmpliPrep-instrumentet og overførsel til COBAS® TaqMan®-analyseinstrumentet eller COBAS® TaqMan® 48-analyseinstrumentet (kun for arbejdsgang 2 og 3 i Tabel 1)

- G1. Kontroller for markeringer eller fejlmeddelelser.
- G2. Fjern de behandlede prøver og kontroller fra COBAS® AmpliPrep-instrumentet fra prøverackene (for COBAS® TaqMan®-analyseinstrumentet uden dockingstation) eller K-carrier-rackene (for COBAS® TaqMan® 48-analyseinstrumentet), afhængigt af den valgte arbejdsgang (se del G for at få yderligere oplysninger).
- G3. Fjern de brugte materialer fra COBAS® AmpliPrep-instrumentet.

Bemærk: *De behandlede prøver og kontroller må ikke udsættes for lys efter fuldførelsen af prøve- og kontrolklargøringen.*

Amplifikation og detektion

Opsætning af COBAS® TaqMan®-analyseinstrumentet eller COBAS® TaqMan® 48-analyseinstrumentet

Kørslen i COBAS® TaqMan®-analyseinstrumentet eller COBAS® TaqMan® 48-analyseinstrumentet skal startes, inden der er gået 120 minutter efter færdiggørelsen af prøve- og kontrolforberedelsen.

Bemærk: *Behandlede prøver og kontroller må ikke nedfryses eller opbevares ved 2-8 °C.*

Del H. Indsætning af behandlede prøver

- H1. Udfør de relevante trin for at overføre K-tubes til COBAS® TaqMan®- eller COBAS® TaqMan® 48-analyseinstrumentet, alt efter den valgte arbejdsgang.

Arbejdsgang 1: Automatisk overførsel af K-carrier via dockingstationen til COBAS® TaqMan®-analyseinstrumentet. Dette kræver ikke indgreb fra brugeren.

Arbejdsgang 2: Manuel overførsel af K-tubes i prøveracks på COBAS® TaqMan®-analyseinstrumentet.

Arbejdsgang 3: Manuel overførsel af K-carrier på K-carrier-racks til COBAS® TaqMan® 48-analyseinstrumentet. Manuel overførsel af K-carriers til COBAS® TaqMan® 48-analyseinstrumentet ved hjælp af K-carrier-transporteren.

Del I. Start af kørsel i COBAS® TaqMan®-analyseinstrumentet eller COBAS® TaqMan® 48-analyseinstrumentet

- I1. Start COBAS® TaqMan®-analyseinstrumentet eller COBAS® TaqMan® 48-analyseinstrumentet med en af nedenstående indstillinger alt efter den valgte arbejdsgang:

Arbejdsgang 1: Kræver ikke indgreb fra brugeren.

Arbejdsgang 2: Automatisk start af COBAS® TaqMan®-analyseinstrumentet efter indsættelse af prøveracks.

Arbejdsgang 3: Fyld K-carrieren med tomme K-tubes, hvis den indeholder færre end 6 K-tubes. Vejledning til opfyldningen vises af AMPLILINK-softwaren. Åbn dækslet til thermo cycleren, indsæt K-carrieren, og luk låget. Start kørslen på COBAS® TaqMan® 48-analyseinstrumentet.

Del J. Afslutning af kørsel i COBAS® TaqMan®-analyseinstrumentet eller COBAS® TaqMan® 48-analyseinstrumentet

- J1. Udskriv resultatrapporten, når kørslen på COBAS® TaqMan®- eller COBAS® TaqMan® 48-analyseinstrumentet er fuldført. Kontrollér, at den korrekte testdefinitionsfil blev brugt, og se efter markeringer eller fejlmeddelelser i resultatrapporten. Prøver med markeringer og kommentarer skal fortolkes som beskrevet i afsnittet Resultater. Gem dataene, når resultaterne er godkendt.

- J2. Fjern de brugte K-tubes fra COBAS® TaqMan®-analyseinstrumentet eller COBAS® TaqMan® 48-analyseinstrumentet.

RESULTATER

COBAS® TaqMan®- eller COBAS® TaqMan® 48-analyseinstrumentet beregner automatisk HIV-1 RNA-koncentrationen for prøverne og kontrollerne. **HIV-1 RNA-koncentrationen angives som cp/ml eller IE/ml afhængigt af, hvilken testdefinitionsfil der anvendes. Omregningsfaktoren mellem HIV-1 RNA cp/ml og HIV-1 IE/ml er 0,6 cp/IE ved anvendelse af WHO 1st International Standard for HIV-1 RNA for Nucleic Acid-Based Techniques (NAT) (NIBSC 97/656)³⁷. Omregningsfaktoren blev bestemt ved hjælp af COBAS® AMPLICOR® HIV-1 MONITOR Test, v1.5, COBAS® AmpliPrep/COBAS® AMPLICOR® HIV-1 MONITOR Test, v1.5 og COBAS® TaqMan® HIV-1-testen til brug med High Pure-systemet.**

AMPLILINK-software:

- Bestemmer cyklusgrænseværdien (Ct) for HIV-1 RNA'et og HIV-1 QS RNA'et.
- Bestemmer HIV-1 RNA-koncentrationen på baggrund af Ct-værdierne for HIV-1 RNA'et og HIV-1 QS RNA'et og de lotspecifikke kalibreringskoefficienter, der er angivet på kasettebarkoderne.
- Angiver, at den beregnede cp/ml-værdi for **HIV-1 L(+)C, v2.0** og **HIV-1 H(+)C, v2.0** ligger inden for de tildelte intervaller.

Validering af batch – AMPLILINK version 3.3- og version 3.4-serien

Kontrollér resultatvinduet i AMPLILINK-softwaren eller udskriften for markeringer og kommentarer for at sikre, at batchen er valid. For kontrolordrer foretages en kontrol for at bestemme om cp/ml- eller IE/ml-værdien for kontrollen er inden for det angivne interval. Hvis cp/ml- eller IE/ml-værdien for kontrollen er uden for intervallet, genereres der en markering ("flag") for at angive, at kontrollen ikke lykkedes.

Batchen er valid, hvis der ikke vises markeringer for kontrollerne [**HIV-1 L(+)C, v2.0; HIV-1 H(+)C, v2.0** og **CTM (-) C**].

Batchen er ikke valid, hvis der vises nogen af følgende markeringer for HIV-1-kontrollerne:

Negativ kontrol

Markering	Resultat	Fortolkning
NC_INVALID	Invalid	Et invalidd resultat eller et "validt" resultat, der ikke er negativt for HIV-1-target

HIV-1 Low Positive Control, v2.0

Markering	Resultat	Fortolkning
LPCINVALID	Invalid	Et invalidd resultat eller en kontrol uden for intervallet

HIV-1 High Positive Control, v2.0

Markering	Resultat	Fortolkning
HPCINVALID	Invalid	Et invalidd resultat eller en kontrol uden for intervallet

Hvis batchen er invalid, skal hele batchen gentages, herunder prøve- og kontrolklargøring, amplifikation og detektion.

Fortolkning af resultater

Hvis batchen er valid, skal det for hver enkelt prøve kontrolleres, om der er markeringer eller kommentarer på resultatudskriften. Resultaterne skal fortolkes på følgende måde:

- En valid batch kan inkludere både valide og invalide prøveresultater afhængigt af, om der er genereret markeringer og/eller kommentarer for de individuelle prøver.

Prøveresultaterne fortolkes på følgende måde:

		Titerresultat	Fortolkning
		Target Not Detected	Ct-værdien for HIV-1 er over analysegrænsen, eller der er ikke opnået en Ct-værdi for HIV-1. Disse resultater skal rapporteres som "HIV-1 RNA ikke påvist".
Kopier/ml		< 2,00E+01 cp/ml (plasma)	De beregnede kopier/ml er under detektionsgrænsen for analysen. Resultaterne rapporteres som "HIV-1 RNA påvist, mindre end 20 HIV-1 RNA cp/ml" for plasma og "HIV-1 RNA påvist, mindre end 738 HIV-1 RNA cp/ml" for PSC .
		< 738 cp/ml (PSC)	
		≥ 2,00E+01 cp/ml og ≤ 1,00E+07 cp/ml (plasma)	Beregnete resultater, der er større end eller lig med 20 cp/ml og mindre end eller lig med 1,00E+07 cp/ml, er inden for det lineære interval for den analyse, der er brugt med plasma.
		≥ 738 cp/ml og ≤ 1,00E+07 cp/ml (PSC)	Beregnete resultater, der er større end eller lig med 738 cp/ml og mindre end eller lig med 1,00E+07 cp/ml, er inden for det lineære interval for den analyse, der er brugt med PSC et.
		> 1,00E+07 cp/ml (plasma og PSC)	De beregnede kopier/ml er over analyseintervallet. Resultaterne skal rapporteres som "flere end 1,00E+07 HIV-1 RNA cp/ml". Hvis der ønskes kvantitative resultater, skal den oprindelige prøve fortyndes 1:100 med HIV-1-negativt humant EDTA-plasma, og testen gentages. Multiplicér det rapporterede resultat med fortyndingsfaktoren.
Internationale enheder/ml		< 3,34E+01 IE/ml (plasma)	De beregnede IE/ml er under detektionsgrænsen for analysen. Resultaterne rapporteres som "HIV-1 RNA påvist, mindre end 33,4 HIV-1 RNA IE/ml" for plasma.
		≥ 3,34E+01 IE/ml og ≤ 1,67E+07 IE/ml (plasma)	Beregnete resultater, der er større end eller lig med 33,4 IE/ml og mindre end eller lig med 1,67E+07 IE/ml, er inden for det lineære interval for den analyse, der er brugt med plasma.
		> 1,67E+07 IE/ml (plasma)	De beregnede IE/ml er over analyseintervallet. Resultaterne skal rapporteres som "større end 1,67E+07 HIV-1 RNA IE/ml". Hvis der ønskes kvantitative resultater, skal den oprindelige prøve fortyndes 1:100 med HIV-1-negativt humant EDTA-plasma, og testen gentages. Multiplicér det rapporterede resultat med fortyndingsfaktoren.

Bemærk: *Prøver, der er over analyseintervallet, som frembringer et invaliddt resultat med markeringen "QS_INVALID" må ikke rapporteres som >1,00E+07 cp/ml eller 1,67E+07 IE/ml. Den oprindelige prøve skal fortyndes i forholdet 1:100 med HIV-1-negativt humant EDTA-plasma, og testen gentages. Multiplicér det rapporterede resultat med fortyndingsfaktoren.*

Bemærk! *Titerresultat "Failed". Fortolkning: Proven er ikke behandlet korrekt under prøveforberedelsen i COBAS® AmpliPrep-instrumentet.*

Bemærk! Titerresultat "Invalid". Fortolkning: Et invalidd resultat.

KVALITETSKONTROL

Der skal inkluderes én **CTM (-) C**, én **HIV-1 L(+)C, v2.0** og én **HIV-1 H(+)C, v2.0** i hver testbatch. Batchen er valid, hvis der ikke vises markeringer for kontrollerne **[HIV-1 L(+)C, v2.0, HIV-1 H(+)C, v2.0 og CTM (-) C]**.

Kontroller batchudskriften for markeringer og kommentarer for at sikre, at batchen er valid.

Negativ kontrol

CTM (-) C skal give resultatet "Target Not Detected" (Target er ikke påvist). Hvis **CTM (-) C** markeres som invalid, er hele batchen invalid. Gentag hele testproceduren (prøve- og kontrolforberedelse, amplifikation og detektion). Hvis **CTM (-) C** konstant er invalid i flere batches, skal Roche kontaktes for at få teknisk hjælp.

Positive kontroller

Det tildelte titerinterval for kontrollerne **HIV-1 L(+)C v2.0** og **HIV-1 H(+)C v2.0** er specifikt for hvert reagenslot og er angivet på barkoderne på reagenskassetterne til COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0.

HIV-1 RNA cp/ml-værdierne for **HIV-1 L(+)C v2.0** og **HIV-1 H(+)C v2.0** skal ligge inden for de tildelte intervaller. Hvis én eller flere af de positive kontroller markeres som invalide, er hele batchen invalid. Gentag hele testproceduren (prøve- og kontrolforberedelse, amplifikation og detektion). Hvis HIV-1 RNA-titeren for én af eller begge de positive kontroller konstant er uden for intervallerne i flere batches, skal Roche kontaktes for at få teknisk hjælp.

FORHOLDSREGLER VED PROCEDURERNE

Som ved alle testprocedurer er det vigtigt med god laboratorieteknik, for at analysen skal kunne fungere korrekt.

BEGRÆNSNINGER VED PROCEDURERNE

1. Denne test er kun valideret til brug med humant plasma, der er indsamlet i det antikoagulerende middel EDTA. Test af andre prøvetyper kan medføre unøjagtige resultater.
2. Performance for COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0 er hverken blevet evalueret med prøver, der indeholdt HIV-1-gruppe N, eller prøver, der indeholdt HIV-2.
3. Pålidelige resultater er afhængige af korrekte procedurer for prøvetagning, transport, opbevaring og behandling.
4. Tilstedeværelsen af AmpErase-enzym i COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0 Master Mix reducerer risikoen for amplikon-kontaminering. Kontaminering fra HIV-1-positive kontroller og kliniske prøver kan dog kun undgås med god laboratoriepraksis og nøje overholdelse af de procedurer, der er angivet i dette pakningsindlæg.
5. Dette produkt må kun anvendes af personer, der er oplært i brugen af PCR-teknikker.
6. Dette produkt må kun anvendes med COBAS® AmpliPrep-instrumentet og COBAS® TaqMan®- eller COBAS® TaqMan® 48-analyseinstrumentet.
7. Selvom de er sjældne, kan mutationer i den bedst konserverede region i virusgenomet, som er dækket af COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0-primere og/eller -prober, medføre underkvantificering, eller at virus ikke detekteres.
8. Detektionen af HIV-1 RNA er afhængig af det antal viruspartikler, der findes i prøven, og kan påvirkes af prøvetagningsmetoder og patientfaktorer (dvs. alder, forekomst af symptomer og/eller infektionsstadiet). Mens den kliniske specificitet for testen er 99,3 % (95 % CI = 98,2 % til 99,8 %), har der været nogle lave falsk-positive resultater hos HIV-negative personer.
9. På grund af naturlige forskelle mellem teknologier anbefales det, at brugeren udfører metode-korrelationsundersøgelser i laboratoriet for at kvantificere teknologiske forskelle, før der skiftes fra en teknologi til en anden.

INTERFERERENDE STOFFER

Det er påvist, at høje koncentrationer af triglycerider (op til 3500 mg/dl), bilirubin (op til 28 mg/dl), albumin (op til 8900 mg/dl), hæmoglobin (op til 900 mg/dl) og humant DNA (op til 0,4 mg/dl) i prøver samt tilstedeværelsen af autoimmune sygdomme eller respektive markører som f.eks. systemisk lupus erythematosus (SLE), reumatoid arthritis (RA) og antinukleært antistof (ANA) ikke interfererer med kvantificeringen af HIV-1 RNA eller påvirker specificiteten for COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0. Evalueringen blev udført i overensstemmelse med CLSI-retningslinjen EP7-A2 med ét lot af COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0-reagenser.

Det er påvist, at følgende stofforbindelser, der blev testet 3 gange for det højeste plasmaniveau (C_{max}), ikke påvirker kvantificeringen af HIV-1 RNA eller specificiteten for COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0:

<u>HIV-lægemidler:</u>	
Proteasehæmmere Atazanavir Darunavir Fosamprenavir Lopinavir/Ritonavir Nelfinavirmesylat Ritonavir Saquinavir Tipranavir	Nukleosidanalog hæmmer af revers transkriptase Abacavirsulfat Didanosin, ddl Emtricitabin Lamivudin, 3TC Stavudin, 4dT Tenofovir DF Zidovudin
Integrasehæmmer Raltegravir	Ikke-nukleosid hæmmer af revers transkriptase Efavirenz Nevirapin
Entryhæmmer Maraviroc	Fusionshæmmere Enfuvirtid
<u>HBV- og/eller HCV-lægemidler:</u>	
Nukleotidanaloge Adefovir dipivoxil	Nukleosidanaloge Entecavir Telbivudin
Immunmodulator Peginterferon α-2a Peginterferon α-2b Ribavirin	
<u>Forbindelser til behandling af herpesvira:</u>	
Nukleotidanaloge Acyclovir	Nukleotidderivat Ganciclovir Valganciclovir HCl

EVALUERING AF IKKE-KLINISK PERFORMANCE

Vigtige egenskaber for performance for EDTA-plasmaprøver

A. Detektionsgrænse

Detektionsgrænsen for COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0 blev bestemt ved test iht. 2nd International HIV-1 RNA WHO Standard, NIBSC-kode 97/650⁴² for HIV-1 undertype B, fortyndet i HIV-1-negativt humant EDTA-plasma. Detektionsgrænsen blev bestemt for tre reagenslotnumre. Der blev analyseret tre fortyndingsserier for hvert reagenslotnummer. Der blev i alt testet ca. 126 bestemmelser pr. koncentrationsniveau. Evalueringen blev udført i henhold til CLSI-retningslinjen EP17-A.

Koncentrationen af HIV-1 RNA, som kan registreres med en positivitetsprocent, der er større end 95 %, bestemt ved PROBIT-analysen, er 20 cp/ml eller 33 IE/ml. Resultaterne for de enkelte lotnumre var 17,7 cp/ml (95 %-konfidensinterval: 13,7-26,9 cp/ml) for lotnummer 1, 17,0 cp/ml (95 %-konfidensinterval: 14,0-22,6 cp/ml) for lotnummer 2 og 14,2 cp/ml (95 %-konfidensinterval: 11,2-22,1 cp/ml) for lotnummer 3. De kombinerede resultater for alle tre reagenslot vises i Tabel 3. **Omregningsfaktoren mellem IE/ml og cp/ml blev bestemt ved hjælp af COBAS® AMPLICOR® HIV-1 MONITOR Test, v1.5, COBAS® AmpliPrep/COBAS® AMPLICOR® HIV-1 MONITOR Test, v1.5 og COBAS® TaqMan® HIV-1 Test til brug med High Pure-systemet.**

Tabel 3
Detektionsgrænse for COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0

Nominelt input (HIV-1 RNA IE/ml)	Nominelt input (HIV-1 RNA- cp/ml)	Antal prøver	Antal positive	Positivitets- procent
100	60	126	126	100 %
67	40	186	185	99 %
50	30	126	125	99 %
33	20	126	124	98 %
25	15	59	53	90 %
17	10	126	108	86 %
8	5	125	66	53 %
0	0	126	0	0 %
PROBIT 95 % hit rate		27,5 IE/ml (95 %-konfidensinterval: 23,8-33,0 IE/ml) 16,5 cp/ml (95 %-konfidensinterval: 14,3-19,8 cp/ml)		

Derudover blev fortyninger af cellestruktursupernatanter, som repræsenterede HIV-1 gruppe M undertype A-H i HIV-1-negativt humant EDTA-plasma, analyseret med to reagenslotnumre. For hvert HIV-1-undertypeisolat blev der testet flere koncentrationsniveauer (nominelle titre mellem 10 og 75 cp/ml) i 24 replikater pr. reagenslotnummer. Tildelingen af de nominelle koncentrationer af cellekulturstammeopløsningerne blev udført ved at beregne gennemsnittet af titer fra COBAS® AMPLICOR® HIV-1 MONITOR Test, v1.5, VERSANT® HIV-1 RNA 3.0-analyseset (bdDNA) og Abbott RealTime HIV-1-analysen. Hit-rate-analysen viser en positivitetsfrekvens, der er større end 95 %, for alle undertyper ved 20 cp/ml eller derunder. De kombinerede resultater fra de to reagenslotnumre vises i Tabel 4.

Tabel 4
Kontrol af detektionsgrænse for COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0

Undertype	Isolatangivelse	Laveste koncentrationsniveau ≥ 95 % hit rate (cp/ml)
A	92UG029	10
A	4237A/98	20
B	92TH026	20
B	8E5/LAV	20
C	92BR025	20
C	3777A/97	11
D	92UG021	20
D	92UG035	11
CRF01_AE	92TH022	12
CRF01_AE	92TH009	14
F	93BR020	20
G	ARP173/RU570	13
H	HIV V1557	16

B. Præcision

Præcisionen af COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0 blev fastsat ved analyse af serielle fortyndinger af en HIV-1-cellekultursupernatantprøve (HIV-1 undertype B) i HIV-1-negativt humant EDTA-plasma. Tildelingen af titre for cellekultursupernatanten (stamkoncentration) blev udført med en metode, der sikrer sporbarhed til 1st International HIV-1 RNA WHO Standard, NIBSC-kode 97/656³⁶. Der blev analyseret tre reagenslotnumre, og der blev udført 15 kørsler pr. reagenslotnummer, som hver bestod af 6 fortyndingsniveauer og 3 replikater for hver koncentration. Hele proceduren for COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0 blev udført for hver prøve, herunder prøveforberedelse, amplifikation og detektion. Den angivne præcision repræsenterer derfor alle aspekter af testproceduren. Resultaterne for hvert reagenslot og det samlede resultat for de tre reagenslotnumre vises i Tabel 5.

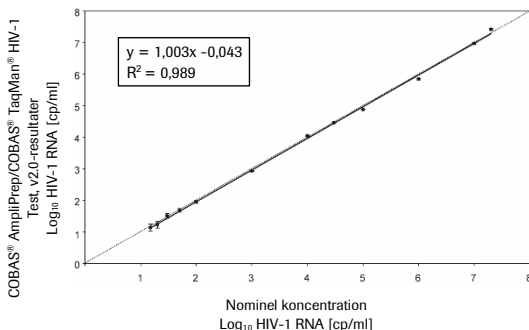
Tabel 5
Præcision af COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0

Titer (cp/ml)	Lot 1	Lot 2	Lot 3	Alle tre lots kombineret	
	Samlet SD i log	Samlet SD i log	Samlet SD i log	Samlet SD i log	Samlet lognormal CV (%)
1,0E+02	0,19	0,16	0,17	0,17	41
1,0E+03	0,07	0,09	0,07	0,08	20
1,0E+04	0,07	0,07	0,06	0,07	16
1,0E+05	0,04	0,05	0,07	0,06	15
1,0E+06	0,10	0,09	0,10	0,10	25
1,0E+07	0,11	0,12	0,14	0,13	33

C. Lineært interval

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0 resulterede i lineær respons fra 20 ($\log_{10} = 1,30$) HIV-1 RNA cp/ml til $1,0 \times 10^7$ ($\log_{10} = 7,00$) HIV-1 RNA cp/ml. Evalueringen blev udført i overensstemmelse med CLSI-retningslinjen EP6-A med to lotnumre af COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0-reagenser og serielle fortyndinger af en HIV-1 RNA (+)-cellekultursupernatantprøve med høj titer. Der blev analyseret to reagenslotnumre, og der blev udført 15 kørsler pr. reagenslotnummer, som hver bestod af 12 fortyndingsniveauer og 3 bestemmelser ved hver koncentration. Resultaterne fra ét reagenslotnummer er vist i Figur 18.

Figur 18
Linearitet for COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0



D. Inklusivitet for HIV-1 gruppe M

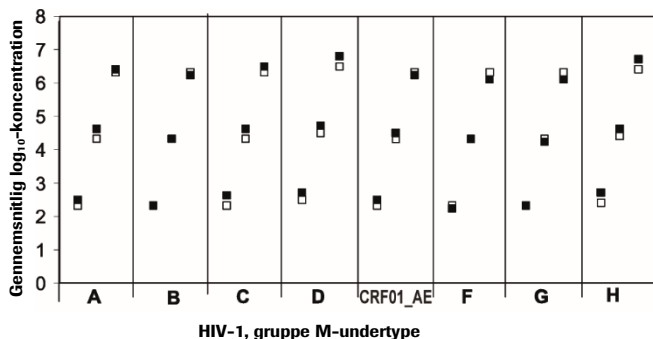
Der er blevet foreslået 8 undertypekategorier for HIV-1, gruppe M, baseret på nukleotiddivergens. Disse undertyper angives med store bogstaver fra A til H⁴¹.

Performance for COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0 på HIV-undertyper blev evalueret ved at analysere cellekulturstammemateriale, som repræsenterede hver HIV-1 gruppe-M-undertype A til H. Tildelingen af de nominelle koncentrationer af cellekulturstammematerialerne blev udført ved at beregne gennemsnittet af titre for COBAS® AMPLICOR® HIV-1 MONITOR Test, v1.5, VERSANT® HIV-1 RNA 3.0-analysetiter (bDNA) og Abbott RealTime HIV-1-analysen. Alt cellekulturstammemateriale blev fortyndet til nominelle koncentrationer på ca. $2,00 \times 10^2$, $2,00 \times 10^4$ og $2,00 \times 10^6$ cp/ml i EDTA-plasma. Koncentrationerne blev derefter testet i 10 bestemmelser med COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0 med brug af ét reagenslotnummer. Det gennemsnitlige $\log_{10}$ -titer for alle koncentrationer og undertyper blev sammenlignet med de respektive $\log_{10}$ -nominelle titre.

Evalueringen af de 8 HIV-1-undertypeisolater med COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0 udviser lignende resultater for alle testede repræsentanter for HIV-1 gruppe M-undertyper (se Figur 19). De gennemsnitlige $\log_{10}$ -koncentrationsresultater for alle undertyper lå inden for $\pm 0,3 \log_{10}$ for den tildelte inputkoncentration.

Figur 19
COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0

□ nominel koncentration ■ COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0

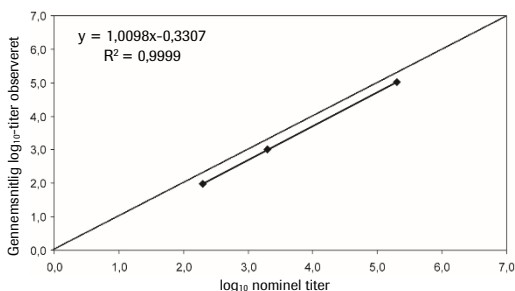


E. HIV-1, gruppe O-detektion

Fortyndinger af en HIV-1, gruppe O-cellekultursupernatant (isolat MVP5180) i humant EDTA-plasma blev analyseret med to reagenslotnumre. Flere koncentrationsniveauer (nominelle titre mellem 10 og 75 cp/ml) blev testet i 24 bestemmelser pr. reagenslotnummer. Tildeling af den nominelle koncentration til cellekulturstammaterialet blev udført med Abbott RealTime HIV-1-analysen. Hit-rate-analysen viser en positivitetsfrekvens, der er større end 95 % ved 20 cp/ml.

HIV-1, gruppe O-cellekulturstammematerialet blev fortyndet til nominelle koncentrationer på ca. 2,00E+02, 2,00E+03 og 2,00E+05 cp/ml i EDTA-plasma. Koncentrationerne blev derefter testet i 10 bestemmelser med COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0 med brug af ét reagenslotnummer. De gennemsnitlige log₁₀-titre for alle koncentrationer var lineære og inden for $\pm 0,3 \log_{10}$ for den respektive log₁₀-nominelle titer (se Figur 20).

Figur 20
COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0
Linearitetsundertype O (MVP5180)



Derudover blev 10 cellekulturmaterialer og én fortyndet patientprøve (11613), der repræsenterer HIV-1, gruppe O, testet parallelt i COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0 og i Abbott RealTime HIV-1-analysen. Alle 11 prøver viste sig at være positive med COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0 (se Tabel 6). Begge tests udviste en gennemsnitligt $\log_{10}$ -titer for de 11 prøver inden for 0,1 $\log_{10}$.

Tabel 6
Genkendelse af HIV-1 gruppe O-isolater
af COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0

Isolatangivelse	Log₁₀-titer COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0	Log₁₀-titer Abbott RealTime HIV-1-analyse
BBI PRD 301, BV-5050	3,09	2,42
BBI PRD 301, BV-5051	2,86	3,35
BBI PRD 301, BV-5003	3,00	2,71
BBI PRD 301, BV-5024	2,87	2,69
MVP5180	2,78	3,25
HIV-1 CA-9	3,31	3,08
BCF01	5,71	5,61
BCF02	5,16	5,39
BCF07	4,27	4,81
BCF011	5,57	5,26
11613	2,97	2,05
Gennemsnitlig log₁₀-titer	3,78	3,69

F. Specificitet

Specificiteten for COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test v2.0 blev bestemt med to reagensslot-numre ved at analysere HIV-1-negative EDTA-plasmaprøver fra bloddonorer. I alt viste 660 individuelle EDTA-plasmaprøver valide resultater, og de var alle negative for HIV-1 RNA i COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0. På baggrund af disse resultater er specificiteten i COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0 100 % (den ensidede nedre 95 %-konfidensgrænse: $\geq 99,6$ %).

G. Analytisk specificitet

Den analytiske specificitet for COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0 blev evalueret ved tilsætning af dyrkede organismer (vira, bakterier, gær) eller DNA (HTLV-2) ved $5E+04$ partikler/ml input-koncentration i HIV-1-negativt humant EDTA-plasma og i HIV-1-positivt EDTA-plasma ved $1,5E+02$ cp/ml HIV-1 (se Tabel 7).

Ingen af de testede organismer viste krydsreaktion med COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0. HIV-1-positive prøver gav titerresultater, som lå inden for $\pm 0,5 \log_{10}$ fra en HIV-1-positiv kontrol.

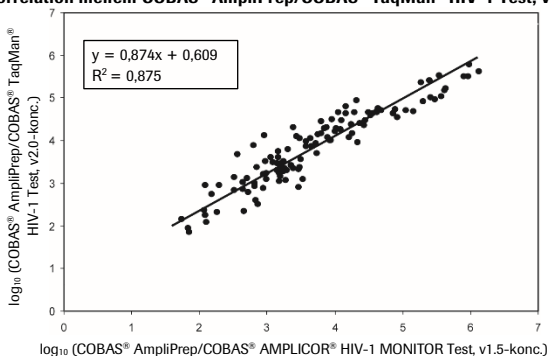
Tabel 7
Analytisk specificitet i prøver

Virus	Bakterier
<i>Adenovirus, type 5</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Cytomegalovirus</i>	<i>Propionibacterium acnes</i>
<i>Epstein Barr-virus</i>	
<i>Human herpesvirus, type 6</i>	
<i>Herpes simplexvirus, type 1</i>	
<i>Herpes simplexvirus, type 2</i>	
<i>Human T-celle lymfotrofisk virus, type 1</i>	Gær <i>Candida albicans</i>
<i>Human T-celle lymfotrofisk virus, type 2</i>	
<i>Influenza A</i>	
<i>Hepatitis A-virus</i>	
<i>Hepatitis B-virus</i>	
<i>Hepatitis C-virus</i>	

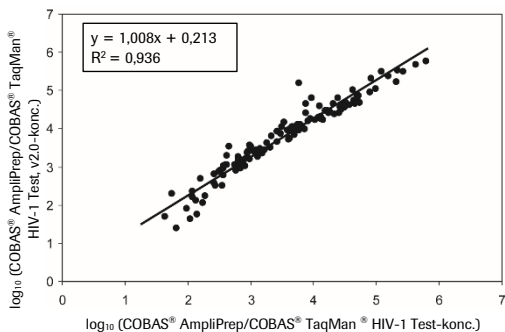
H. Metodekorrelation

Performance for COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0 blev sammenlignet med COBAS® AmpliPrep/COBAS® AMPLICOR® HIV-1 MONITOR Test, v1.5, med COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1-testen og med Abbott RealTime HIV-1-analysen ved hjælp af analyse af 92 senere indsamlede, ufortyndede HIV-1-positive kliniske prøver og ved analyse af 34 fortyndede cellekultursupernatanter. Prøverne omfattede HIV-1, gruppe M, undertyperne A til H, samt cirkulerende rekombinanter af virussern, og de blev analyseret på to eksterne laboratorier. I alt 126 prøver blev spredt over det dynamiske område i COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0 og testet med fire test. Kun valide titerpar inden for de lineære intervaller i de to sammenlignede analyser blev medtaget i Deming-regressionsanalysen (se Figur 21 til Figur 23).

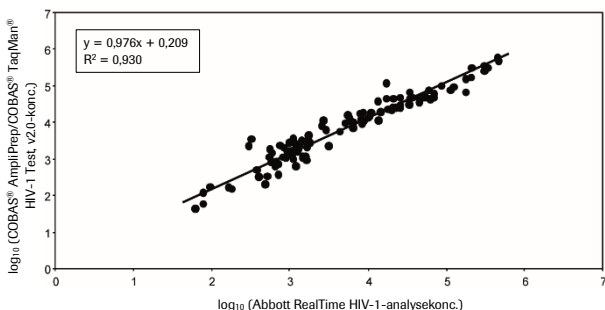
Figur 21
Korrelation mellem COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0



Figur 22
Korrelation mellem COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0



Figur 23
Korrelation mellem COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0



I. Generel systemfejlfrekvens

Systemfejlfrekvensen for to kitlot af COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2 blev bestemt ved at teste 113 replikater for lot 1 og 114 replikater for lot 2 af EDTA-plasma beriget med HIV-1 gruppe M-undertype B. Disse prøver blev testet ved en targetkoncentration på ca. 3 x LoD. De kombinerede resultater (lot 1 og 2) af denne undersøgelse viste, at ét replikat gav et negativt resultat for HIV-1-target, hvilket resulterede i en generel systemfejlfrekvens på 0,4 %.

Vigtige egenskaber for performance for tørrede PSC-plasmaspotprøver

A. Detektionsgrænsen for plasma ved brug af Plasma Separation Card

Detektionsgrænsen for plasma for COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0 kombineret med **PSC** blev bestemt ved analyse af plasmatitre tildelt til serielle fortyndinger af HIV-1 gruppe M-cellekultursupernatant i HIV-negativt humant fuldblod. Paneler med fem koncentrationsniveauer samt en negativ blev testet ved hjælp af tre lot **PSC'er** og tre lot COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test-reagenser med flere kørsler, dage, brugere og instrumenter. En del af panelmedlemmet med den højeste titer blev centrifugeret, og plasmaet fik titer tildelt med kalibratortrubriceringsmetoden (CBM) ved brug af **cobas**® HIV-1 (i **cobas**® 6800/8800 Systems) med 3rd HIV-1 WHO International Standard, HIV-1 gruppe M, undertype B til forberedelse af den høje og lave kalibrator.

Resultaterne for **PSC** er vist i Tabel 8. Undersøgelsen viste, at COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0 i kombination med **PSC**-detekterede HIV-1 RNA ved en koncentration på 737,9 cp/ml som bestemt med Probit med en hit rate på 95 %.

Tabel 8
Detektionsgrænse for COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0

HIV-1 gruppe M-tildelt plasmakonzentration (cp/ml)	Antal reaktive	Antal valide bestemmelser	% reaktive
1691,1	61	61	100 %
1098,1	51	51	100 %
2276,4	61	62	98,39 %
845,6	59	60	98,33 %
549,1	46	49	93,88 %
1138,2	59	60	98,33 %
563,7	54	60	90,00 %
366	49	53	92,45 %
758,8	56	61	91,80 %
281,9	46	62	74,19 %
183	36	49	73,47 %
379,4	50	62	80,65 %
140,9	38	63	60,32 %
91,5	22	54	40,74 %
189,7	37	63	58,73 %
0	0	63	0,00 %
0	0	54	0,00 %
0	0	59	0,00 %
PROBIT 95 % hit rate		737,9 cp/ml (95 % konfidensinterval: 614,3-938,5 cp/ml) 1230 IE/ml (1023,8-1564,2 IE/ml)	

Vurdering af LOD i fuldblod:

De tilsvarende titre i fuldblod af den samme prøve kan ikke bestemmes nøjagtigt, da fuldblod ikke er en prøvetype til test af virusbelastning. Fuldblodstitre baseret på mængden af HIV-1 RNA tilsat i fuldblodsprøverne blev ikke brugt til vurdering af LoD, da mængden af tilsat RNA ikke nødvendigvis svarer til mængden af RNA i plasma. Selv efter centrifugering kan der være RNA tilbage i bufferkappen eller forbundet med den cellulære fraktion af fuldblod. Da andre teknologier, som f.eks. tørrede blodspots, har brugt tilsætning af fuldblodstitre til at vurdere deres detektionsgrænse i fuldblod, kan der dog gives et estimat af detektionsgrænsen for **PSC**-fuldblod på baggrund af en empirisk faktor, der antages at være relateret til det gennemsnitlige hæmatokritindhold (45 %) af prøverne (Tabel 9).

Fuldblods-LoD-værdierne er estimater baseret på følgende antagelse:

Estimat af fuldblods-LoD = **PSC**-plasma-LoD/1,8

Tabel 9
Estimat af fuldblods-LoD

LoD med PROBIT-analyse (95 % hit rate)	439,0 cp/ml
95 %-konfidensinterval	366,1-557,6 cp/ml

B. Præcision ved brug af Plasma Separation Card

Præcisionen af COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0 i kombination med **PSC** blev bestemt ved en analyse af serielle fortyndinger af en høj HIV-1-positiv prøve (høj titer HIV-1 RNA-positiv cellekultursupernatantprøve) i HIV-negativt EDTA-fuldblod. Fem fortyndingsniveauer blev testet i 48 replikater for hvert niveau og behandlingsvolumen på tværs af to lot **PSC** og to reagenslot af COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0 ved brug af to CAP/CTM-systemer og to brugere over 12 dage. Hver prøve blev kørt igennem hele **PSC**-arbejdsgangen og proceduren i COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0. De præcisionsresultater, der er angivet her, repræsenterer alle aspekter af testproceduren. Resultaterne vises i Tabel 10.

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0 i kombination med **PSC** viste høj præcision for de to lot **PSC** og reagenser, der blev testet på tværs af et koncentrationsområde på 7,38+02 cp/ml til 1,00E+07 cp/ml.

Tabel 10
Præcision i laboratoriet for COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0 i kombination med PSC'et

Målt koncentration (cp/ml)	Kildemateriale	Poollet SD
6,31E+06	Cellekultur	0,08
1,05E+06	Cellekultur	0,09
1,02E+05	Cellekultur	0,12
1,05E+04	Cellekultur	0,19
2,29E+03	Cellekultur	0,25

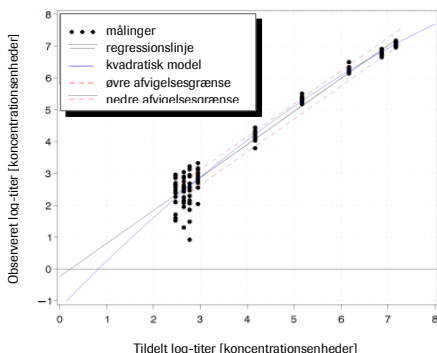
C. Lineært område ved brug af Plasma Separation Card

Linearitetsundersøgelsen af COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0 i kombination med **PSC** blev udført med en fortyndingsserie bestående af 9 panelmedlemmer, der spændte over det lineære interval for den mest udbredte HIV-1 gruppe M-undertype B. Panelmedlemmer blev forberedt fra en høj titer HIV-1 RNA-positiv cellekultursupernatantprøve. Evalueringen blev udført i henhold til CLSI-retningslinjen EP06-A²⁰. To **PSC**- og to reagenslot blev analyseret på to CAP/CTM-systemer, tre brugere og i alt 20 replikater pr. koncentrationsniveau.

En del af et panelmedlem blev centrifugeret, og plasmaet fik titer tildelt med kalibratorrubricerings-metoden (CBM) ved brug af **cobas**® HIV-1 (i **cobas**® 6800/8800 Systems) med 3rd HIV-1 WHO International Standard, HIV-1 gruppe M, undertype B til forberedelse af den høje og lave kalibrator.

I kombination med **PSC'et** er COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0 lineær fra 7,38+02 cp/ml til 1,00E+07 cp/ml og viser en absolut afvigelse fra den mere passende ikke-lineære regression på mindre end $\pm 0,16 \log_{10}$ med **PSC'et** (se Figur 24). På tværs af det lineære område var testens nøjagtighed inden for $\pm 0,3 \log_{10}$.

Figur 24
Linearitet for COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0
i kombination med Plasma Separation Card



D. Bekræftelse af undertype ved brug af Plasma Separation Card

Selvom HIV-undertypen ikke burde påvirke performance for **PSC**, blev dyrkede HIV-1-prøver for almindelige HIV-1M-undertyper (A, C og D) fortyndet til ét koncentrationsniveau i fuldblod. Bestemmelsen af præcisionen og nøjagtigheden blev foretaget med 12 bestemmelser for hver prøve. Testen blev udført med 1 lot **PSC** og 1 lot COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0-reagenser.

Hver fuldblodsprøve blev centrifugeret, og plasmaet fik titer tildelt med kalibrorrubriceringsmetoden (CBM) ved brug af **cobas®** HIV-1 (i **cobas®** 6800/8800 Systems) med 3rd HIV-1 WHO International Standard, HIV-1 gruppe M, undertype B til forberedelse af den høje og lave kalibrator.

Resultaterne vises i Tabel 11. Disse resultater bekræfter, at COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0 i kombination med **PSC** detekterede HIV for HIV-1M (A, C og D).

Tabel 11
Bekræftelse af HIV-1 gruppe M-undertyperne A, C og D

Undertype HIV-1 M	Antal valide bestemmelser	Nøjagtighed	Præcision	Plasma vs. PSC-plasma Ækvivalens
Undertype A	12	-0,02	0,09	0,17
Undertype C	12	0,13	0,16	0,06
Undertype D	12	0,07	0,15	0,05

E. Specificitet ved brug af Plasma Separation Card

Specificiteten i COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0 i kombination med **PSC** blev bestemt ved at analysere HIV-negative EDTA-fuldblodsprøver fra individuelle donorer. 160 individuelle EDTA-fuldblodsprøver blev testet med to lot **PSC** og to lot COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0-reagenser. Én prøve blev testet positiv og 159 negative for HIV-1 RNA. I testpanelet var specificiteten for COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0 i kombination med **PSC** 99,4 % (95 %-konfidensgrænse: $\geq 97,07$ %).

F. Systemfejlfrekvens ved brug af Plasma Separation Card

Systemfejlfrekvensen for COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0 i kombination med PSC blev bestemt ved at teste 100 replikater af EDTA-fuldblod tilsat HIV-1 gruppe M-undertype B. Disse prøver blev testet ved en targetkoncentration på ca. 3 x LoD. Resultaterne af denne undersøgelse viste, at ingen replikater gav et negativt resultat for HIV-1-target, hvilket medførte en generel systemfejlfrekvens på 0 %.

EVALUERING AF KLINISK PERFORMANCE

Vigtige egenskaber for performance for EDTA-plasmaprøver

Reproducerbarhed

Reproducerbarheden for COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0 Test blev evalueret i EDTA-plasma ved hjælp af 2 forskellige arbejdsgange (COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan®-analyseinstrumentsystemet og COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® 48-analyseinstrumentsystemet). Undersøgelsen blev udført ved hjælp af paneler, der er konstrueret ud fra en veldefineret HIV-1-gruppe M, undertype B-dyrket virusstamme og fra EDTA-plasma, der var negativ for HIV-1 RNA- og HIV-1/2-antistoffer. Panelet dækkede det dynamiske område for COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1-tast, v2.0 samt vigtige medicinske beslutningspunkter for den tilsigtede brug og underbygget af 2008 Department of Health and Human Services Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in HIV-1-Infected Adults and Adolescents¹³. Undersøgelsen blev udviklet til at evaluere vigtige variabler, der bidrager til den samlede præcisionsvariation, herunder lot, laboratorium/instrument, bruger, dag/kørsel og intraseriel kørsel. Der blev udført en yderligere analyse for at sammenligne egenskaber for performance og sammenlignelig præcisionsvariabilitet mellem de to arbejdsgange. To brugere på hvert af de 3 laboratorier udførte test over 5 dage på hvert af 3 reagenskitlot ved hjælp af hver arbejdsgang. Hver kørsel bestod af ét sæt kontroller (1 høj positiv, 1 lav positiv og 1 negativ) og et panel med 7-medlemmer blev testet i tredobbel bestemmelse (21 prøver) i COBAS® AmpliPrep-instrumentet. De klargjorte prøver og kontroller blev amplificeret og registreret på COBAS® TaqMan®-analyseinstrumentet eller på COBAS® TaqMan® 48-analyseinstrumentet.

Reproducerbarheden blev evalueret ved hjælp af en "random effects"-model med begreber for (a) lot, (b) laboratorium/instrument, (c) bruger som en del af laboratoriet/instrumentet, (d) dag/kørsel som en del af lot, laboratorium/instrument og bruger; og (e) intraserielle kørselskomponenter for afmålte mængder ved hjælp af PROC MIXED og log₁₀-overførte resultater. Variationsprocentdelen som følge af hver komponent og variationskoefficientværdien for log₁₀-overført HIV-1 RNA-koncentration blev beregnet. Kun data inden for analyseområdet (2,00E+01 til 1,00E+07 cp/ml) blev undersøgt.

Tabel 12 viser den samlede præcisionsvariation og samlede præcisionsstandardafvigelse opnået med COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan®-analyseinstrumentsystemet som bestemt ved analyse af variation. Den intraserielle kørselskomponent bidrog generelt med mere variation end andre komponenter.

Tabel 12

Tildelt total variationsprocent, samlet præcisionsstandardafvigelse og lognormal CV for HIV-1 RNA-koncentration ($\log_{10}$ cp/ml) fra test inden for analyseområdet

HIV-1 RNA-koncentration ($\log_{10}$ cp/ml)			Bidrag til samlet variation (%)					Samlet præcision
Forventet	Observeret (gennem-snit)	Antal valide test ¹	Lot	Lokalitet/ instrument	Bruger	Dag/ kørsel	Intra-seriel kørsel	Standard-afvigelse (lognormal % CV)
1,699	1,832	270	5 %	2 %	0 %	8 %	85 %	0,20 (48 %)
2,602	2,676	275	6 %	1 %	0 %	17 %	77 %	0,11 (25 %)
3,000	3,067	274	16 %	0 %	4 %	12 %	69 %	0,10 (24 %)
3,699	3,822	273	20 %	6 %	0 %	17 %	57 %	0,10 (23 %)
4,699	4,746	273	27 %	0 %	0 %	14 %	59 %	0,07 (17 %)
5,699	5,644	274	33 %	10 %	0 %	19 %	38 %	0,10 (23 %)
6,699	6,751	259	27 %	14 %	0 %	20 %	39 %	0,12 (27 %)

Bemærk! Resultater inden for analyseområdet går fra 20 cp/ml til 1,00E+07 cp/ml (1,30 $\log_{10}$ cp/ml til 7,00 $\log_{10}$ cp/ml), inklusivt.

¹ Antal test inden for analyseområdet.

Resultater opnået med COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® 48-systemets arbejdsdagang er opsummeret i Tabel 13. Generelt bidrog den intraserielle komponent med mere variation end andre komponenter med undtagelse af panelmedlemmet med den højeste titer.

Tabel 13

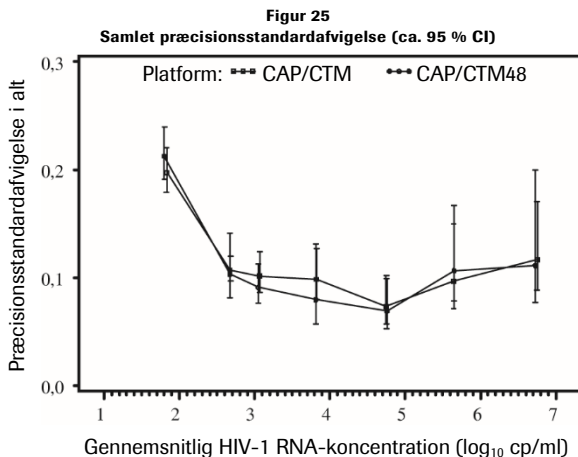
Tildelt total variationsprocent, samlet præcisionsstandardafvigelse og lognormal CV for HIV-1 RNA-koncentration ($\log_{10}$ cp/ml) fra test inden for analyseområdet

HIV-1 RNA-koncentration ($\log_{10}$ cp/ml)			Bidrag til samlet variation (%)					Samlet præcision
Forventet	Observeret (gennem-snit)	Antal valide test ¹	Lot	Lokalitet/ instrument	Bruger	Dag/ kørsel	Intra-seriel kørsel	Standard-afvigelse (lognormal % CV)
1,699	1,804	266	7 %	2 %	0 %	2 %	89 %	0,21 (52 %)
2,602	2,672	273	26 %	0 %	2 %	5 %	68 %	0,10 (24 %)
3,000	3,048	272	17 %	0 %	0 %	6 %	77 %	0,09 (21 %)
3,699	3,814	271	39 %	0 %	2 %	13 %	46 %	0,08 (19 %)
4,699	4,756	272	30 %	0 %	0 %	10 %	61 %	0,07 (16 %)
5,699	5,647	272	35 %	0 %	6 %	16 %	43 %	0,11 (25 %)
6,699	6,727	269	45 %	0 %	4 %	13 %	38 %	0,11 (26 %)

Bemærk! Resultater inden for analyseområdet går fra 20 cp/ml til 1,00E+07 cp/ml (1,30 $\log_{10}$ cp/ml til 7,00 $\log_{10}$ cp/ml), inklusivt.

¹ Antal test inden for analyseområdet.

De resultater, der vises i Figur 25, angiver kurven for den samlede præcisionsstandardafvigelse med tilsvarende omtrentlige 95 % konfidensintervaller mod gennemsnitlige $\log_{10}$ HIV-1 RNA-koncentrationer. Disse resultater indikerer en sammenlignelig præcision mellem systemkonfigurationerne for COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® (CAP/CTM) og COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® 48 (CAP/CTM48).



Bemærk! De omtrentlige 95 % CI for den samlede præcisionsstandardafvigelse blev beregnet ved at tage kvadratroden af de 95 % CI-grænser for den samlede præcisionsvariation.

Klinisk sensitivitet, specificitet og metodesammenligning

Metode

Det primære formål med denne undersøgelse var at evaluere den kliniske specificitet og sensitivitet for COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0 i prøver fra HIV-negative og HIV-1-positive personer. Både friske (aldrig frosset) og frosne EDTA-plasmaprøver blev testet i hver evaluering. Det sekundære formål var at sammenligne resultater og evaluere den positive procentoverensstemmelse og negative procentoverensstemmelse mellem COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0-resultater og resultater opnået med FDA-godkendte test, COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test HIV-1 Test og COBAS® AMPLICOR HIV-1 MONITOR Test, v1.5.

Den kliniske specificitet blev evalueret med COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0 ved at teste 148 friske (aldrig frosset) prøver og 418 frosne prøver fra bloddonorer, som var negative for HIV-1/2-antistoffer. Den kliniske sensitivitet i testen blev evalueret med COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0 ved at teste 117 friske prøver og 301 frosne prøver i EDTA-plasma indsamlet fra HIV-1-inficerede personer (frosne prøver blev fordelt tilfældigt blandt testlaboratorier efter CD4-celletalskategori). Testresultater fra COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0 blev sammenlignet med dem, der blev indsamlet med COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test og COBAS® AMPLICOR HIV-1 MONITOR Test, v1.5. Testen blev udført i 3 testlaboratorier med 1 COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan®-system pr. laboratorium. Der blev anvendt tre COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0-reagenslot.

Statistiske metoder

Friske og frosne prøver fra HIV-negative og HIV-1-positive personer blev testet med COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0, COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test og COBAS® AMPLICOR® HIV-1 MONITOR Test, v1.5. HIV-negative forsøgspersoner var evaluerbare for statistiske analyser af specificiteten for COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0, hvis de genererede valide COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0-resultater. HIV-1-positive personer var evaluerbare for statistiske analyser af sensitiviteten for COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0, hvis de genererede valide COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0-resultater og havde valide COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test-resultater inden for det lineære interval for analysen.

Den kliniske specificitet for COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0 blev beregnet som procentdelen af evaluerbare HIV-negative forsøgspersoner, som havde resultaterne "Target Not Detected" (Target ikke detekteret) med COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0. Det tilknyttede eksakte 95 % konfidensinterval (CI) fremgik også. Den kliniske sensitivitet for COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0 blev beregnet som procentdelen af evaluerbare HIV-1-positive forsøgspersoner, som havde påviselig HIV-1-virusbelastning ved COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0. Det tilknyttede eksakte 95 % konfidensinterval (CI) fremgik også. Metodesammenligningen evaluerede COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0-resultaterne særskilt med begge sammenlignelige platforme (COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test og COBAS® AMPLICOR® HIV-1 MONITOR Test, v1.5). De positive og negative procentoverensstemmelser blev beregnet mellem COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0 og hver sammenlignelig platform. Sammensatte prøver fra HIV-1-positive forsøgspersoner, der bidrager med resultater inden for et lineært interval for både COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0 og COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, blev sammenlignet ved hjælp af punktdiagrammer og analyseret ved hjælp af Deming-regression.

Resultater

I alt 566 evaluerbare HIV-negative og 418 HIV-1-positive patientprøver blev inkluderet i analyser af klinisk specificitet og sensitivitet. Ca. 75 % af patientprøverne var frosne og 25 % var friske. Der kan ses en oversigt over den specifikke fordeling for hver platform i Tabel 14.

Tabel 14
Evaluerbare HIV-1-negative og -positive forsøgspersoner efter prøvetype

Prøvetype	HIV-negative prøver	HIV-1-positive prøver
Friske	148 (26,1 %)	117 (28,0 %)
Frosne	418 (73,9 %)	301 (72,0 %)
I alt	566	418

Der kan ses en oversigt over de demografiske karakteristika for 418 evaluerbare HIV-1-positive prøver i Tabel 15. CD4-celletallet for forsøgspersonerne var omtrent jævnt fordelt på tværs af CD4-celletalskategorierne (< 200, 200-500, > 500 celler/ μ l). De fleste forsøgspersoner var mænd (74,2 %) og mellem 30 til 49 år gamle (72,5 %). Den etniske fordeling er sammenlignelig med den, der er observeret hos HIV-1-populationen i USA³².

Tabel 15
Demografiske karakteristika for evaluerbare HIV-1-positive forsøgspersoner

Demografiske karakteristika	Kategori	HIV-1-positive forsøgspersoner
Samlet	I alt	418
CD4-celletal (celler/μl)	< 200	130 (31,1 %)
	200-500	152 (36,4 %)
	> 500	136 (32,5 %)
Prøvetype	Friske	117 (28,0 %)
	Frosne	301 (72,0 %)
Køn	Mænd	310 (74,2 %)
	Kvinder	108 (25,8 %)
Alder (år)	18-29	23 (5,5 %)
	30-39	100 (23,9 %)
	40-49	203 (48,6 %)
	50-59	74 (17,7 %)
	$\geq$ 60	18 (4,3 %)
Etnicitet	Kaukasisk	129 (30,9 %)
	Latinamerikansk	46 (11,0 %)
	Afrikansk afstamning	223 (53,3 %)
	Afstamning som asiatisk/fra stillehavsøerne	3 (0,7 %)
	Andet	17 (4,1 %)
På antiretroviral medicin	Yes	240 (57,4 %)
	No	178 (42,6 %)

Den kliniske specificitet for COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0 (Tabel 16) var 99,3 % (562/566; 95 % CI = 98,2 % til 99,8 %), med 4 prøver, der blev klassificeret som falsk-positive. Tre af disse prøver blev rapporteret som < 20 cp/ml, under den lave kvantificeringsgrænse (LLOQ) for analysen. Den resterende ene prøve ud af de 566 testede prøver var inden for det lineære interval men med en meget lav titer (28,8 cp/ml). Den kliniske specificitet for COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0 var ensartet for både friske prøver (99,3 % [147/148; 95 % CI = 96,3 % til 100 %]) og frosne prøver (99,3 % [415/418; 95 % CI = 97,9 % til 99,9 %]).

Tabel 16
Klinisk specificitet for COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0

Forsøgspersons-gruppe	CAP/CTM HIV-1 Test, v2.0		Samlet N	Klinisk specificitet (eksakt 95 % konfidensinterval (CI))
	Positiv	Negativ		
HIV-negativ	4 (0,7 %)	562 (99,3 %)	566	99,3 % (98,2 %, 99,8 %)

Den kliniske sensitivitet for COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0 blev defineret som procentdelen af evaluerbare HIV-1-positive forsøgspersoner med et positivt COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0-resultat og er opsummeret i Tabel 17. Den kliniske sensitivitet for COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0 var 100 % (418/418; 95 % CI = 99,1 % til 100 %). Der var ingen forsøgspersoner med falsk-negative COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0-resultater. Den kliniske sensitivitet blev testet på en HIV-patient-population, der afspejlede den amerikanske, hvad angår køn, alder, etnicitet og udsættelse for antiretroviral behandling²⁹. Testen viste, at der var 100 % klinisk sensitivitet uafhængigt af de ovenstående demografiske oplysninger, CD4-celletal eller prøvetypen (frisk ift. frosnen).

Tabel 17
Klinisk sensitivitet for COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0

Forsøgspersons-gruppe	CAP/CTM HIV-1 Test, v2.0		Samlet N	Klinisk sensitivitet (eksakt 95 % konfidensinterval (CI))
	Positiv	Negativ		
HIV-1-positiv	418 (100,0 %)	0 (0,0 %)	418	100,0 % (99,1 %, 100,0 %)

Sammenligning af kliniske metoder

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0 over for COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test

Sammenligningen af COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0- og COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test-resultaterne for de 950 forsøgspersoner, der er egnede til analysen, er opsummeret i Tabel 18. Den positive procentoverensstemmelse for COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0 ift. COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test var 99,5 % (427/429; 95 % CI = 98,3 % til 99,9 %). Den negative procentoverensstemmelse for COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0 ift. COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test var 98,1 % (511/521; 95 % CI = 96,5 % til 99,1 %). Der var 10 prøver med positive COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0-resultater og negative COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test-resultater. Tre prøver havde titre under LLoQ for COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, hvilket højest sandsynligt afspejler den øgede sensitivitet for COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0. Der var tre falsk-positive COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test v2.0-resultater ud af de

HIV-negative forsøgspersoner, der blev identificeret ved analysen af den kliniske specificitet, der igen var under LLoQ. Fire prøver havde titre fra 24,9 cp/ml til 158 cp/ml og afspejler sandsynligvis den kendte variation, der er associeret med lav titer-kvantificering.

Tabel 18
Sammenligning af COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0
over for COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test

CAP/CTM HIV-1 Test, v2.0	CAP/CTM HIV-1 Test		I alt
	Positiv	Negativ	
Positiv	427	10	437
Negativ	2	511	513
I alt	429	521	950
Positiv procentoverensstemmelse (eksakt 95 % konfidensinterval (CI))	99,5 % (98,3 %, 99,9 %)		
Negativ procentoverensstemmelse (eksakt 95 % konfidensinterval (CI))		98,1 % (96,5 %, 99,1 %)	

CI = konfidensinterval; CAP/CTM HIV-1 Test = COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test; CAP/CTM HIV-1 Test, v2.0 = COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0.

Bemærk! HIV-negative og HIV-1-positive forsøgspersoner, der bidrager med både valide CAP/CTM HIV-1 Test, v2.0- og CAP/CTM HIV-1 Test-resultater, blev medtaget i denne oversigtstabel.

I alt 417 parrede HIV-1-positive prøver havde resultater inden for det lineære interval for begge analyser og var evaluerbare for analysen til sammenligning af metoder. Tabel 19 viser den gennemsnitlige parrede forskel og 95 % CI for bias mellem COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0 og COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test. COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0 returnerer højere titre end COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, undtagen ved både det høje interval ($> 5 \log_{10}$ cp/ml) og det lave interval ($< 2 \log_{10}$ cp/ml), hvor den returnerer titre, der er lavere (se Tabel 19). Den samlede systematiske bias er estimeret til $0,2591 \log_{10}$ cp/ml.

Tabel 19
Gennemsnitlig parret forskel og 95 % CI for bias mellem
COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0 og
COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test

Antallet af parrede HIV-1-positive prøver inden for det lineære interval for begge analyser = 417		
Gennemsnitlig forskel ($\log_{10}$ cp/ml)	Standardfejl	95 % CI
0,2591	0,0122	(0,235, 0,283)

CI = konfidensinterval; CAP/CTM HIV-1 Test = COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test; CAP/CTM HIV-1 Test, v2.0 = COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0.

Bemærk! HIV-1-positive forsøgspersoner, der bidrager med både valide CAP/CTM HIV-1 Test- og CAP/CTM HIV-1 Test, v2.0-resultater inden for det lineære interval for hver analyse, blev medtaget i denne oversigtstabel.

Resultaterne af Deming-regressionsanalysen mellem COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0- og COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test-resultaterne for parrede HIV-1-positive prøver inden for det lineære interval for begge analyser er vist i Tabel 20 samt grafisk fremstillet i Figur 26 (i denne figur angiver den stiplede linje den perfekte overensstemmelse mellem de to testmetoder, dvs. $y = x$).

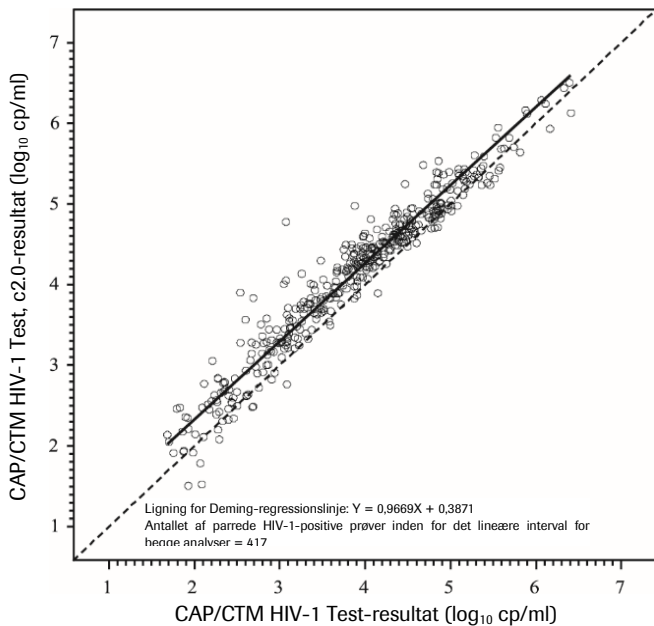
Tabel 20
Parameterestimer fra Deming-regressionsanalysen mellem
COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0 og
COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test

Antallet af parrede HIV-1-positive prøver inden for det lineære interval for begge analyser = 417				
Parameter	Parameterestimat $\log_{10}$ cp/ml	Standardfejl	95 % CI	r^2
Skæringspunkt	0,3871	0,0488	(0,291, 0,483)	0,9375
Hældning	0,9669	0,0122	(0,943, 0,991)	

CI = konfidensinterval; CAP/CTM HIV-1 Test = COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test; CAP/CTM HIV-1 Test, v2.0 = COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0.

Bemærk! HIV-1-positive forsøgspersoner, der bidrager med både valide CAP/CTM HIV-1 Test- og CAP/CTM HIV-1 Test, v2.0-resultater inden for det lineære interval for hver analyse, blev medtaget i denne oversigtstabel.

Figur 26
Deming-regressionsanalyse mellem COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0 og COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test



COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0 over for COBAS® AMPLICOR® HIV-1 MONITOR Test, v1.5

Tabel 21 viser sammenligningen af COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0- og CA HIV-1 MONITOR Test, v1.5-resultater for 991 forsøgspersoner, der er egnede til analysen. Den positive procentoverensstemmelse for COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0 ift. COBAS® AMPLICOR® (CA) HIV-1 MONITOR Test, v1.5 var 100 % (419/419; 95 % CI = 99,1 % til 100 %). Den negative procentoverensstemmelse for COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0 ift. COBAS® AMPLICOR® HIV-1 MONITOR Test, v1.5 var 97,4 % (557/572; 95 % CI = 95,7 % til 98,5 %). Af de 15 forsøgspersoner med positive COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test v2.0-resultater og negative COBAS® AMPLICOR® HIV-1 MONITOR Test, v1.5-resultater var 4 falsk-positive COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test v2.0-resultater fra HIV-negative forsøgspersoner, der blev identificeret ved analysen af den kliniske specificitet, der igen var under LLoQ. Elleve var fra HIV-1-positive forsøgspersoner med COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test v2.0-resultater, der var i intervallet fra under LLoQ til 223 cp/ml, og negative COBAS® AMPLICOR® HIV-1 MONITOR Test, v1.5-resultater.

Tabel 21
Sammenligning af CAP/CTM HIV-1 Test, v2.0 med
COBAS® AMPLICOR® HIV-1 MONITOR Test, v1.5

CAP/CTM HIV-1 Test, v2.0	CA HIV-1 MONITOR Test, v1.5		I alt
	Positiv	Negativ	
Positiv	419	15	434
Negativ	0	557	557
I alt	419	572	991
Positiv procentoverensstemmelse (eksakt 95 % konfidensinterval (CI))	100,0 % (99,1 %, 100,0 %)		
Negativ procentoverensstemmelse (eksakt 95 % konfidensinterval (CI))	97,4 % (95,7 %, 98,5 %)		

CI = konfidensinterval; CAP/CTM HIV-1 Test = COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test; CAP/CTM HIV-1 Test, v2.0 = COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0.

Bemærk! HIV-negative og HIV-1-positive forsøgspersoner, der bidrager med både valide CAP/CTM HIV-1 Test, v2.0- og CA HIV-1 MONITOR Test, v1.5-resultater, blev medtaget i denne oversigtstabel.

Konklusion

EDTA-plasma

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0 udviser høje niveauer af overensstemmelse med COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test ved kvantitative analyser ($r^2 = 0,9375$) og ved overensstemmelsesanalyser (positiv procentoverensstemmelse = 99,5 %; negativ procentoverensstemmelse = 98,1 %). Den kvantificerer kliniske prøver 0,2591 log₁₀ cp/ml højere samlet set end COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, med lavere kvantificering ved det højere interval (> 5 log₁₀ cp/ml) og det lavere interval (< 2 log₁₀ cp/ml).

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0 udviser også høje niveauer af overensstemmelse med COBAS® AMPLICOR® HIV-1 MONITOR Test, v1.5 ved overensstemmelsesanalyser (positiv procentoverensstemmelse = 100,0 %; negativ procentoverensstemmelse = 97,4 %).

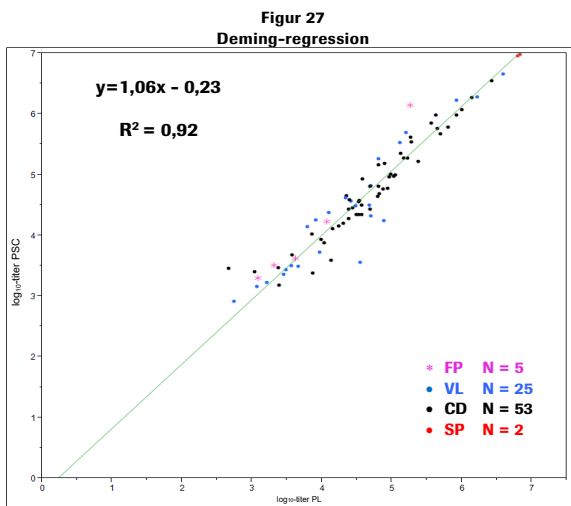
Disse testresultater understøtter anvendeligheden af testen til den tilsigtede brug, der består i vurderingen af sygdomsprogression og monitorering af antiretroviral behandling hos patienter, der er inficeret med HIV-1.

Vigtige egenskaber for performance for tørrede PSC-plasmaspotprøver

Performance for tørrede PSC-plasmaspotprøver sammenlignet med EDTA-plasmaprøver

Performance for tørrede **PSC**-plasmaspotprøver blev sammenlignet med centrifugerede EDTA-plasmaprøver ved at teste 325 prøver fra patienter, der var inficeret med HIV-1, og 2 prøver med HIV-negativt fuldblod, der var beriget med cellekultursupernatanter. Der blev analyseret 85 prøver med målbar titer på både plasma og **PSC**. Prøverne omfattede HIV-1 M-prøver (FP= prospektiv prøvetagning med venepunktur og fra kapillært blod, VL= rutinemæssig virusbelastningstest CD=CD4+ resterende celletalsprøver, SP = berigede prøver) og blev testet i ét replikat hver (**PSC** og plasma) på et eksternt laboratorium. Titre under kvantificeringsintervallet blev udelukket fra analysen. Deming-regressionen blev udført under hensynstagen til log-transformerede titre.

Deming-regressionsresultaterne vises i Figur 27. Symbolerne * og • i Figur 27 viser enkeltbestemmelser.



Tabel 22
Oversigt over resultater for matrix-ækvivalens

Matrix (plasmatype) ækvivalens	Antal prøver med valid titer	Bland Altman-analyse		Deming-regressionsanalyse		
		Gennemsnitlig log ₁₀ -forskel	95 % CI [nedre/øvre]	Hældning	Skærings- punkt	R-kvadreret
PSC ift. flydende plasma	85	0,05	[-0,01, 0,11]	1,06	-0,23	0,92

REFERENCER

1. Barre-Sinoussi, F., Chermann, J.C., Rey, F., Nugeyre, M.T., Chamaret, S., Gruest, J., Dauguet, C., Axler-Blin, C., Vezinet-Brun, F., Rouzioux, C., Rozenbaum, W., Montagnier, L. 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., Sarngadharan, M.G., Read, E., Gallo, R.C. 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., Salahuddin, S.Z., Popovic, M., Shearer, G.M., Kaplan, M., Haynes, B.F., Palker, T.J., Redfield, R., Oleske, J., Safai, B., White, G., Foster, P., Markham, P.D. 1984. Frequent detection and isolation of cytopathic retroviruses (HTLV-III) from patients with AIDS and at risk for AIDS. *Science* **224**:500-503.
4. Curran, J.W., Jaffe, H.W., Hardy, A.M., Morgan, W.M., Selik, R.M., Dondero, T.J. 1988. Epidemiology of HIV Infection and AIDS in the United States. *Science* **239**:610-616.
5. Gaines, H., von Sydow, M.A., von Stedingk, L.V. 1990. Immunological changes in primary HIV-1 infection. *AIDS* **4**:995-999.
6. Tindall, B., and Cooper, D.A. 1991. Primary HIV-1 infection: host responses and intervention strategies. *AIDS* **5**:1-14.
7. Daar, E.S., Moudgil, T., Meyer, R.D., Ho, D.D. 1991. Transient high levels of viremia in patients with primary human immunodeficiency virus type 1 infection. *New England Journal of Medicine* **324**:961-964.
8. Clark, S.J., Saag, M.S., Decker, W.D. 1991. High titers of cytopathic virus in plasma of patients with symptomatic primary HIV-1 infection. *New England Journal of Medicine* **324**:954-960.
9. Albert J., Abrahamsson B., Nagy K., Aurelius E., Gaines H., Nystrom G., Fenyo E.M. 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.
10. Horsburgh, C.R. Jr., Ou, C.Y., Jason, J., Holmberg, S.D., Longini, I.M. Jr., Schable, C., Mayer, K.H., Lifson, A.R., Schochetman, G., Ward, J.W., et al. 1989. Duration of human immunodeficiency virus infection before detection of antibody. *Lancet* **16**:637-640.
11. Schnittman, S.M., Psallidopoulos, M.C., Lane, H.C., Thompson, L., Baseler, M., Massari, F., Fox, C.H., Salzman, N.P., Fauci, A.S. 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.
12. Schnittman, S.M., Greenhouse, J.J., Psallidopoulos, M.C., Baseler, M., Salzman, N.P., Fauci, A.S., Lane, H.C. 1990. Increasing viral burden in CD4⁺ T cells from patients with human immunodeficiency virus (HIV) infection reflects rapidly progressive immunosuppression and clinical disease. *Annals of Internal Medicine* **113**:438-443.
13. Pantaleo, G., Graziosi, C., Fauci, A.S. 1993. New concepts in the immunopathogenesis of human immunodeficiency virus (HIV) infection. *New England Journal of Medicine* **328**:327-335.
14. Piatak, M. Jr., Saag, M.S., Yang, L.C., Clark, S.J., Kappes, J.C., Luk, K.C., Hahn, B.H., Shaw, G.M., Lifson, J.D. 1993. High levels of HIV-1 in plasma during all stages of infection determined by competitive PCR. *Science* **259**:1749-1754.
15. Fauci, A.S., Schnittman, S.M., Poli, G., Koenig, S., Pantaleo, G. 1991. NIH conference: immunopathogenic mechanisms in human immunodeficiency virus (HIV) infection. *Annals of Internal Medicine* **114**:678-693.

16. Coffin, J.M. 1995. HIV-1 population dynamics in vivo: Implications for genetic variation, pathogenesis, and therapy. *Science* **267**:483-489.
17. Ho, D.D., Neumann, A.U., Perelson, A.S., Chen, W., Leonard, J.M., Markowitz, M. 1995. Rapid turnover of plasma virions and CD4 lymphocytes in HIV-1 infection. *Nature* **373**:123-126.
18. Wei, X., Ghosh, S.K., Taylor, M.E., Johnson, V.A., Emini, E.A., Deutsch, P., Lifson, J.D., Bonhoeffer, S., Nowak, M.A., Hahn, B.H., et al. 1995. Viral dynamics in human immunodeficiency virus type 1 infection. *Nature* **373**:117-122.
19. O'Brien, W.A., Hartigan, P.M., Martin, D., Esinhardt, J., Hill, A., Benoit, S., Rubin, M., Simberkoff, M.S., Hamilton, J.D. 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. *New England Journal of Medicine* **334**:426-431.
20. Welles, S.L., Jackson, J.B., Yen-Lieberman, B., Demeter, L., Japour, A.J., Smeaton, L.M., Johnson, V.A., Kuritzkes, D.R., Richman, D.D., Reichelderfer, P.A., Richman, D.D., Reichman, R., Fischl, M., Dolin, R., Coombs, R.W., Kahn, J.O., McLaren, C., Todd, J., Kwok, S., Crumpacker, C.S. 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. *Journal of Infectious Diseases* **174**:696-703.
21. Coombs, R.W., Welles, S.L., Hooper, C., Reichelderfer, P.S., D'Aquila, R.T., Japour, A.J., Johnson, V.A., Kuritzkes, D.R., Richman, D.D., Kwok, S., Todd, J., Jackson, J.B., DeGruttola, V., Crumpacker, C.S., Kahn, J. 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. *Journal of Infectious Diseases* **174**:704-712.
22. Hammer, S., Crumpacker, C., D'Aquila, R., Jackson, B., Lathey, J., Livnat, D., Reichelderfer, P. 1993. Use of virologic assays for detection of human immunodeficiency virus in clinical trials: Recommendations of the AIDS Clinical Trials Group Virology Committee. *Journal of Clinical Microbiology* **31**:2557-2564.
23. Schochetman, G., George, J.R., ed. AIDS testing: a comprehensive guide to technical, medical, social, legal and management issues. 2nd ed. New York: Springer-Verlag, 1994.
24. Mulder, J., McKinney, N., Christopherson, C., Sninsky, J., Greenfield, L., Kwok, S. 1994. Rapid and simple PCR assay for quantitation of human immunodeficiency virus type 1 RNA in plasma: Application to acute retroviral infection. *Journal of Clinical Microbiology* **32**:292-300.
25. Dewar, R.L., Highbarger, H.C., Sarmiento, M.D., Todd, J.A., Vasudevachari, M.B., Davey, R.T. Jr., Kovacs, J.A., Salzman, N.P., Lane, H.C., Urdea, M.S. 1994. Application of branched DNA signal amplification to monitor human immunodeficiency virus type 1 burden in human plasma. *Journal of Infectious Diseases* **170**:1172-1179.
26. van Gemen, B., Kievits, T., Schukkink, R., van Strijp, D., Malek, L.T., Sookninan, R., Huisman, H.G., Lens, P. 1993. Quantification of HIV-1 RNA in plasma using NASBA during HIV-1 primary infection. *Journal of Virological Methods* **43**:177-187.
27. Consolidated guidelines on the use of antiretroviral drugs for treating and preventing HIV infection - Recommendations for a public health approach. World Health Organization HIV/AIDS Programme, Geneva. 2016.
28. Saiki, R.K., Scharf, S., Faloona, F., Mullis, K.B., Horn, G.T., Erlich, H.A., Arnheim, N. 1985. Enzymatic amplification of b-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of Sickle Cell Anemia. *Science* **230**:1350-1354.

29. Saiki, R.K., Gelfand, D.H., Stoffel, S., Scharf, S.J., Higuchi, R., Horn, G.T., Mullis, K.B., Erlich, H.A. 1988. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science* **239**:487-491.
30. Mullis, K.B., Faloona, F.A. 1987. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. *Methods in Enzymology* **155**:335-350.
31. Q. Meng, C. Wong, A. Rangachari, S. Tamatsukuri, M. Sasaki, E. Fiss, L. Cheng, T. Ramankutty, D. Clarke, H. Yawata, Y. Sakakura, T. Hirose, and C. Impraim. 2001. Automated Multiplex Assay System for Simultaneous Detection of Hepatitis B Virus DNA, Hepatitis C Virus RNA, and Human Immunodeficiency Virus Type 1 RNA. *Journal of Clinical Microbiology* **39** (8):2937-2945.
32. Smith, E.S., Li, A.K., Wang, A.M., Gelfand, D.H., Myers, T.M. 2003. Amplification of RNA: High-Temperature Reverse Transcription and DNA Amplification with a Magnesium-Activated Thermostable DNA Polymerase. In *PCR Primer: A Laboratory Manual*, 2nd Edition, Dieffenbach C.W. and Dveksler G.S., Eds. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, pp. 211-219.
33. Kwok, S., Sninsky, J.J. 1993. PCR detection of human immunodeficiency virus type 1 proviral DNA sequences. In: *Diagnostic Molecular Biology: Principles and Applications*. eds. Persing, D.H., Smith, T.F., Smith, F.C., et al. ASM, Washington, D.C.
34. Longo, M.C., Berninger, M.S., Hartley, J.L. 1990. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions. *Gene* **93**:125-128.
35. Higuchi, R., Dollinger, G., Walsh, P.S., Griffith, R. 1992. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Biotechnology (N Y)*. **10**:413-417.
36. Heid, C.A., Stevens, J., Livak, J.K., Williams, P.M. 1996. Real time quantitative PCR. *Genome Research* **6**:986-994.
37. Holmes, H., Davis, C., Heath, A., Hewlett, I. and Lelie, N. 2001. An international collaborative study to establish the 1st international standard for HIV-1 RNA for use in nucleic acid-based techniques. *Journal of Virological Methods* **92**:141-150.
38. Richmond, J.Y. and McKinney, R.W. eds. 1999. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. HHS Publication Number (CDC) 93-8395.
39. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections. Approved Guideline-Third Edition. CLSI Document M29-A3 Wayne, PA:CLSI, 2005.
40. International Air Transport Association. Dangerous Goods Regulations, 41st Edition. 2000. 704 pp.
41. Robertson DL, Anderson JP, Bradac JA, Carr JK, Foley B, Funkhouser RK, Gao F, Hahn BH, Kalish ML, Kuiken C, Learn GH, Leitner T, McCutchan F, Osmanov S, Peeters M, Pieniazek D, Salminen M, Sharp PM, Wolinsky S, and Korber B: HIV-1 Nomenclature proposal: A reference guide to HIV-1 classification. In: *Human Retroviruses and AIDS 1999: A Compilation and Analysis of Nucleic Acid and Amino Acid Sequences* (Kuiken C, Foley B, Hahn B, Korber B, McCutchan F, Marx PA, Mellors JW, Mullins JI, Sodroski J, and Wolinsky S, eds.). Theoretical Biology and Biophysics Group, Los Alamos National Laboratory, Los Alamos, New Mexico, 1999, pp. 492-505.
42. Davis, C., Berry, N., Heath, A. and Holmes, H. 2008. An international collaborative study to establish a replacement World Health Organization International Standard for human immunodeficiency virus 1 RNA nucleic acid assays. *Vox Sanguinis* **95**: 218-225.

Oplysninger om dokumentrevision	
Doc Rev. 19.0 01/2022	Referencen til Metodeark til PSC ms_09411763190 er opdateret til at inkludere det nye M/N for PSC-kortet. Figur 8 og figur 9 er opdateret, så de passer til PSC ms_09411763190. Symbolet Rx Only er indsat på første side. Afsnittet Teknisk support er tilføjet. Tilføjet "Fremstillet i"-bemærkning. Adresser på distributører er fjernet. Adresse på importør er tilføjet. Opdateret afsnittet Varemærker og patenter. Siden med harmoniserede symboler er opdateret. Kontakt den lokale Roche-repræsentant ved eventuelle spørgsmål.

Teknisk support

Kontakt den lokale afdeling for teknisk support (assistance):
https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm



Roche Molecular Systems, Inc.
 1080 US Highway 202 South
 Branchburg, NJ 08876 USA
www.roche.com

Fremstillet i USA



Roche Diagnostics GmbH
 Sandhofer Strasse 116
 68305 Mannheim, Germany

Varemærker og patenter

Dette produkt er underlagt et eller flere amerikanske patenter med numrene 8097717, 8192958 og 6727067 og deres tilsvarende udenlandske patenter.

COBAS, COBAS P, AMPERASE, AMPLICOR, AMPLIPREP, AMPLILINK og TAQMAN er varemærker, der tilhører Roche.

Varemærket "Armored RNA[®]" er ejet af Asuragen, Inc. og Cenetron Diagnostics, Ltd.

ProClin[®] er et registreret varemærke tilhørende Rohm and Haas Company.

THERMOMIXER[®] er et registreret varemærke tilhørende Eppendorf AG, Hamburg, Tyskland.

Alle øvrige produktnavne og varemærker tilhører deres respektive ejere.

Teknikken til forebyggelse af afsmitning i AmpErase[®]-enzymet er omfattet af de amerikanske patentnr. 7,687,247, der tilhører Life Technologies og er licenseret til Roche Molecular Systems, Inc.

Visse komponenter i dette produkt er underlagt et eller flere amerikanske patenter og deres udenlandske tilsvarende udstedt til Novartis Vaccines and Diagnostics, Inc. og givet i licens til Roche Molecular Systems, Inc. og F. Hoffman-La Roche Ltd.

Se <http://www.roche-diagnostics.us/patents>

©2022 Roche Molecular Systems, Inc.

01/2022

(05328268001-19ENGL)

05447909001-18

Doc Rev. 19.0



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



Følgende symboler er nu i anvendelse på etiketter til Roche PCR diagnostiske produkter.

Age/DOB Alder eller fødselsdato



Hjælpesoftware

Assigned Range [copies/mL] Tildelt interval (kopier/ml)

Assigned Range [IU/mL] Tildelt interval (IE/ml)

EC REP Autoriseret repræsentant i EF

BARCODE Barkodedataark

LOT Batchkode



Biologisk fare

REF Katalognummer

CE-overensstemmelsesmærkning: Denne enhed stemmer overens med de gældende krav for CE-mærkning af medicinsk udstyr til *in vitro*-diagnostik



Collect Date Prøvetagningsdato



Se brugsanvisning



Indeholder tilstrækkeligt til <n> tests

CONTENT Indhold i pakning

CONTROL Kontrol



Fremstillingsdato



Udstyr til patientnær test



Udstyr til selvtest



Udstyr, der ikke er til patientnær test



Udstyr, der ikke er til selvtest



Distributør
(Bemærk! Gældende land/region kan være angivet under symbolet.)



Må ikke genbruges



Kvinder



Kun til evaluering af IVD-performance

GTIN Global Trade Item Number



Importør

IVD Medicinsk udstyr til *in vitro*-diagnostik

LLR Nedre grænse for tildelt interval



Mænd



Producent

CONTROL - Negativ kontrol



Usteril



Patientnavn



Patientnummer



Riv her

CONTROL + Positiv kontrol

QS copies / PCR

QS kopier pr. PCR-reaktion. Brug QS kopier pr. PCR-reaktion til beregning af resultaterne.

QS IU/PCR

QS IE pr. PCR-reaktion. Brug QS internationale enheder (IE) pr. PCR-reaktion til beregning af resultaterne.

SN Serienummer

Site Sted

Procedure Standard Standardprocedure

STERILE EO Steriliseret med ethylenoxid



Opbevares mørkt



Temperaturbegrænsning



Testdefinitionsfil



Denne side op

Procedure UltraSensitive Ultrasensitive-procedure

UDI Unik udstyrsidentifikation

ULR Øvre grænse for tildelt interval

Urine Fill Line Urinpåfyldningslinje

Rx Only

Kun USA: Ifølge amerikansk lovgivning må denne enhed kun sælges af eller efter anmodning fra en læge.



Sidste anvendelsesdato