

## Aptima™ HCV Quant Dx Assay

Til *in vitro*-diagnostisk bruk.

Kun for USA-eksport.

|  |           |
|--|-----------|
| <b>Generell informasjon</b> .....  | <b>2</b>  |
| Tiltent bruk .....   | 2         |
| Oppsummering og forklaring på testen .....                                     | 2         |
| Prosedyrens prinsipper .....   | 3         |
| Advarsler og forholdsregler .....  | 4         |
| Oppbevaring av reagenser og håndteringskrav .....                              | 6         |
| Prøvetaking og oppbevaring .....   | 7         |
| Prøver ombord i Panther-systemet .....   | 10        |
| Prøvetransport .....   | 10        |
| <b>Panther-systemet</b> .....  | <b>11</b> |
| Reagenser og materialer som følger med .....                                   | 11        |
| Nødvendige materialer som er tilgjengelige separat .....                       | 13        |
| Alternative materialer .....   | 14        |
| Panther-systemets testprosedyre .....  | 14        |
| Prosedyrenotater .....   | 18        |
| <b>Kvalitetskontroll</b> .....   | <b>19</b> |
| Analysekalibrering .....   | 19        |
| Negative og positive kontroller .....  | 19        |
| Intern kalibrator/intern kontroll .....  | 19        |
| <b>Tolkning av resultater</b> .....  | <b>20</b> |
| <b>Begrensninger</b> .....   | <b>20</b> |
| <b>Ytelse</b> .....  | <b>21</b> |
| Grensen for deteksjon (LOD) ved bruk av WHO's 2. internasjonale standard ..... | 21        |
| Grensen for deteksjon på tvers av HCV genotyper .....                          | 22        |
| Lineært område .....   | 23        |
| Lineæritet på tvers av HCV genotyper .....                                     | 24        |
| Nedre grense for kvantifisering med WHO's 2. internasjonale standard .....     | 24        |
| Den nedre grensen for kvantifisering (LLOQ) på tvers av HCV genotyper .....    | 26        |
| Nøyaktighet .....  | 28        |
| Potensielt forstyrrende stoffer .....  | 28        |
| Spesifisitet .....   | 30        |
| Analytisk spesifisitet .....   | 31        |
| Kliniske prøver som inneholder andre virusser enn HCV .....                    | 32        |
| Repererbarhet ved kliniske prøver .....  | 32        |
| Prøvefortynning med prøvefortynningsmiddel .....                               | 33        |
| Metodekorrelasjon .....  | 35        |
| Diagnostisk samsvar .....  | 35        |
| Overføring .....   | 36        |
| Serokonversjonspanel .....   | 36        |
| <b>Bibliografi</b> .....   | <b>37</b> |

## **Generell informasjon**

### **Tiltenkt bruk**

Aptima HCV Quant Dx-analyse er en sanntids transkripsjonsmediert amplifikasjonstest. Denne analysen brukes både til deteksjon og kvantifisering av hepatitt C-virus (HCV) RNA i frisk og frosset humant serum og plasma fra HCV-infiserte personer.

Plasma kan prepareres i etylendiamintetra-eddiksyre (EDTA), antikoagulerende citratdekstrose (ACD)-løsning og plasmatilberedningsrør (PPT). Serum kan prepareres i serumrør og serumseparatorrør (SST). Prøvene blir testet med Panther-systemet for automatisk prøvebehandling, amplifikasjon, deteksjon og kvantifisering. Prøvene som inneholder HCV genotyper 1 til 6 er validert for deteksjon og kvantifisering i analysen.

Aptima HCV Quant Dx-analyse er indisert som en hjelp ved diagnostisering av HCV-infeksjon. Analysen kan brukes til å bekrefte aktiv HCV-infeksjon hos pasienter med et positivt HCV antistoffresultat. Deteksjon av HCV RNA angir at viruset repliserer og er derfor et bevis på aktiv infeksjon.

Aptima HCV Quant Dx-analyse er indisert som en hjelp ved diagnostisering av HCV-infiserte pasienter som gjennomgår HCV antiviral legemiddelbehandling. Analysen måler HCV RNA-nivået ved baselinjen, under behandling og etter behandling for å bestemme vedvarende virologisk respons (SVR). Resultatene fra Aptima HCV Quant Dx-analyse skal tolkes i sammenheng med alle relevante kliniske og laboratoriefunn.

Aptima HCV Quant Dx-analyse er ikke beregnet bruk som screeningstest for nærvær av HCV i blod eller blodprodukter.

### **Oppsummering og forklaring på testen**

HCV er et blodbåret patogen og en verdensomspennende helsebyrde med opp til 170 millioner mennesker smittet globalt, og 350 000 årlige dødsfall på grunn av HCV-relaterte tilstander, inkludert cirrose og leverkreft.<sup>1,2</sup> Overføring av HCV skjer gjennom eksponering til blod, blodprodukter eller aktiviteter med mulighet for perkutan eksponering.<sup>3,4</sup> Genetisk sett inneholder HCV en positiv-streng RNA-genom på omtrent 9500 nukleotider som koder strukturelle proteiner (kjerne, E1 og E2 glykoproteiner, p7 ionekanalprotein) og ustrukturelle proteiner (NS2, NS3, NS4A/B, NS5A/B), de sistnevnte er viktige virale replikative proteiner og mål for direkte virkende antivirale midler.<sup>4,5</sup> To utranslaterte regioner (UTR) av genomet, 5' UTR og 3' UTR, fungerer i henholdsvis genomtranslasjon og replikasjon/pakkeroller.<sup>5</sup> 5' UTR er den best konserverte genomiske regionen på tvers av de seks hoved-HCV genotypene.<sup>6</sup>

Klinisk sett er det høy prevalens av asymptomatisk HCV-infeksjon og, til tross for detekterbart antistoff (vanligvis innen 5 - 12 uker), forekommer kronisk HCV i opp til 75 % av pasientene.<sup>2</sup> HCV laboratorietesting av algoritmer krever diagnosen aktive HCV-infeksjoner i antistoffpositive personer ved oppdagelse av HCV RNA i plasma eller serum for å sette opp riktig omsorgsrutine.<sup>7,8,9</sup>

Kvantifisering av HCV RNA (viral belastning) har spilt en avgjørende rolle ved definering og overvåking av vellykket HCV-behandling. Vedvarende virologisk respons (SVR), definert som udetektert HCV RNA etter vellykket behandling, er en nøkkelmarkør for en HCV-kur.<sup>10,11</sup>

I interferonbasert behandling viste det seg at tidlig virologisk respons (EVR), definert som 2 log eller større reduksjon i HCV viral belastning etter 12 ukers behandling og en rask virologisk respons (RVR), definert som udetekterbare nivåer av HCV RNA etter 4 ukers behandling, var positive prediktorer for SVR.<sup>10,12,13</sup> Disse markørene for viral kinetikk brukes i

responsveiledede metoder som skreddersyr behandlingalternativer for å avbryte eller utvide behandlingen for å oppnå SVR.<sup>14</sup> Videre viste langvarige oppfølgingsstudier at varigheten av SVR etter vellykket behandling og virusutrydding hindrer progresjonen av leversykdom.<sup>10</sup>

I tiden med direktevirkende antivirale midler (DAA), ble HCV viralbelastningsmålinger gjort før behandlingen for å etablere baselinje-virusbelastningen, under behandling for behandlingresponser, og etter behandlingen for å evaluere SVR (eller tilbakefall). Nesten alle pasientene oppnår virologiske under behandling-responser på DAA, definert som under grensen for kvantifisering (<LLOQ) for analysen, fulgt av mer enn 90 % SVR-rater ved 12 uker etter behandling med de fleste regimer.<sup>8,11</sup> HCV RNA-deteksjon og kvantifisering vil fortsette å spille en sentral rolle i HCV-diagnosen og håndtering av pasientene som går på antiviralbehandling.

## Prosedurens prinsipper

Aptima HCV Quant Dx-analyse er en nukleinsyre-amplifikasjonstest som bruker sanntids transkripsjonsmediert amplifikasjonsteknologi (TMA) til deteksjon og kvantifisering av HCV RNA før behandling som en hjelp til diagnosen, eller for å etablere baselinje viral belastning, i tillegg til å måle responser under behandlingen og etter behandlingen. Analysen har som mål en konservert region på HCV-genomet, og detekterer og kvantifiserer genotypene 1, 2, 3, 4, 5 og 6. Analysen er standardisert i forhold til den 2. WHO's internasjonale standard for hepatitt C-virus (NIBSC kode 96/798).<sup>12</sup>

Aptima HCV Quant Dx-analysen involverer tre hovedtrinn, som alle finner sted i et enkelt rør på Panther-systemet: målinnfanging, målampifikasjon av TMA og deteksjon av amplifikasjonsprodukter (amplikon) av de fluorescensmerkede probene.

Under en målinnfanging blir virus-RNA isolert fra prøvene. Prøven blir behandlet med en detergent for å oppløse viruskapselen, denaturere proteiner og frigjøre viral genomisk RNA. Capture oligonukleotider hybridiseres til høyt konservative regioner på HCV RNA, hvis dette er tilstede, i testprøven. Det hybridiserte målet blir deretter fanget inn på magnetiske mikropartikler som er atskilt fra prøven i magnetfeltet. Vasketrinnene fjerner overfløydige komponenter fra reaksjonsrøret.

Målampifikasjonen foregår via TMA, som er en transkripsjonsmediert amplifikasjonsmetode med nukleinsyre som bruker to enzymer, Moloney murint leukemivirus (M-MLV) revers transkriptase og T7 RNA-polymerase. Den reverse transkriptasen brukes til å generere en DNA-kopi (som inneholder en promotorsekvens for T7 RNA-polymerase) av målsekvensen. T7 RNA-polymerase produserer flere kopier av RNA-amplikon fra DNA-kopitemplatet. Aptima HCV Quant Dx-analysen bruker TMA-metoden for å amplifisere en del av 5' UTR av HCV-genomet. Amplifikasjonen av denne regionen oppnås med spesifikke primere som er utformet for å amplifisere HCV-genotypene 1, 2, 3, 4, 5 og 6.

Deteksjon oppnås med nukleinsyreprobe med enkel tråd, som er tilstede under amplifikasjonen av målet og som hybridiserer spesifikt til amplikonet i sanntid. Hver probe har en fluorofor og en quencher. Når proben ikke er hybridisert til amplikonet, er quencheren nær fluoroforen og undertrykker fluorescensen. Når proben bindes til amplikonet, har quencheren større avstand til fluoroforen og den vil sende ut et signal med et spesifikk bølgelengde når den kommer ut av en lyskilde. Når flere prober hybridiseres til amplikon, genereres signaler med høyere fluorescens. Tiden det tar for fluorescenssignalet å nå en spesifisert terskel er proporsjonal med starten på HCV-konsentrasjonen. Hver reaksjon har en intern kalibrator/internkontroll (IC) som kontrollerer variasjoner i prøvebehandling, amplifikasjon og deteksjon. Konsentrasjonen av en prøve bestemmes av Panther-systemets programvare som bruker HCV- og IC-signaler for hver reaksjon og sammenligner dem med kalibrasjonsinformasjonen.

**Advarsler og forholdsregler**

- A. For å redusere risikoen for ugyldige resultater, må du lese *Håndboken for Panther-systemet* før du utfører denne analysen.

**Laboratorierelatert**

- B. OBS! Kontrollene for denne analysen inneholder humant plasma. Plasmaen er negative for hepatitt B overflateantigen (HBsAg), antistoffer for HCV, antistoffer for HIV-1 og HIV-2, og HIV antigen når den testes med de lisensierte prosedyrene fra US Food and Drug Administration. I tillegg er plasmaen ureaktiv for HCV RNA og HIV-1 RNA når den testes med lisensierte nukleinsyretester med samleprøver. Alt materiale fra humane blodkilder skal betraktes som infeksiosøse og skal håndteres med universelle forholdsregler.<sup>15,16, 17</sup>
- C. Bare personell med tilstrekkelig opplæring i bruken av Aptima HCV Quant Dx-analyse og håndtering av potensielt infeksiosøst materiale, skal utføre denne prosedyren. Hvis det forekommer søl, skal det desinfiseres umiddelbart i samsvar med egnede prosedyrer for stedet.
- D. Bruk bare medfølgende eller spesifisert engangs laboratorievarer.
- E. Bruk rutinemessige laboratorieforholdsregler. Ikke pipetter med munnen. Ikke spis, drikk eller røyk i anviste arbeidsområder. Bruk engangshansker uten pulver, beskyttelsesbriller og laboratoriefrakker når du håndterer prøver og kitreagenser. Vask hendene grundig når du har håndtert prøver og kitreagenser.
- F. Arbeidsflater, pipetter og annet utstyr skal jevnlig dekontamineres med 2,5 % til 3,5 % (0,35 M til 0,5 M) natriumhypokloritt-løsning.
- G. Kasser alle materialer som har vært i kontakt med prøver og reagenser i samsvar med lokale og statlige regler.<sup>15,16,17,18</sup> Alle arbeidsflater skal grundig rengjøres og desinfiseres.
- H. Kontrollene inneholder natriumazid som konserveringsmiddel. Ikke bruk metallrør til overføring av reagens. Hvis løsninger som inneholder natriumazidsammensetninger avhendes i et VVS-system, skal de fortynnes og skylles med store mengder rennende vann. Disse forholdsreglene anbefales for å unngå oppsamling av avleiringer i metallrør der det kan utvikles eksplosjonsfare.
- I. God standard praksis for molekylærlaboratorier inkluderer miljøovervåkning. Laboratoriemiljøet overvåkes med følgende anbefalte prosedyre:
1. Bruk en pinne med bomullspiss og et Aptima-rør for prøvealiquoter (SAT).
  2. Merk hver SAT riktig.
  3. Fyll hver SAT med 1 ml Aptima prøvefortynningsmiddel.
  4. Overflateprøver samles ved å lett fukte en bomullspinne med nukleasefritt avionisert vann.
  5. Før bomullspinnen over overflaten av interesse med en opp-ned-bevegelse. Roter bomullspinnen omtrent en halv omdreining mens du fører den over stedet.
  6. Sett bomullspinnen øyeblikkelig i røret og virvle bomullspinnen forsiktig i prøvefortynningsmiddelet for å trekke ut potensielt oppfanget materiale. Trykk bomullspinnen mot siden på transportrøret for å presse ut så mye væske som mulig. Kasser bomullspinnen og sett hette på røret.
  7. Gjenta trinnene for de andre bomullspinneprøvene.
  8. Test bomullspinnen med molekylær analyse.

**Prøverelatert**

- J. Prøvene kan være infeksjøs. Bruk univverselle forholdsregler<sup>15,16,17</sup> når du utfører denne analysen. Korrekt håndterings- og avhendingsmetoder skal etableres i henhold til lokale forskrifter.<sup>18</sup> Bare personell med tilstrekkelig opplæring i bruk av Aptima HCV Quant Dx-analyse og opplæring i håndtering av infeksjøs materialer skal utføre denne prosedyren.
- K. Oppretthold tilfredsstillende oppbevaringsforhold under prøvoforsendelsen for å sikre prøvens intakthet. Prøvestabiliteten under prøvoforsendelsen, annet det som er anbefalt, har ikke blitt evaluert.
- L. Unngå krysskontaminering under håndteringen av prøven. Vær spesielt nøye for å unngå kontaminasjon ved spredning av aerosoler når prøvene løsnes eller hettene tas av. Prøver kan inneholde ekstremt høy organismenivåer. Sørg for at prøvebeholderne ikke kommer i kontakt med hverandre, og kasser brukte materialer uten å føre dem over åpne beholdere. Bytt hansker hvis de kommer i kontakt med prøven.

**Analysereelatert**

- M. Ikke bruk reagenssettet, kalibratoren eller kontrollene etter utløpsdatoen.
- N. Unngå å utveksle, blande eller kombinere analysereagenser fra sett med ulike masterpartinumre. Analysevesker kan være fra ulike partinumre. Kontroller og kalibratoren kan være fra ulike partinumre.
- O. Unngå mikrobiell og nukleasekontaminering av reagenser.
- P. Sett på hetter og oppbevar analysereagenser ved angitte temperaturer. Analysens ytelse kan påvirkes av bruk av feil oppbevarte analysereagenser. Se *Oppbevaring av reagenser og håndteringskrav* og *Panther-systemets testprosedyre* for mer informasjon.
- Q. Ikke kombiner analysereagenser eller væsker uten spesifikk instruksjon. Ikke fyll reagenser eller væsker helt opp. Panther-systemet angir reagensnivåene.
- R. Noen av reagensene i dette settet er merket med risiko- og sikkerhetssymboler.

**Merk:** Farekommunikasjon avspeiler klassifikasjonene i EUs sikkerhetsdatablad (SDS). For informasjon om kommunikasjon av farer som gjelder spesifikt for din region, se det regionsspesifikke Safety Data Sheet Library (HMS-biblioteket) på [www.hologicds.com](http://www.hologicds.com).

**HCV VL Kit Controls**

**Natriumazid 0,2 %**  
Human Serum 95-100 %

**ADVARSEL**


H312 - Skadelig ved hudkontakt  
H412 - Skadelig med langtidsvirkning for liv i vann  
P273 - Unngå utslipp til miljøet  
P280 - Bruk vernehansker/verneklær/vernebriller/ansiktsskjerm

## Oppbevaring av reagenser og håndteringskrav

- A. Følgende tabell viser oppbevaringsforholdene og stabiliteten for reagenser, kontroller og kalibrator.

| Reagens                                   | Uåpnet oppbevaring | Åpent sett (rekonstituert) |  |
|---|--------------------|----------------------------|--|
|   |                    | Oppbevaring                | Stabilitet                                     |
| qHCV amplifikasjonsreagens                | 2 °C til 8 °C      |                            |  |
| qHCV amplifikasjonsrekonstitusjonsløsning | 2 °C til 8 °C      | 2 °C til 8 °C              | 30 dager <sup>a</sup>                          |
| qHCV enzymreagens                         | 2 °C til 8 °C      |                            |  |
| qHCV enzymrekonstitusjonsløsning          | 2 °C til 8 °C      | 2 °C til 8 °C              | 30 dager <sup>a</sup>                          |
| qHCV promoterreagens                      | 2 °C til 8 °C      |                            |  |
| qHCV promoterrekonstitusjonsløsning       | 2 °C til 8 °C      | 2 °C til 8 °C              | 30 dager <sup>a</sup>                          |
| qHCV målinnfangingsreagens                | 2 °C til 8 °C      | 2 °C til 8 °C              | 30 dager <sup>a</sup>                          |
| qHCV NC CONTROL – (negativ kontroll)      | -15 °C til -35 °C  | 15 °C til 30 °C            | Glass til engangsbruk<br>Brukes innen 24 timer |
| qHCV LPC CONTROL + (lav positiv kontroll) | -15 °C til -35 °C  | 15 °C til 30 °C            | Glass til engangsbruk<br>Brukes innen 24 timer |
| qHCV HPC CONTROL + (høy positiv kontroll) | -15 °C til -35 °C  | 15 °C til 30 °C            | Glass til engangsbruk<br>Brukes innen 24 timer |
| qHCV PCAL (positiv kalibrator)            | -15 °C til -35 °C  | 15 °C til 30 °C            | Glass til engangsbruk<br>Brukes innen 24 timer |

<sup>a</sup> Når reagenser fjernes fra Panther-systemet, skal de umiddelbart returneres til sine riktige oppbevaringstemperaturer.

- B. Kasser eventuelle ubrukte, rekonstituerte reagenser og målinnfangingsreagenser (TCR) etter 30 dager eller etter masterpartiets utløpsdato, det som kommer først gjelder.
- C. Reagenser lagret på Panther-systemet har 72 timers stabilitet ombord. Reagenser kan lastes på Panther-systemet opp til 5 ganger. Panther-systemet logges hver gang reagensene lastes inn.
- D. Etter å ha tint opp kalibratoren, skal væsken være klar, det vil si, ingen grums eller bunnfall.
-  E. Promotorreagens og rekonstituert promoterreagens er lysfølsom. Beskytt disse reagensene fra lys under oppbevaring og ved tilberedning.

## Prøvetaking og oppbevaring

**Merk:** Håndter alle prøver som om de inneholder potensielt infeksjøs stoffer. Bruk universelle forholdsregler.

**Merk:** Påse at du unngår krysskontaminasjon under prøvebehandlingstrinnene. Brukt materiale skal for eksempel avhendes uten å føre dem over åpne rør.

**Merk:** Kun sekundærrør i plast anbefales for lagring.

Fullblodsprøver som tappes i følgende glass- eller plastrør kan brukes:

- Rør som inneholder etylendiamintetraedditsyre (EDTA) eller syrecitratdektrose (ACD) antikoagulanter eller
- Rør for plasmatilberedning (PPT)
- Serumrør
- Serumseparatorrør (SST)

For serum må det være blodkoagulasjon før behandlingen fortsetter.

### A. Prøvetaking

Fullblod kan oppbevares ved 2 °C til 30 °C og skal sentrifugeres innen 6 timer etter prøvetaking. Separer plasma eller serum fra de pelleterte røde blodcellene i henhold til produsentens instruksjoner for røret som brukes. Plasma eller serum kan testes på Panther-systemet i et primærrør eller overføres til et sekundærrør som f.eks. Aptima-prøvealikkvotrør. For å få 500 µl reaksjonsvolum er minimum volum av plasma eller serum for primære oppsamlingsrør inntil 1200 µl og for sekundærrør er minimum volum 700 µl. Følgende tabell angir krav til dødsvolum for hver type primær- og sekundærrør.

| Rør (størrelse og type) | Dødsvolum på Panther |
|-------------------------|----------------------|
| Aptima-prøvealikkvotrør | 0,2 ml               |
| 12 x 75 mm              | 0,5 ml               |
| 13 x 100 mm             | 0,5 ml               |
| 13 x 100 mm med gel     | 0,3 ml               |
| 16 x 100 mm med gel     | 0,7 ml               |

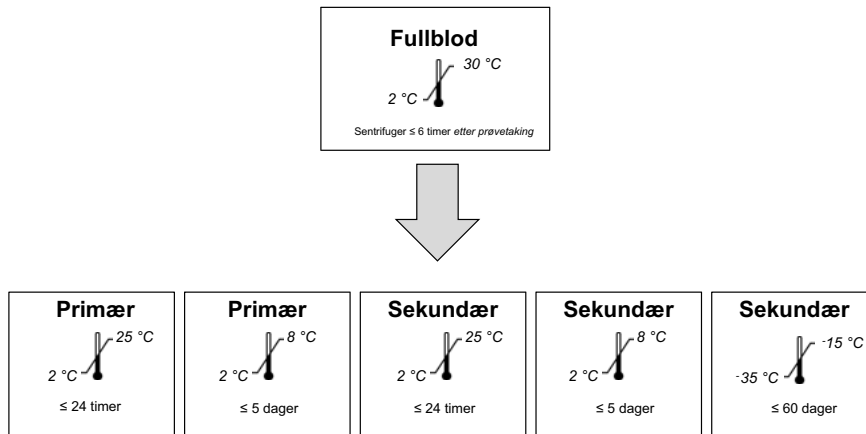
Hvis plasma og serum ikke testes umiddelbart, kan de oppbevares i henhold til spesifikasjonene nedenfor. Hvis plasma eller serum overføres til et sekundærrør, kan de fryses ved -20 °C. Ikke foreta mer enn 3 fryse/tine-sykluser. Ikke frys prøvene i primære innsamlingsrør med EDTA, ACD eller serum.

### B. Prøveoppbevaringsforhold

#### 1. EDTA og ACD plasmaprøver

Fullblod kan oppbevares ved 2 °C til 30 °C og skal sentrifugeres innen 6 timer etter prøvetaking. Plasma kan deretter oppbevares under ett av følgende forhold:

- I det primære oppsamlingsrøret eller sekundærrøret ved 2 °C til 25 °C i inntil 24 timer,
- I det primære oppsamlingsrøret eller sekundærrøret ved 2 °C til 8 °C i inntil 5 dager, eller
- I sekundærrøret ved -20 °C i inntil 60 dager.

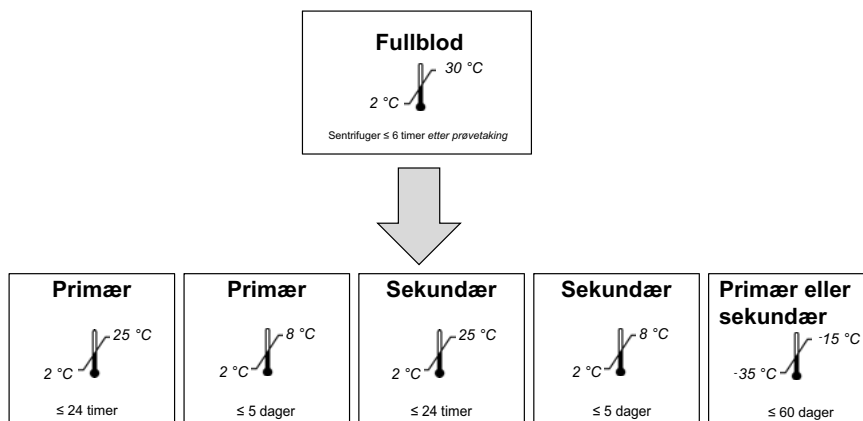


**Figur 1. Oppbevaringsforhold for EDTA/ACD-rør**

2. PPT-prøver

Fullblod kan oppbevares ved 2 °C til 30 °C og skal sentrifuseres innen 6 timer etter prøvetaking. Plasma kan deretter oppbevares under ett av følgende forhold:

- I det primære oppsamlingsrøret eller sekundærrøret ved 2 °C til 25 °C i inntil 24 timer,
- I det primære oppsamlingsrøret eller sekundærrøret ved 2 °C til 8 °C i inntil 5 dager, eller
- I det primære prøvetakingsrøret eller sekundærrøret ved -20 °C i inntil 60 dager.



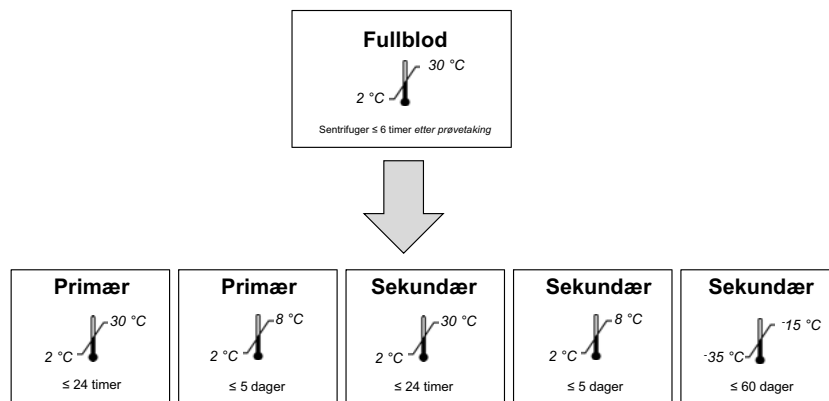
**Figur 2. Oppbevaringsforhold for PPT.**

3. Serumrørprøver

Fullblod kan oppbevares ved 2 °C til 30 °C og skal sentrifuseres innen 6 timer etter prøvetaking. Serum kan deretter oppbevares under ett av følgende forhold:

- I det primære oppsamlingsrøret eller sekundærrøret ved 2 °C til 30 °C i inntil 24 timer,
- I det primære oppsamlingsrøret eller sekundærrøret ved 2 °C til 8 °C i inntil 5 dager, eller
- I sekundærrøret ved -20 °C i inntil 60 dager.



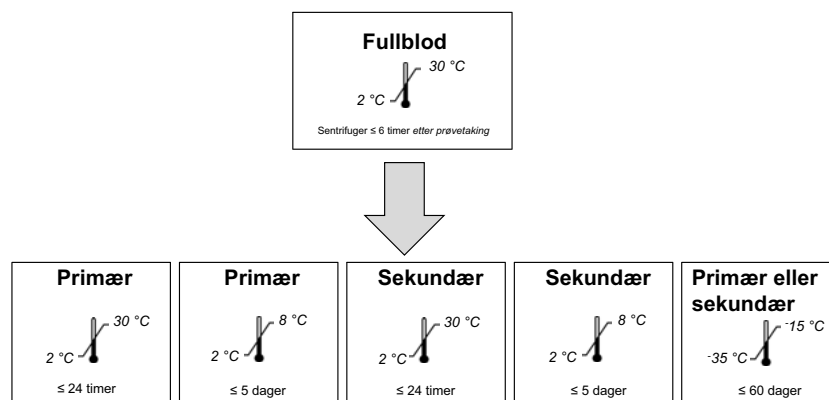


**Figur 3. Oppbevaringsforhold for serumrør**

#### 4. SST-prøver

Fullblod kan oppbevares ved 2 °C til 30 °C og skal sentrifuseres innen 6 timer etter prøvetaking. Serum kan deretter oppbevares under ett av følgende forhold:

- I det primære oppsamlingsrøret eller sekundærrøret ved 2 °C til 30 °C i inntil 24 timer,
- I det primære oppsamlingsrøret eller sekundærrøret ved 2 °C til 8 °C i inntil 5 dager, eller
- I det primære prøvetakingsrøret eller sekundærrøret ved -20 °C i inntil 60 dager.



**Figur 4. Oppbevaringsforhold for SST**

#### C. Langtids frosnen oppbevaring

Plasma- eller serumprøver kan oppbevares ved -70 °C i opp til 60 dager i SAT.

#### D. Fortynning av plasma- og serumprøver

Plasma- og serumprøver kan fortynnes i SAT eller sekundærrør for testing på Panther-systemet. Se *Panther-systemets testprosedyre*, trinn E.6 nedenfor for mer informasjon.

⚠ *Fortynning av plasma- og serumprøver kan bare brukes for kvantitative resultater. Ikke fortynn plasma- eller serumprøver for diagnostiske resultater.*

**Merk:** Hvis en prøve fortynnes, skal den testes umiddelbart etter fortynningen. Ikke frys en fortynnet prøve.

### Prøver ombord i Panther-systemet

Prøver kan forbli på Panther-systemet uten hetter i opp til 8 timer. Prøvene kan fjernes fra Panther-systemet og testes så lenge den totale tiden ombord ikke overstiger 8 timer før Panther-systemet pipetterer prøven.

### Prøvetransport

Oppretthold prøveoppbevaringsforholdene som beskrevet i *Prøvetaking og oppbevaring*.

**Merk:** *Prøvene skal sendes i henhold til gjeldende statlige, internasjonale og regionale transportregler.*

## Panther-systemet

Reagenser for Aptima HCV Quant DX-analyse er oppført nedenfor for Panther-systemet. Reagensidentifikasjonssymbolene er også oppført ved siden av reagensnavnet.

### Reagenser og materialer som følger med

**Merk:** For informasjon om eventuelle fare- og forholdsregelerklæringer som kan være forbundet med reagenser, se sikkerhetsdatabladbiblioteket på [www.hologic.com/sds](http://www.hologic.com/sds).

**Aptima HCV Quant Dx analysesett**, 100 tester Kat. Nr. PRD-03506

(1 analyseboks, 1 kalibratorsett og 1 kontrollsett)

Ekstra kalibratore og kontroller kan bestilles separat. Se de respektive katalognumrene nedenfor.

#### **Aptima HCV Quant Dx-analyseboks**

(oppbevares ved 2 °C til 8 °C ved mottak)

| Symbol      | Komponent  | Mengde      |
|-------------|--|-------------|
| <b>A</b>    | <b>qHCV amplifikasjonsreagens</b><br><i>Ikke-infeksiøse nukleinsyrer tørket i bufret løsning.</i>  | 1 glass     |
| <b>E</b>    | <b>qHCV enzymreagens</b><br><i>Revers transkriptase og RNA polymerase tørket i HEPES bufret løsning.</i>   | 1 glass     |
| <b>PRO</b>  | <b>qHCV promoterreagens</b><br><i>Ikke-infeksiøse nukleinsyrer tørket i bufret løsning.</i>  | 1 glass     |
| <b>AR</b>   | <b>qHCV amplifikasjonsrekonstitusjonsløsning</b><br><i>Vannholdig løsning som inneholder glycerol og konserveringsmidler.</i>                            | 1 x 7,2 ml  |
| <b>ER</b>   | <b>qHCV enzymrekonstitusjonsløsning</b><br><i>HEPES bufret løsning som inneholder surfaktant og glycerol.</i>  | 1 x 5,8 ml  |
| <b>PROR</b> | <b>qHCV promoterrekonstitusjonsløsning</b><br><i>Vannholdig løsning som inneholder glycerol og konserveringsmidler.</i>                                  | 1 x 4,5 ml  |
| <b>TCR</b>  | <b>qHCV målinnfangingsreagens</b><br><i>Nukleinsyrer i en bufret saltløsning som inneholder fastfase, uinfeksiøse nukleinsyrer og intern kalibrator.</i> | 1 x 72,0 ml |
|             | <b>Rekonstitusjonskrager</b>   | 3           |
|             | <b>Strekkodeark for masterparti</b>  | 1 ark       |

**Aptima HCV Quant Dx kalibratorsett** (Kat. nr. PRD-03507)  
(oppbevares ved -15 °C til -35 °C ved mottak)

| Symbol | Komponent   | Mengde     |
|--------|---|------------|
| PCAL   | <b>qHCV positiv kalibrator</b><br><i>Transkript i bufret løsning.</i> | 5 x 2,5 ml |
|        | <b>Kalibratorstrekkeetikett</b>                                       | —          |

**Aptima HCV Quant Dx kontrollsett** (Kat. nr. PRD-03508)  
(oppbevares ved -15 °C til -35 °C ved mottak)

| Symbol | Komponent  | Mengde     |
|--------|--|------------|
| NC     | <b>qHCV negativ kontroll</b><br><i>HCV negativ defibrert human plasma inneholder gentamicin og 0,2 % natriumazid som konserveringsmidler.</i>                      | 5 x 0,8 ml |
| LPC    | <b>qHCV lav positiv kontroll</b><br><i>Uinfeksiøs HCV Armored RNA i defibrert human plasma inneholder gentamicin og 0,2 % natriumazid som konserveringsmidler.</i> | 5 x 0,8 ml |
| HPC    | <b>qHCV høy positiv kontroll</b><br><i>Uinfeksiøs HCV Armored RNA i defibrert human plasma inneholder gentamicin og 0,2 % natriumazid som konserveringsmidler.</i> | 5 x 0,8 ml |
|        | <b>Kontrollstrekkeetikett</b>  | —          |

## Nødvendige materialer som er tilgjengelige separat

**Merk:** Materialer tilgjengelig fra Hologic har oppførte katalognumre, med mindre annet er angitt.

| Materiale   | Kat. Ant.                |
|---|--------------------------|
| Panther-systemet  | —                        |
| Panther kjøringssett for sanntidsanalyser (bare for sanntidsanalyser)   | PRD-03455 (5 000 tester) |
| <i>Aptima Assay væskesett (også kalt universalt væskesett)</i>  | 303014 (1 000 tester)    |
| <i>inneholder Aptima vaskeløsning, Aptima buffer for deaktiveringsvæske og Aptima oljereagens</i>   |                          |
| <i>Multirørenheter (MTU)</i>  | 104772-02                |
| <i>Panther avfallsposesett</i>  | 902731                   |
| <i>Panther avfallsbeholder, deksel</i>  | 504405                   |
| Eller Panther-systemets kjøringssett  | 303096 (5 000 tester)    |
| <i>(når det kjøres ikke-sanntids TMA-analyser parallelt med sanntids TMA-analyser) inneholder MTU-er, avfallsposer, deksler for avfallsbeholdere, autodetekt og analysevæsker</i> |                          |
| Spisser, 1 000 µl ledende, væskefølsomme  | 10612513 (Tecan)         |
| Blekemiddel, 5 % til 7 % (0,7 M til 1,0 M) natriumhypoklorittløsning  | —                        |
| Pulverfrie engangshansker   | —                        |
| Ekstra ikke-penetrerbare hetter   | 103036A                  |
| Ekstra reagenshetter  |                          |
| <i>Rekonstitusjonsflasker for amplifikasjons- enzym- og akselerasjonsreagenser</i>  | CL0041 (100 hetter)      |
| <i>TCR-flasker</i>  | CL0040 (100 hetter)      |
| Plastbelagte overtrekk for laboratoriebenker  | —                        |
| Lofrie kluter   | —                        |
| Pipettor  | —                        |
| Spisser   | —                        |
| Alternativer for primære prøverør:  |                          |
| <i>13 mm x 100 mm</i>   | —                        |
| <i>13 mm x 75 mm</i>  | —                        |
| <i>16 mm x 100 mm</i>   | —                        |
| Sentrifuger   | —                        |
| Vorteksblender  | —                        |

## Alternative materialer

| Materiale  | Kat. Ant. |
|--|-----------|
| Alternativer for sekundærrør:  |           |
| 12 mm x 75 mm  | —         |
| 13 mm x 100 mm   | —         |
| 16 mm x 100 mm   | —         |
| Aptima alikvot prøverør (SAT-er(Specimen Aliquot Tubes)) (100 per pakke)   | 503762    |
| Transportrørhette (100 pakke)<br>hette for SAT   | 504415    |
| Aptima prøvefortynningsmiddel  | PRD-03003 |
| Aptima prøvefortynningsmiddelsett<br>inneholder prøvefortynning, 100 SAT-er og 100 hetter  | PRD-03478 |
| Overføringspipetter  | —         |
| Kommersielt tilgjengelige paneler, for eksempel:<br>HCV fra kvalitetskontroll for molekyler diagnostikk (QCMD) eller<br>SeraCare ACCURUN HCV-paneler | —         |
| Bomullspinner  | —         |
| Rørvugge   | —         |

## Panther-systemets testprosedyre

**Merk:** Se brukerhåndboken for Panther-systemet for mer informasjon om prosedyren.

### A. Klargjøre arbeidsområdet

1. Rengjør arbeidsflatene der reagenser skal tilberedes. Tørk av arbeidsflatene med 2,5 % til 3,5 % (0,35 M til 0,5 M) natriumhypoklorittløsning. La natriumhypoklorittløsningen være i kontakt med overflatene i minst 1 minutt og følg deretter opp med et avionisert (DI) vannskyll. Ikke la natriumhypoklorittløsningen tørke inn. Dekk til benkeflatene med rene, plastbelagte, absorberende laboratoriebenktrekk.
2. Rengjør separate arbeidsflatene der reagenser skal tilberedes. Bruk prosedyren beskrevet ovenfor (trinn A.1).
3. Rengjør eventuelle pipetter. Bruk rengjøringsprosedyrene beskrevet ovenfor (trinn A.1).

### B. Kalibrator- og kontrollklargjøring

La kalibratoren og kontrollene nå 15 °C til 30 °C før behandling slik:

1. Fjern kalibratoren og kontrollene fra oppbevaringen (-15 °C til -35 °C) og sett dem i 15 °C til 30 °C. Under tiningen skal hvert rør snus for å oppnå grundig blanding. Sørg for at rørrinnholdet er fullstendig tint før bruk.

**Alternativ.** Kalibrator- og kontrollrør kan plasseres på en rørvugge for å blande grundig. Sørg for at rørrinnholdet er fullstendig tint før bruk.

**Merk:** Unngå å danne for mye skum når du snur kalibrator og kontroller. Skum vil ødelegge Panther-systemets nivåføling.

2. Når rørrinnholdet er tint, tørkes utsiden på røret med en ren, tørr engangsklut.
3. For å hindre kontaminasjon skal rørene ikke åpnes på dette tidspunkt.

## C. Reagensrekonstitusjon/klargjøring av et nytt sett

**Merk:** Rekonstitusjon av reagenser skal utføres før du starter arbeidet på Panther-systemet.

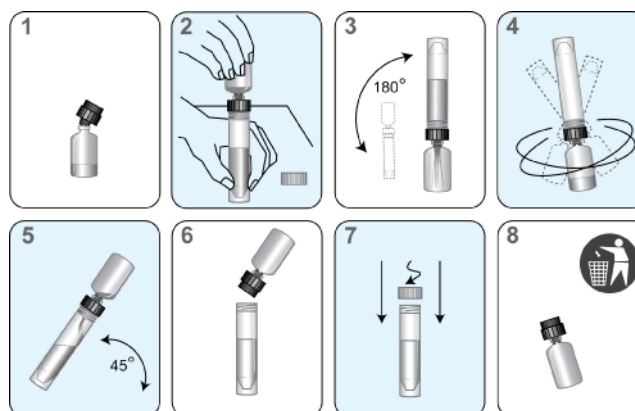
1. For å tilberede målinnfangingsreagensen (TCR), gjør følgende:
  - a. Fjern TCR fra oppbevaringen (2 °C til 8 °C). Kontroller partinummeret på TCR-flasken for å påse at det samsvarer med partinummeret på strekkodearket for masterpartiet.
  - b. Rist TCR-flasken grundig 10 ganger umiddelbart. La TCR-flasken forbli på 15 °C til 30 °C for å varmes i minst 45 minutter. I denne perioden skal TCR-flasken virvles og snus minst hvert 10 minutt.

**Alternativ.** TCR-flasken kan tilberedes på en rørvugge ved å følge disse instruksjonene: Fjern TCR fra oppbevaringen (2 °C til 8 °C) og rist umiddelbart grundig 10 ganger. Sett TCR-flasken på en rørvugge og la TCR stå i 15 °C til 30 °C for å varmes i minst 45 minutter.

- c. Sørg for at alt bunnfall er i løsningen og at de magnetiske partiklene oppslemmet før bruk.
2. For å rekonstituere amplifikasjons-, enzym- og promoterreagenser, utfør følgende:
  - a. Fjern de frysetørkede reagensene og tilsvarende rekonstitusjonsløsninger fra oppbevaring (2 °C til 8 °C). Koble hver rekonstitusjonsløsning med sin frysetørkede reagens.
  - b. Sørg for at rekonstitusjonsløsningen og den frysetørkede reagensen har samsvarende etikettfarger. Kontroller partinumrene på strekkodearket for masterpartiet for å sikre at riktige reagenser blir sammenkoblet.
    - i. Åpne det frysetørkede reagensglasset ved å fjerne metallforseglingen og gummistopperen.
    - ii. Sett enden med hakk inn i rekonstitusjonskragen (svart) på glasset (Figur 5, Trinn 1).
    - iii. Åpne den samsvarende rekonstitusjonsflasken og legg hetten på en ren, tildekket arbeidsflate.
    - iv. Sett flasken med rekonstitusjonsløsning på en stabil flate (for eksempel en benk). Deretter snus den frysetørkede reagensflasken over flasken med rekonstitusjonsløsning og sett kragen fast på flasken med rekonstitusjonsløsning (Figur 5, Trinn 2).
    - v. Snu de monterte flaskene langsomt (glass festet til flasken med løsning) for å la løsningen tømmes inn i hetteglasset (Figur 5, Trinn 3).
    - vi. Ta opp de monterte flaskene og virvle de monterte flaskene i minst 10 sekunder (Figur 5, Trinn 4).
    - vii. Vent i minst 30 minutter for å la den frysetørkede reagensen blandes med løsningen.
    - viii. Når den frysetørkede reagensen er blandet med løsningen, virvles de monterte flaskene i minst 10 sekunder og deretter vippes løsningen med hetteglasset frem og tilbake for å blande grundig.
  - c. Snu de monterte flaskene langsomt på nytt for å la all løsningen tømmes tilbake inn i rekonstitusjonsløsningsflasken (Figur 5, Trinn 5).
  - d. Fjern rekonstitusjonskragen og hetteglasset forsiktig (Figur 5, Trinn 6).
  - e. Sett hetten tilbake på flasken. Noter operatørens initialer og rekonstitusjonsdata på etiketten (Figur 5, Trinn 7).

f. Kasser rekonstitusjonskragen og hetteglasset (Figur 5, Trinn 8).

**Advarsel:** Unngå å lage mye skum når reagensene rekonstitueres. Skum vil ødelegge Panther-systemets nivåføling.



**Figur 5. Reagensrekonstitusjon**

#### D. Tilberedning av reagens for tidligere tilberedte reagenser

1. Ta ut de tidligere tilberedte reagensene fra oppbevaringen (2 °C til 8 °C).
2. Tidligere tilberedte amplifikasjons-, enzym- og akselerasjonsreagenser og TCR må komme opp til 15 °C til 30 °C før analyser starter.
3. For tidligere tilberedt TCR, utfør trinn C.1 ovenfor før du laster inn på systemet.
4. Virvle og snu amplifikasjons-, enzym- og promoterreagenser for å blande grundig før de lastes på systemet. Unngå å lage mye skum når reagensene snus.
5. Ikke fyll reagenser helt opp. Panther-systemet vil gjenkjenne og avvise flasker som har blitt overfylt.

#### E. Prøvehåndtering

1. Sørg for at behandlede prøver i primærrør eller ufortynnede prøver i sekundærrør er lagret korrekt i henhold til Prøvetaking og oppbevaring på side 7.
2. Sørg for at frosne prøver er skikkelig tint. Vorteks de tinte prøvene i 3 til 5 sekunder for å blande grundig.
3. La prøvene nå 15 °C til 30 °C før behandling. Se *Prøver ombord i Panther-systemet* for ytterligere ombordinformasjon.
4. Påse at hvert primære oppsamlingsrør inneholder inntil 1200 µl prøve eller at hvert SAT inneholder minst 700 µl prøve. Se tabellen i *Prøvetaking* på side 7 for å finne krav til dødvolum for hver type primær- og sekundærrør. Hvis det er nødvendig å fortynne prøven, se trinn E.6 nedenfor for mer informasjon.
5. Rett før prøvene lastes inn i prøvestativet, sentrifuger hver prøve ved 1 000 til 3 000g i 10 minutter. Ikke fjern hettene. Bobler i røret kan ødelegge Panther-systemets nivåføling.

Se *Klargjøre systemet*, trinn F.2 nedenfor for informasjon om lasting av stativet og fjerning av hetter.

6. Fortynn en plasma- eller serumprøve 1:3 i et SAT eller 1:100 i et sekundærrør. En prøve kan fortynnes i et sekundærrør for å teste i Panther-systemet.

⚠ Fortynning av prøver kan bare brukes for kvantitative resultater. Ikke fortynn prøver for diagnostiske resultater.



**Merk:** Hvis en prøve fortynnes, skal den testes umiddelbart etter fortynningen.

a. Fortynning av prøver med lavt volum

Volumet på prøvene kan økes til påkrevd minimum volum (700 µl) med Aptima prøvefortynningsmiddel. Prøver på minst 240 µl kan fortynnes med to deler prøvefortynningsmiddel (1:3) slik:

- i. Fyll 240 µl prøve i SAT.
- ii. Tilsett 480 µl Aptima-prøvefortynningsmiddel.
- iii. Sett hette på røret.
- iv. Vend røret forsiktig 5 ganger for å blande.

Prøver som er fortynnet 1:3 kan testes med 1:3-alternativet på Panther-systemet (se *brugerhåndboken for Panther-systemet* for mer informasjon). Programmet vil rapportere ufortynnede resultatet ved bruk av fortynningsfaktoren. Disse prøvene vil bli flagget som fortynnede prøver.

b. Fortynning av prøver med høy titer

Hvis resultatene av en prøve ligger over den øvre kvantifiseringsgrensen, kan den fortynnes med 99 deler Aptima prøvefortynningsmiddel (1:100) slik:

- i. Legg 30 µl prøve i SAT eller et sekundærrør.
- ii. Tilsett 2970 µl Aptima-prøvefortynningsmiddel.
- iii. Sett hette på røret.
- iv. Vend røret forsiktig 5 ganger for å blande.

Prøver som er fortynnet 1:100 kan testes med 1:100-alternativet på Panther-systemet (se *brugerhåndboken for Panther-systemet* for mer informasjon). Programmet vil rapportere ufortynnede resultatet ved bruk av fortynningsfaktoren. Disse prøvene vil bli flagget som fortynnede prøver.

**Merknad:** For fortynnede prøver med ublandede konsentrasjoner større enn ULOQ, vil resultatene bli rapportert med vitenskapelig merknad.

F. Klargjøre systemet

1. Sett opp systemet i henhold til instruksjonene i *brugerhåndboken for Panther-systemet* og *Prosedyrenotater*. Sørg for at det brukes reagensstativ med riktige størrelser og TCR-adaptore.
2. Last prøvene inn på prøvestativet. Utfør følgende trinn for hvert prøverør (prøve, og når nødvendig, kalibrator og kontroller):
  - a. Løsne en prøverørhette, men ikke fjern den ennå.

**Merk:** Vær spesielt forsiktig for å unngå kontaminasjon ved spredning av aerosoler. Løsne hettene på prøvene forsiktig.
  - b. Last prøverørene inn på prøvestativet.
  - c. Gjenta trinn 2.a og 2.b for hver gjenværende prøve.
  - d. Når prøven har blitt lastet inn på prøvestativet, fjernes og kastes hver prøverørhette på ett prøvestativ. For å unngå kontaminering skal enhette ikke føres over noen andre prøvestativer eller prøverør.
  - e. Om nødvendig, bruk en ny engangs overføringspipette for å fjerne eventuelle bobler eller skum.

- f. Når den siste hetten er fjernet, lastes prøvestativet inn i prøvebrønnen.

**Merk:** Hvis det kjøres andre analyser og prøvetyper samtidig, skal prøveholderen sikres før prøvestativet lastes inn i prøvebrønnen.

- g. Gjenta trinn 2.a til 2.f for neste prøvestativ.

## Prosedyrenotater

### A. Kalibrator- og kontroller

1. Den qHCV positive kalibratoren, den qHCV lavt positive kontrollen, qHCV høy positiv kontroll og qHCV negative kontrollrør kan lastet i hvilken som helst posisjon på prøvestativet i hvilken som helst prøvebrønnbane på Panther-systemet. Prøvepipetteringen vil begynne når en av følgende to forhold er oppfylt:
  - a. Kalibratoren og kontrollene blir nå behandlet av systemet.
  - b. Gyldige resultater for kalibratoren og kontrollene blir registrert i systemet.
2. Når kalibratoren og kontrollrørene har blitt pipettert og blir behandlet for Aptima HCV Quant Dx-analysesettet, kan prøvene bli testet med det tilknyttede, rekonstituerte settet i opp til 24 timer **med mindre**:
  - a. Kalibratorresultatene eller kontrollresultatene er ugyldige.
  - b. Det tilknyttede analysereagenssettet er fjernet fra systemet.
  - c. Det tilknyttede analysereagenssettet har overskredet stabilitetsgrensene.
3. Kalibratoren og hvert kontrollrør kan brukes én gang. Forsøk på å bruke røret mer enn én gang kan medføre behandlingsfeil.

### B. Hanskepulver

Som ved alle reagenssystemer, kan for mye pulver på noen hansker føre til kontaminering av åpne rør. Pulverfrie hansker anbefales.

## **Kvalitetskontroll**

En kjøring eller et prøveresultat kan ugyldiggjøres av en operatør hvis tekniske, operatørbaserte eller instrumentbaserte vanskeligheter observeres ved utførelsen av analysen og er dokumentert. I dette tilfellet skal prøvene testes på nytt.

### **Analysekalibrering**

For å generere gyldige resultater, skal en analysekalibrering utføres. En enkel positiv kalibrator kjøres tre ganger hver gang et reagenssett lastes inn på Panther-systemet. Når dette er etablert, er kalibreringen gyldig i opp til 24 timer. Programmet på Panther-systemet varsler operatøren når en kalibrering er nødvendig. Operatøren skanner en kalibreringskoeffisient som finnes på strekkodearket for masterpartiet som følger med hvert reagenssett.

Under behandlingen blir kriteriene for godkjenning av kalibratoren automatisk verifisert av programmet på Panther-systemet. Hvis mindre enn to av kalibratorreplikaterne er gyldige, vil programmet automatisk ugyldiggjøre kjøringen. Prøver i en ugyldiggjort kjøring skal testes på nytt med en ny tilberedt kalibrator og nye tilberedte kontroller.

### **Negative og positive kontroller**

For å generere gyldige resultater, skal et sett med analysekontroller testes. Ett replikat av den negative kontroll, den lave positive kontrollen og den høye positive kontrollen skal testes hver gang et reagenssett blir lastet inn på Panther-systemet. Når dette er etablert, er kontrollene gyldige i opp til 24 timer. Programmet på Panther-systemet varsler operatøren når en kalibrering kontroller er påkrevd.

Under behandlingen blir kriteriene for godkjenning av kontroller automatisk verifisert av programmet på Panther-systemet. For å generere gyldige resultater, skal den negative kontrollen gi resultatet "ikke detektert" og de positive kontrollene skal gi resultater innenfor forhåndsdefinerte parametre. Hvis noen av kontrollene har et ugyldig resultat, vil programmet automatisk ugyldiggjøre kjøringen. Prøver i en ugyldiggjort kjøring skal testes på nytt med en ny tilberedt kalibrator og nye tilberedte kontroller.

### **Intern kalibrator/intern kontroll**

Hver prøve inneholder en intern kalibrator/intern kontroll (IC). Under behandlingen blir godkjenneskriteriene for den interne kontrollen automatisk verifisert av programmet for Panther-systemet. Hvis et intern kontroll-resultat er ugyldig, blir prøveresultatet ugyldiggjort. Hver prøve med et gyldig intern kontroll-resultat skal testes på nytt for å få et gyldig resultat.

Panther-systemprogrammet er utarbeidet for å verifisere prosesser på en nøyaktig måte når prosedyrene utføres i henhold til instruksjonene i dette pakningsvedlegget og *brugerhåndboken for Panther-systemet*.

## Tolkning av resultater

Panther-systemet bestemmer automatisk konsentrasjonen av HCV RNA for prøver og kontroller ved å sammenligne resultatene med en kalibreringskurve. HCV RNA-konsentrasjoner rapporteres i IU/ml og  $\log_{10}$  IU/ml. Tolkningen av resultatene gis i Tabell 1. Hvis en fortykning på 1:3 eller 1:100 brukes til fortynnede prøver, beregner Panther-systemet automatisk HCV-konsentrasjonen for ublandede prøver ved å multiplisere den fortynnede konsentrasjonen med fortykningsfaktoren og fortynnede prøver blir merket som fortynnet.

**Merk:** For fortynnede prøver kan resultater som er oppført som "Ikke detektert" eller "< 10 detektert" genereres ved å fortynne en prøve med en konsentrasjon over, men nær, LOD eller LLOQ (grensen for deteksjon, eller laveste grense for kvantifisering). Det anbefales å samle inn og teste en annen ufortynnet prøve hvis et kvantitativt resultat ikke oppnås.

Panther-systemet gir ikke kvalitative resultater (det vil si "Reaktiv" eller "Ikke reaktiv") til diagnostisk bruk. Operatøren skal tolke den rapporterte HCV RNA-konsentrasjonen til kvalitative resultater (Tabell 1). Prøver med resultater som er oppført som "Ikke detektert" er ikke-reaktive for HCV RNA. Prøver med resultater oppført som "< 10 detektert" med resultater oppført innenfor det lineære området, og > 100 000 000 (øvre grense for kvantifisering) angir at HCV RNA var detektert og disse prøvene er reaktive for HCV RNA.

Tabell 1: Resultattolkning

| Rapporterte resultater av Aptima HCV Quant Dx-analysen |                                      | HCV RNA konsentrasjontolkning   | Brukerens diagnostiske kvalitative tolkning <sup>a</sup> |
|--|--------------------------------------|---|--|
| (IU/ml)  | Log <sub>10</sub> Verdi <sup>b</sup> |   |  |
| Ikke detektert   | Ikke detektert                       | HCV RNA ikke detektert.   | Ureaktiv for HCV RNA                                     |
| < 10 detektert   | < 1,00                               | HCV RNA er detektert, men med et nivå under LLOQ  | Reaktiv for HCV RNA                                      |
| 10 til 100 000 000                                     | 1,00 til 8,00                        | HCV RNA-konsentrasjonen ligger innenfor det lineære området på 10 til 100 000 000 IU/ml | Reaktiv for HCV RNA                                      |
| > 100 000 000  | > 8,00                               | HCV RNA-konsentrasjonen er over ULOQ  | Reaktiv for HCV RNA                                      |
| Ugyldig <sup>c</sup>                                   | Ugyldig <sup>c</sup>                 | Det var en feil i genereringen av resultatet. Prøven bør testes på nytt                 | Ugyldig  |

<sup>a</sup> En diagnostisk tolking kan gjøres fra enten serum- eller plasmaprøver som ikke har blitt fortynnet.

<sup>b</sup> Verdien blir avkortet til to desimalplasser.

<sup>c</sup> Ugyldige resultater vises med blåfarget skrift.

## Begrensninger

- Bruk av denne analysen er begrenset til personell som har opplæring i prosedyren. Hvis man unnlater å følge instruksjonene i dette pakningsinnlegget kan dette føre til feil resultater.
- Pålitelige resultater er avhengig av tilfredsstillende prøvetaking, transport, oppbevaring og behandling.

## Ytelse

### Grensen for deteksjon (LOD) ved bruk av WHOs 2. internasjonale standard

Grensen for deteksjon (LOD) i analysen defineres som konsentrasjonen av HCV RNA som blir detektert ved 95 % eller større sannsynlighet i henhold til CLSI EP17-A2.<sup>19</sup>

LOD ble bestemt ved å teste paneler med WHOs 2. internasjonale standard for hepatitt C-virus RNA (NIBSC 96/798 genotype 1) fortynnet i HCV negativt humant plasma og serum. Minimum 36 replikater av hver fortynning ble testet med hver av de tre reagenspartiene med minimum 108 replikater per fortynning. Probit-analysen ble utført for å generere forutsagte deteksjonsgrenser. LOD-verdier vist i Tabell 2 er resultater fra reagenspartiet med høyeste forutsagte deteksjonsgrense. LOD for Aptima HCV Quant Dx-analyse med bruk av WHOs 2. internasjonale standard er 4,3 IU/ml for plasma og 3,9 IU/ml for serum.

Tabell 2: Grensen for deteksjon ved bruk av WHOs 2. internasjonale standard for HCV

| Forutsagt<br>deteksjonsgrense | Konsentrasjon (IU/ml) |       |
|-------------------------------|-----------------------|-------|
|                               | Plasma                | Serum |
| 10 %                          | 0,3                   | 0,3   |
| 20 %                          | 0,4                   | 0,5   |
| 30 %                          | 0,5                   | 0,6   |
| 40 %                          | 0,7                   | 0,8   |
| 50 %                          | 0,9                   | 1,0   |
| 60 %                          | 1,1                   | 1,2   |
| 70 %                          | 1,5                   | 1,5   |
| 80 %                          | 2,0                   | 2,0   |
| 90 %                          | 3,0                   | 2,9   |
| 95 %                          | 4,3                   | 3,9   |

### Grensen for deteksjon på tvers av HCV genotyper

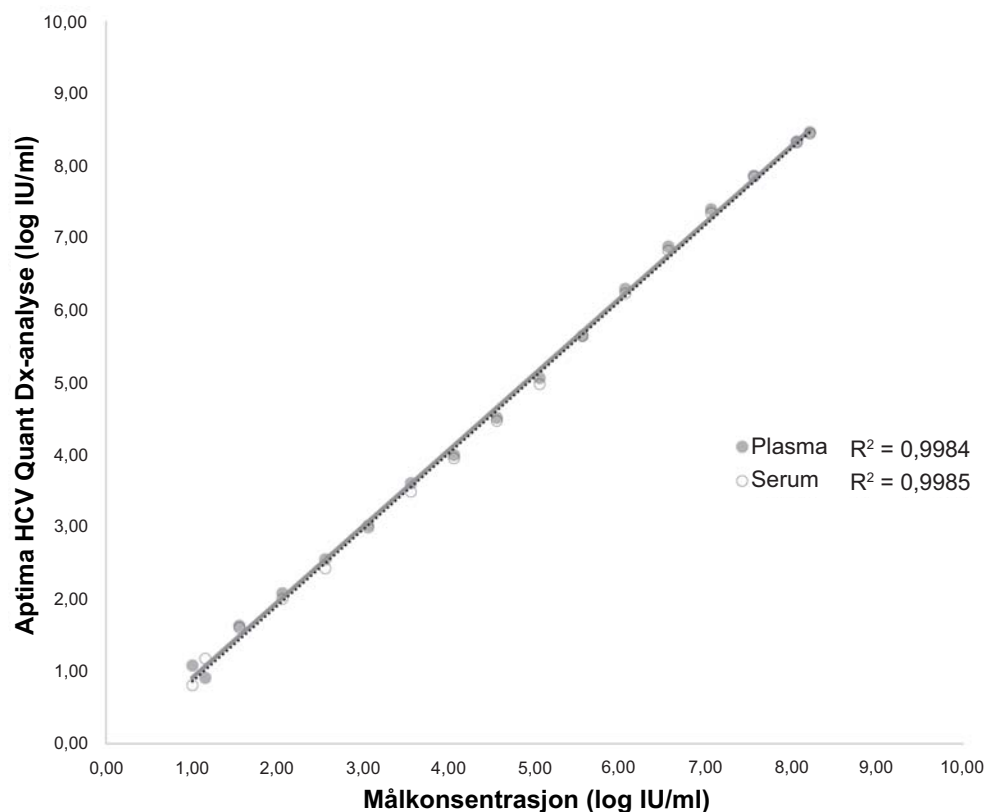
LOD ble bestemt ved å teste fortyndinger av HCV positive kliniske prøver for genotypene 1, 2, 3, 4, 5 og 6 i HCV negativt humant plasma og serum. Konsentrasjonene ble bestemt med en CE-merket komparatoranalyse. Minimum 20 replikater av hvert panel ble testet med hver av de tre reagenspartiene med minimum 60 replikater per element. Probit-analysen ble utført for å generere 50 % og 95 % forutsagte deteksjonsgrenser. LOD-verdier vist i Tabell 3 er resultater fra reagenspartiet med høyeste forutsagte deteksjonsgrense.

Tabell 3: Grensen for deteksjon på tvers av HCV genotyper med kliniske prøver

| Genotype | Forutsagt deteksjonsgrense | Konsentrasjon (IU/ml) |       |
|----------|----------------------------|-----------------------|-------|
|          |                            | Plasma                | Serum |
| 1        | 50 %                       | 0,8                   | 1,3   |
|          | 95 %                       | 3,8                   | 5,1   |
| 2        | 50 %                       | 1,0                   | 1,1   |
|          | 95 %                       | 2,8                   | 4,0   |
| 3        | 50 %                       | 1,1                   | 1,0   |
|          | 95 %                       | 4,3                   | 3,4   |
| 4        | 50 %                       | 1,3                   | 0,7   |
|          | 95 %                       | 4,8                   | 2,3   |
| 5        | 50 %                       | 0,8                   | 0,9   |
|          | 95 %                       | 2,1                   | 3,2   |
| 6        | 50 %                       | 0,6                   | 0,9   |
|          | 95 %                       | 3,9                   | 3,9   |

## Lineært område

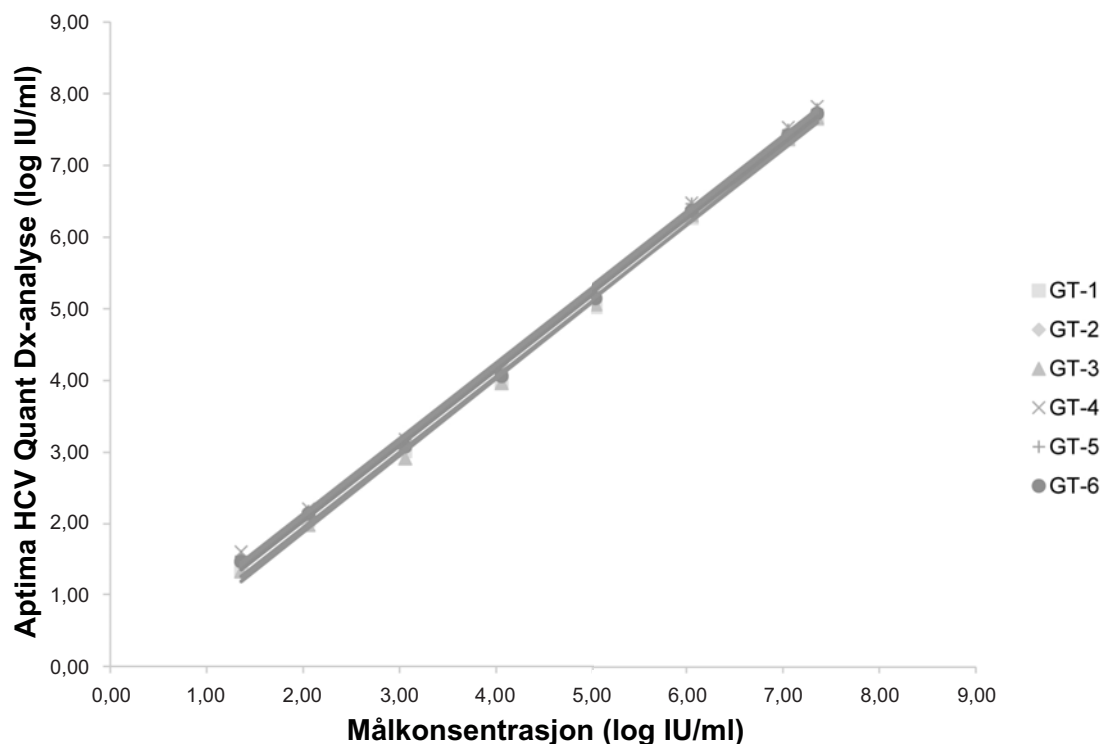
Det lineære området ble etablert ved å teste paneler med HCV Armored RNA fortynnet i HCV negativt humant plasma og serum i henhold til CLSI EP06-A.<sup>20</sup> Paneler, rangert i konsentrasjon fra 1,0 log IU/ml til 8,2 log IU/ml. Aptima HCV Quant Dx-analysen viste linearitet på tvers av testområdet med en øvre grense for kvantifisering (ULOQ) på 8,0 log IU/ml, som vist i Figur 6.



**Figur 6. Lineæritet i plasma og serum**

## Lineæritet på tvers av HCV genotyper

Den lineære responsen for genotyper 1, 2, 3, 4, 5 og 6 ble bekreftet ved å teste paneler med HCV transkript fortynnet i buffer med konsentrasjoner fra 1,36 log IU/ml til 7,36 log IU/ml. Testing ble utført på tre Panther-systemer med bruk av tre reagenspartier. Lineariteten ble vist på tvers av området som ble testet for alle genotyper som ble testet, som vist i Figur 7.



Figur 7. Linearitet på tvers av HCV genotype 1 til 6

## Nedre grense for kvantifisering med WHO's 2. internasjonale standard

Den nedre grensen for kvantifisering (LLOQ) er definert som den laveste konsentrasjon der HCV RNA kan kvantifiseres på en pålitelig måte innenfor en total feil, i henhold til CLSI EP17-A2.<sup>19</sup> Total feil ble anslått av to metoder: Total analyseringsfeil (TAE) = |bias| + 2SD, og total feil (TE) = SQRT(2) x 2SD. For å sikre nøyaktighet og presisjon i målingene, ble total feil i Aptima HCV Quant Dx-analyse innstilt på 1 log IU/ml (det vil si ved LLOQ er forskjellen mellom to målinger på mer enn 1 log IU/ml statistisk signifikant).



LLOQ ble bestemt ved å teste paneler med WHO 2. internasjonale standard for hepatitis C-virus RNA (NIBSC 96/798 genotype 1) fortynnet i HCV negativt humant plasma og serum. Minimum 36 replikater av hver fortynning ble testet med hver av de tre reagenspartiene med minimum 108 replikater per fortynning. Resultatene fra reagenspartiet der den høyeste konsentrasjonen er lik eller større enn LOD og oppfyller TE- og TAE-kravene, vises i Tabell 4 for plasma og Tabell 5 for serum. LLOQ for WHO 2. internasjonale standard er 7 IU/ml (0,82 log IU/ml) for plasma og 9 IU/ml (0,93 log IU/ml) for serum, som oppsummert i Tabell 6. LLOQ ble etablert på tvers av genotyper (se neste avsnitt, "Fastslå den nedre grense for kvantifisering (LLOQ) på tvers av HCV genotyper"). Disse genotypedataene etablerer den generelle LLOQ for analysen som 10 IU/ml.

Tabell 4: LLOQ bruker WHO 2. internasjonale standard for HCV fortynnet i plasma

| Reagensparti | Målkonsentrasjon | Målkonsentrasjon | Aptima HCV<br>Quant Dx | SD          | Bias        | Beregnet TE | Beregnet TAE |
|--------------|------------------|------------------|------------------------|-------------|-------------|-------------|--------------|
|              | (IU/ml)          | (log IU/ml)      | (log IU/ml)            | (log IU/ml) | (log IU/ml) | (log IU/ml) | (log IU/ml)  |
| 1            | 3                | 0,48             | 0,53                   | 0,30        | 0,05        | 0,85        | 0,65         |
|              | 6                | 0,78             | 0,73                   | 0,31        | -0,04       | 0,88        | 0,67         |
|              | 8                | 0,90             | 1,08                   | 0,23        | 0,18        | 0,65        | 0,64         |
| 2            | 3                | 0,48             | 0,37                   | 0,32        | -0,11       | 0,92        | 0,75         |
|              | 6                | 0,78             | 0,82                   | 0,27        | 0,04        | 0,78        | 0,59         |
|              | 8                | 0,90             | 0,96                   | 0,26        | 0,06        | 0,74        | 0,58         |
| 3            | 3                | 0,48             | 0,46                   | 0,25        | -0,01       | 0,71        | 0,52         |
|              | 6                | 0,78             | 0,76                   | 0,34        | -0,02       | 0,95        | 0,69         |
|              | 8                | 0,90             | 0,89                   | 0,26        | -0,01       | 0,73        | 0,53         |

SD = standardavvik

Tabell 5: LLOQ bruker WHO 2. internasjonale standard for HCV, fortynnet i serum

| Reagensparti | Målkonsentrasjon | Målkonsentrasjon | Aptima HCV<br>Quant Dx | SD          | Bias        | Beregnet TE | Beregnet TAE |
|--------------|------------------|------------------|------------------------|-------------|-------------|-------------|--------------|
|              | (IU/ml)          | (log IU/ml)      | (log IU/ml)            | (log IU/ml) | (log IU/ml) | (log IU/ml) | (log IU/ml)  |
| 1            | 3                | 0,48             | 0,65                   | 0,33        | 0,17        | 0,94        | 0,84         |
|              | 6                | 0,78             | 0,93                   | 0,32        | 0,15        | 0,90        | 0,79         |
|              | 8                | 0,90             | 1,08                   | 0,28        | 0,18        | 0,80        | 0,74         |
| 2            | 3                | 0,48             | 0,52                   | 0,36        | 0,04        | 1,02        | 0,76         |
|              | 6                | 0,78             | 0,89                   | 0,32        | 0,11        | 0,90        | 0,75         |
|              | 8                | 0,90             | 1,01                   | 0,21        | 0,11        | 0,60        | 0,53         |
| 3            | 3                | 0,48             | 0,47                   | 0,39        | -0,01       | 1,11        | 0,79         |
|              | 6                | 0,78             | 0,71                   | 0,30        | -0,06       | 0,86        | 0,67         |
|              | 8                | 0,90             | 0,95                   | 0,29        | 0,05        | 0,83        | 0,63         |

SD = standardavvik

Tabell 6: Sammendrag av LLOQ som bruker WHO's 2. internasjonale standard for HCV

| Reagensparti | Plasma LLOQ |             | Serum LLOQ  |             |
|--------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
|              | (log IU/ml) | (log IU/ml) | (log IU/ml) | (log IU/ml) |
| 1            | 0,73        | 5           | 0,93        | 9           |
| 2            | 0,82        | 7           | 0,89        | 8           |
| 3            | 0,76        | 6           | 0,71        | 5           |

### Den nedre grensen for kvantifisering (LLOQ) på tvers av HCV genotyper

LLOQ ble bestemt ved å teste fortyninger av HCV positive kliniske prøver for genotypene 1, 2, 3, 4, 5 og 6 i HCV negativt humant plasma og serum. Tildeling av konsentrasjonen for kliniske prøver ble bestemt med en CE-merket komparatoranalyse. Minimum 36 replikater av hvert panelelement ble testet med hver av de tre reagenspartiene for et minimum på 108 replikater per panelelement. Resultatene fra reagenspartiet der den høyeste konsentrasjonen er lik eller større enn LOD og oppfyller TE- og TAE-kravene, vises i Tabell 7 for plasma og Tabell 8 for serum. LLOQ for genotype 1 til 6 i plasma og serum er oppsummert i Tabell 9. Disse etablerte den generelle LLOQ for analysen som 10 IU/ml.

Tabell 7: Bestemmelse av LLOQ på tvers av genotyper i plasma

| Genotype | Målkonsentrasjon | Målkonsentrasjon | Aptima HCV<br>Quant Dx | SD          | Bias        | Beregnet TE | Beregnet TAE |
|----------|------------------|------------------|------------------------|-------------|-------------|-------------|--------------|
|          | (IU/ml)          | (log IU/ml)      | (log IU/ml)            | (log IU/ml) | (log IU/ml) | (log IU/ml) | (log IU/ml)  |
| 1        | 3                | 0,48             | 0,65                   | 0,38        | 0,17        | 1,08        | 0,94         |
|          | 6                | 0,78             | 0,88                   | 0,35        | 0,11        | 1,00        | 0,82         |
|          | 8                | 0,90             | 0,99                   | 0,24        | 0,09        | 0,68        | 0,56         |
| 2        | 3                | 0,48             | 0,63                   | 0,40        | 0,16        | 1,13        | 0,95         |
|          | 4                | 0,60             | 0,76                   | 0,29        | 0,15        | 0,81        | 0,73         |
|          | 6                | 0,78             | 1,12                   | 0,30        | 0,34        | 0,86        | 0,94         |
| 3        | 6                | 0,78             | 0,52                   | 0,30        | -0,26       | 0,85        | 0,86         |
|          | 10               | 1,00             | 0,80                   | 0,21        | -0,20       | 0,59        | 0,62         |
|          | 12               | 1,08             | 0,89                   | 0,26        | -0,19       | 0,74        | 0,71         |
| 4        | 8                | 0,90             | 0,61                   | 0,39        | -0,29       | 1,11        | 1,07         |
|          | 10               | 1,00             | 0,82                   | 0,31        | -0,18       | 0,87        | 0,80         |
|          | 12               | 1,08             | 1,01                   | 0,29        | -0,07       | 0,83        | 0,65         |
| 5        | 3                | 0,48             | 0,57                   | 0,37        | 0,10        | 1,06        | 0,85         |
|          | 6                | 0,78             | 0,87                   | 0,31        | 0,09        | 0,89        | 0,72         |
|          | 10               | 1,00             | 1,15                   | 0,16        | 0,15        | 0,44        | 0,46         |
| 6        | 2                | 0,30             | 0,66                   | 0,36        | 0,36        | 1,02        | 1,08         |
|          | 3                | 0,48             | 0,79                   | 0,28        | 0,31        | 0,80        | 0,87         |
|          | 6                | 0,78             | 1,14                   | 0,26        | 0,36        | 0,74        | 0,89         |

SD = standardavvik

Tabell 8: Bestemmelse av LLOQ på tvers av genotyper i serum

| Genotype | Målkonsentrasjon | Målkonsentrasjon | Aptima HCV<br>Quant Dx | SD          | Bias        | Beregnet TE | Beregnet TAE |
|----------|------------------|------------------|------------------------|-------------|-------------|-------------|--------------|
|          | (IU/ml)          | (log IU/ml)      | (log IU/ml)            | (log IU/ml) | (log IU/ml) | (log IU/ml) | (log IU/ml)  |
| 1        | 6                | 0,78             | 0,75                   | 0,36        | -0,03       | 1,02        | 0,75         |
|          | 8                | 0,90             | 0,88                   | 0,32        | -0,02       | 0,89        | 0,65         |
|          | 10               | 1,00             | 1,04                   | 0,29        | 0,04        | 0,81        | 0,61         |
| 2        | 3                | 0,48             | 0,48                   | 0,35        | 0,00        | 0,99        | 0,70         |
|          | 6                | 0,78             | 0,80                   | 0,31        | 0,02        | 0,86        | 0,63         |
|          | 10               | 1,00             | 1,04                   | 0,25        | 0,04        | 0,72        | 0,54         |
| 3        | 6                | 0,78             | 0,45                   | 0,25        | -0,33       | 0,72        | 0,84         |
|          | 10               | 1,00             | 0,67                   | 0,22        | -0,33       | 0,63        | 0,78         |
|          | 12               | 1,08             | 0,92                   | 0,19        | -0,16       | 0,54        | 0,54         |
| 4        | 1                | 0,00             | 0,19                   | 0,27        | 0,19        | 0,77        | 0,73         |
|          | 2                | 0,30             | 0,65                   | 0,32        | 0,35        | 0,91        | 0,99         |
|          | 3                | 0,48             | 0,65                   | 0,34        | 0,17        | 0,96        | 0,85         |
| 5        | 3                | 0,46             | 0,48                   | 0,37        | 0,02        | 1,04        | 0,76         |
|          | 6                | 0,76             | 0,72                   | 0,29        | -0,04       | 0,81        | 0,61         |
|          | 9                | 0,94             | 1,04                   | 0,27        | 0,10        | 0,77        | 0,65         |
| 6        | 3                | 0,48             | 0,58                   | 0,37        | 0,11        | 1,04        | 0,84         |
|          | 6                | 0,78             | 0,99                   | 0,22        | 0,21        | 0,61        | 0,64         |
|          | 10               | 1,00             | 1,25                   | 0,22        | 0,25        | 0,63        | 0,70         |

SD = standardavvik

Tabell 9: Sammendrag av LLOQ på tvers av genotyper i plasma og serum

| HCV genotype | Plasma LLOQ |             | Serum LLOQ  |             |
|--------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
|              | (log IU/ml) | (log IU/ml) | (log IU/ml) | (log IU/ml) |
| 1            | 0,88        | 8           | 0,88        | 8           |
| 2            | 0,76        | 6           | 0,80        | 6           |
| 3            | 0,80        | 6           | 0,67        | 5           |
| 4            | 0,82        | 7           | 0,65        | 4           |
| 5            | 0,87        | 7           | 0,72        | 5           |
| 6            | 0,79        | 6           | 0,99        | 10          |

## Nøyaktighet

For å vurdere nøyaktigheten, ble det laget et 10 elements panel ved å fortynne HCV positive kliniske prøver eller tilsette Armored RNA i HCV negativ plasma og serum. Panelet ble testet av tre operatører som brukte tre reagenspartier på tre Panther-systemer i løpet av 21 dager.

Tabell 10 viser nøyaktigheten i analyseresultatene (i log IU/ml) mellom instrumenter, mellom operatører, mellom partier, mellom kjøring, innen kjøring og totalt. Total variabilitet var  $\leq 13,31$  % på tvers av alle panelelementene, hovedsakelig på grunn av innenfor kjøring-variabilitet (det vil si tilfeldig feil).

Tabell 10: Nøyaktigheten i Aptima HCV Quant Dx-analyse

| Matrise | N                | Gjennomsnittlig konsentrasjon (log IU/ml) | Inter-instrument |      | Inter-operatør |      | Inter-parti |      | Inter-kjøring |      | Intra-kjøring |       | Total |       |
|---------|------------------|---|------------------|------|----------------|------|-------------|------|---------------|------|---------------|-------|-------|-------|
|         |                  |   | SD               | CV % | SD             | CV % | SD          | CV % | SD            | CV % | SD            | CV %  | SD    | CV %  |
| Plasma  | 98 <sup>a</sup>  | 1,23                                      | 0,00             | 0,00 | 0,00           | 0,00 | 0,04        | 3,35 | 0,06          | 4,54 | 0,12          | 9,84  | 0,14  | 11,34 |
| Plasma  | 162              | 2,06                                      | 0,05             | 2,23 | 0,00           | 0,00 | 0,07        | 3,20 | 0,03          | 1,47 | 0,10          | 4,91  | 0,14  | 6,88  |
| Plasma  | 162              | 3,02                                      | 0,03             | 0,89 | 0,01           | 0,24 | 0,04        | 1,47 | 0,01          | 0,33 | 0,09          | 3,08  | 0,11  | 3,77  |
| Plasma  | 162              | 4,87                                      | 0,00             | 0,00 | 0,00           | 0,00 | 0,03        | 0,60 | 0,04          | 0,86 | 0,06          | 1,13  | 0,10  | 2,04  |
| Plasma  | 162              | 7,16                                      | 0,02             | 0,21 | 0,01           | 0,20 | 0,04        | 0,52 | 0,00          | 0,00 | 0,05          | 0,75  | 0,09  | 1,27  |
| Serum   | 132 <sup>a</sup> | 1,27                                      | 0,00             | 0,00 | 0,00           | 0,00 | 0,07        | 5,16 | 0,00          | 0,00 | 0,15          | 12,17 | 0,17  | 13,31 |
| Serum   | 162              | 2,17                                      | 0,02             | 0,99 | 0,04           | 1,71 | 0,07        | 3,01 | 0,05          | 2,15 | 0,08          | 3,53  | 0,12  | 5,61  |
| Serum   | 162              | 3,09                                      | 0,02             | 0,67 | 0,00           | 0,00 | 0,06        | 1,79 | 0,03          | 0,90 | 0,07          | 2,26  | 0,11  | 3,44  |
| Serum   | 161              | 4,86                                      | 0,00             | 0,00 | 0,04           | 0,78 | 0,08        | 1,67 | 0,00          | 0,00 | 0,08          | 1,72  | 0,13  | 2,65  |
| Serum   | 162              | 7,16                                      | 0,00             | 0,00 | 0,05           | 0,70 | 0,05        | 0,73 | 0,02          | 0,31 | 0,04          | 0,55  | 0,10  | 1,35  |

CV = variasjonskoeffisient, SD = standardavvik

<sup>a</sup> Antall gyldige resultater innenfor det lineære området i analysen.

**Merk:** Variabilitet fra noen faktorer kan være numerisk negative, noe som kan forekomme hvis variabiliteten forårsaket av disse faktorene er svært liten. Når dette skjer, vises SD og CV som 0.

## Potensielt forstyrrende stoffer

Mottakeligheten av Aptima HCV Quant Dx-analysen for forstyrrelser ved forhøyede nivåer av endogene stoffer eller av legemidler ofte foreskrevet for å HCV-infiserte personer ble evaluert. HCV negative plasmaprøver og prøver tilsatt HCV til en konsentrasjon på 3,3 log IU/ml av HCV RNA ble testet.

Ingen interferens i analyseytelsen ble observert i nærvær av albumin (90 mg/ml), hemoglobin (5 mg/ml), triglycider (30 mg/ml), eller ukonjugert bilirubin (0,2 mg/ml).

Kliniske plasmaprøver fra pasienter med forhøyede nivåer av definerte stoffer eller fra pasienter med sykdommer opplistet i Tabell 11 ble testet med Aptima HCV Quant Dx-analysen. Ingen interferens i analyseytelsen ble observert.

Tabell 11: Testede kliniske prøvetyper

| <b>Kliniske prøvetyper</b> |   |
|----------------------------|---|
| 1                          | Rheumatoid faktor (RF)                  |
| 2                          | Antinukleært antistoff (ANA)            |
| 3                          | Anti-Jo-1 antistoff (JO-1)              |
| 4                          | Systemisk lupus erythematosus (SLE)     |
| 5                          | Revmatoid artritt (RA)                  |
| 6                          | Multippel sklerose (MS)                 |
| 7                          | Hyperglobulinemi                        |
| 8                          | Forhøyet alaninaminotransferase (ALT)   |
| 9                          | Forhøyet aspartataminotransferase (AST) |
| 10                         | Alkoholisk levercirrhose (AC)           |
| 11                         | Multippel myelom (MM)                   |
| 12                         | Lipemisk (forhøyet lipid)               |
| 13                         | Ikterisk (forhøyet bilirubin)           |
| 14                         | Hemolysert (forhøyet hemoglobin)        |
| 15                         | Forhøyet proteinalbumin                 |
| 16                         | HBV-antistoffer                         |
| 17                         | HIV-1 antistoffer                       |
| 18                         | HIV-2 antistoffer                       |

Ingen interferens i ytelsen av analysen ble observert i nærvær av eksogene stoffer oppført i Tabell 12 med konsentrasjoner på minst tre ganger  $C_{maks}$  (menneskelig plasma).

Tabell 12: Eksogene stoffer

| Eksogene stoffer samlet | Eksogene stoffer testet  |
|-------------------------|--|
| 1                       | Telaprevir, clarithromycin, interferon alfa-2a, dolutegravir, azithromycin                   |
| 2                       | Simeprevir, sofosbuvir   |
| 3                       | Efavirenz, boceprevir, pegylated interferon alfa-2b, emtricitabine, raltegravir, amoxicillin |
| 4                       | Abacavir sulfate, ribavirin, dasabuvir, rilpivirine, rifampin/rifampicin                     |
| 5                       | Lopinavir, tenofovir, lamivudin, valganciclovir  |
| 6                       | Heparin, EDTA, natriumcitrat   |

## Spesifisitet

Spesifisitet ble bestemt med 198 friske og 538 frosne HCV negative kliniske prøver. Totalt 370 plasmaprøver og 366 serumprøver ble testet. Spesifisiteten ble beregnet som prosentdel av HCV-negative prøver med resultatene "Ikke detektert". HCV RNA ble ikke detektert i alle 736 prøvene. Spesifisiteten var 100 % (736/736, 95 % KI: 99,6-100 %).

Tabell 13: Spesifisitet i plasma og serum kliniske prøver

|                               | Frisk plasma        | Frossen plasma      | Plasma totalt       | Friskt serum        | Frossen serum       | Serum totalt        | Kombinert           |
|-------------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| Gyldige replikater (n)        | 100                 | 270                 | 370                 | 98                  | 268                 | 366                 | 736                 |
| Ikke detektert                | 100                 | 270                 | 370                 | 98                  | 268                 | 366                 | 736                 |
| <b>Spesifisitet (95 % KI)</b> | 100 %<br>(97,1-100) | 100 %<br>(98,9-100) | 100 %<br>(99,2-100) | 100 %<br>(97,0-100) | 100 %<br>(98,9-100) | 100 %<br>(99,2-100) | 100 %<br>(99,6-100) |

KI = konfidensintervall

## Analytisk spesifisitet

Potensiell kryssreaktivitet av patogenene oppført i Tabell 14 var evaluert i HCV negativ menneskelig plasma i nærvær eller fravær av 3,3 log IU/ml HCV. Ingen kryssreaktivitet ble observert. Ingen interferens ble observert i nærvær av patogener.

Tabell 14: Patogener testet for analytisk spesifisitet

| Patogen  | Konsentrasjon |                          | Patogen                            | Konsentrasjon |                     |
|--|---------------|--------------------------|------------------------------------|---------------|---------------------|
| Hepatitt A-virus                                 | 100 000       | kopier/ml                | <i>Corynebacterium diphtheriae</i> | 1 000 000     | CFU/ml <sup>f</sup> |
| Hepatitt B-virus (HBV)                           | 100 000       | IU/ml <sup>a</sup>       | <i>Streptococcus pneumoniae</i>    | 1 000 000     | CFU/ml              |
| Hepatitt G-virus                                 | 1 470         | PFU/ml <sup>b</sup>      | <i>Staphylococcus aureus</i>       | 1 000 000     | CFU/ml              |
| HIV-1  | 100 000       | kopier/ml                | <i>Propionibacterium acnes</i>     | 1 000 000     | CFU/ml              |
| HIV-2  | 100 000       | PFU/ml                   | <i>Staphylococcus epidermidis</i>  | 1 000 000     | CFU/ml              |
| Herpes simplex-virus 1 (HSV-1)                   | 100 000       | PFU/ml                   | <i>Candida albicans</i>            | 1 000 000     | CFU/ml              |
| Herpes simplex-virus 2 (HSV-1)                   | 100 000       | PFU/ml                   | <i>Neisseria gonorrhoeae</i>       | 1 000 000     | CFU/ml              |
| Human herpes virus 6B                            | 100 000       | kopier/ml                | <i>Chlamydia trachomatis</i>       | 1 000 000     | IFU/ml <sup>g</sup> |
| Human herpes virus 8                             | 2 667         | TCID50 U/ml <sup>c</sup> | <i>Trichomonas vaginalis</i>       | 1 000 000     | celler/ml           |
| Human T-celle lymfotropisk virus-type 1 (HTLV-1) | 100 000       | vp/ml <sup>d</sup>       |                                    |               |                     |
| Human T-celle lymfotropisk virus-type 2 (HTLV-2) | 100 000       | vp/ml                    |                                    |               |                     |
| Parvovirus B19                                   | 100 000       | (IU/ml)                  |                                    |               |                     |
| Vestnilvirus                                     | 100 000       | PFU/ml                   |                                    |               |                     |
| Denguevirus 1                                    | 100 000       | PFU/ml                   |                                    |               |                     |
| Denguevirus 2                                    | 100 000       | PFU/ml                   |                                    |               |                     |
| Denguevirus 3                                    | 100 000       | PFU/ml                   |                                    |               |                     |
| Denguevirus 4                                    | 100 000       | PFU/ml                   |                                    |               |                     |
| Cytomegalovirus                                  | 100 000       | PFU/ml                   |                                    |               |                     |
| Epstein-Barr-virus                               | 100 000       | kopier/ml                |                                    |               |                     |
| Rubella-virus                                    | 100 000       | PFU/ml                   |                                    |               |                     |
| Human papillomavirus                             | 100 000       | celler/ml                |                                    |               |                     |
| Adenovirus type 5                                | 100 000       | TCID50 U/ml              |                                    |               |                     |
| Influenza A-virus                                | 100 000       | TCID50 U/ml              |                                    |               |                     |
| Japansk encefalittvirus                          | IA            | IA                       |                                    |               |                     |
| St. Louis encefalittvirus                        | IA            | IA                       |                                    |               |                     |
| Murray Valley encefalittvirus                    | 2 643         | LD/ml <sup>e</sup>       |                                    |               |                     |
| Gulfebervirus                                    | 100 000       | celler/ml                |                                    |               |                     |

<sup>a</sup>IU/ml = Internasjonale enheter per ml

<sup>b</sup>PFU/ml = Plakkdannende enheter per ml

<sup>c</sup>TCID50 U/ml = Vevkultur infektive doseenheter per ml

<sup>d</sup>vp/ml = Virale partikler per ml

<sup>e</sup>LD/ml = Dødelig dose per ml

<sup>f</sup>CFU/ml = Kolonidannende enheter per ml

<sup>g</sup>IFU/ml = Inklusjondannende enheter per ml

## Kliniske prøver som inneholder andre viruser enn HCV

Patogenene oppført i Tabell 15 ble evaluert ved å innhente individuelt naturlig infiserte kliniske prøver. Disse ble testet i nærvær eller fravær av 3,3 log IU/ml HCV RNA. Ingen krysreaktivitet ble observert. Ingen interferens ble observert.

Tabell 15: Kliniske prøver testet for analytisk spesifisitet

| Mikroorganisme   | Matrise | N (donorer) |
|------------------|---------|-------------|
| HBV              | serum   | 5           |
| HBV              | plasma  | 5           |
| Denguevirus      | plasma  | 10          |
| Hepatitt A-virus | plasma  | 10          |
| HTLV-1           | plasma  | 10          |
| HTLV-2           | plasma  | 10          |
| HIV-1            | plasma  | 10          |
| Vestnilvirus     | plasma  | 10          |

## Repeterbarhet ved kliniske prøver

Repeterbarhet ble evaluert ved å teste tre replikater av naturlig infisert HCV positive plasma og serum kliniske prøver. Gjennomsnittlig konsentrasjon og standardavvik for plasma- og serumprøvene som ble testet vises i Tabeller 16 og 17.

Tabell 16: Repeterbarhet ved kliniske plasmaprøver

| Plasmaprøve-ID | Gjennomsnittlig konsentrasjon (log IU/ml) | SD   |
|----------------|---|------|
| 1              | 1,68                                      | 0,05 |
| 2              | 1,69                                      | 0,17 |
| 3              | 1,73                                      | 0,06 |
| 4              | 1,73                                      | 0,06 |
| 5              | 1,84                                      | 0,05 |
| 6              | 2,30                                      | 0,10 |
| 7              | 2,71                                      | 0,09 |
| 8              | 2,80                                      | 0,06 |
| 9              | 3,22                                      | 0,04 |
| 10             | 3,80                                      | 0,05 |
| 11             | 4,12                                      | 0,08 |
| 12             | 4,21                                      | 0,11 |
| 13             | 4,90                                      | 0,14 |
| 14             | 6,94                                      | 0,11 |
| 15             | 7,05                                      | 0,04 |

Tabell 17: Repeterbarhet ved kliniske serumprøver

| Serumprøve-ID | Gjennomsnittlig konsentrasjon (log IU/ml) | SD   |
|---------------|---|------|
| 1             | 1,67                                      | 0,07 |
| 2             | 1,74                                      | 0,10 |
| 3             | 1,86                                      | 0,15 |
| 4             | 1,67                                      | 0,07 |
| 5             | 2,00                                      | 0,07 |
| 6             | 2,51                                      | 0,08 |
| 7             | 3,12                                      | 0,23 |
| 8             | 3,29                                      | 0,02 |
| 9             | 3,70                                      | 0,18 |
| 10            | 3,99 <sup>a</sup>                         | 0,13 |
| 11            | 4,35                                      | 0,05 |
| 12            | 5,48                                      | 0,12 |
| 13            | 5,74                                      | 0,07 |
| 14            | 5,80                                      | 0,13 |
| 15            | 7,15                                      | 0,10 |

<sup>a</sup>Resultat fra to av tre replikater som ble testet. Ett avvikende replikat fjernet.



## Prøvefortynning med prøvefortynningsmiddel

For å vurdere gjenvinning av HCV RNA i prøver fortynnet med Aptima prøvefortynningsmiddel, ble plasma- og serumprøver som spredte seg over det lineære området fortynnet i forholdet 1:3 med Aptima prøvefortynningsmiddel. I tillegg ble høy-titer naturlig infiserte kliniske prøver og Armored RNA-tilsatte prøver med konsentrasjoner over ULOQ, fortynnet i forholdet 1:100 med Aptima prøvefortynningsmiddel. Hver prøve ble testet ufortynnet og fortynnet (1:3 eller 1:100) tre ganger. Forskjellene mellom den gjennomsnittlige rapporterte konsentrasjonen (fortynningsfaktor tilsatt det fortynnede prøveresultatet) og gjennomsnittlig ufortynnet konsentrasjon vises i Tabell 18 for plasma og Tabell 19 for serum. Prøvekonsentrasjonene ble nøyaktig gjenopprettet i de fortynnede prøvene.

Tabell 18: Prøvefortynning med Aptima prøvefortynningsmiddel - Plasma

| Fortynning | Gjennomsnittlig ufortynnet konsentrasjon (log IU/ml) | Gjennomsnittlig ufortynnet konsentrasjon <sup>a</sup> (log IU/ml) | Forskjell |
|------------|--|---|-----------|
| 1:3        | 1,68   | 1,89  | -0,21     |
|            | 1,69   | 1,69  | 0,00      |
|            | 1,73   | 2,11  | -0,38     |
|            | 1,73   | 1,78  | -0,05     |
|            | 1,84   | 1,80  | 0,04      |
|            | 2,30   | 2,23  | 0,07      |
|            | 2,71   | 2,76  | -0,05     |
|            | 2,80   | 2,76  | 0,04      |
|            | 3,22   | 3,28  | -0,06     |
|            | 3,80   | 3,71  | 0,09      |
|            | 4,12   | 4,06  | 0,06      |
|            | 4,21   | 4,07  | 0,14      |
|            | 4,90   | 4,68  | 0,22      |
|            | 6,94   | 6,72  | 0,22      |
| 1:100      | 7,05   | 6,59  | 0,46      |
|            | > 8,00 (8,45) <sup>b</sup>                           | 8,38  | 0,07      |

<sup>a</sup> Rapportert konsentrasjon er verdien som beregnes etter at fortynningsfaktoren har blitt brukt.

<sup>b</sup> Anriket prøve.

**Merk:** Alle resultater > 8,00 log IU/ml ble anslått med tilleggsanalyse.

Tabell 19: Prøvefortynning med Aptima prøvefortynningsmiddel - Serum

| Fortynningsfaktor | Gjennomsnittlig ufortynnet konsentrasjon<br>(log IU/ml) | Gjennomsnittlig ufortynnet konsentrasjon <sup>a</sup><br>(log IU/ml) | Forskjell |
|-------------------|---|--|-----------|
| 1:3               | 1,67  | 1,85   | -0,18     |
|                   | 1,74  | 1,72   | 0,02      |
|                   | 1,86  | 1,66   | 0,20      |
|                   | 1,67  | 1,85   | -0,18     |
|                   | 2,00  | 1,91   | 0,09      |
|                   | 2,51  | 2,37   | 0,14      |
|                   | 3,12  | 3,01   | 0,11      |
|                   | 3,29  | 3,35   | -0,06     |
|                   | 3,70  | 3,53   | 0,17      |
|                   | 3,99 <sup>c</sup>                                       | 3,87   | 0,12      |
|                   | 4,35  | 4,30   | 0,05      |
|                   | 5,48  | 5,25   | 0,23      |
|                   | 5,74  | 5,62   | 0,12      |
|                   | 5,80  | 5,50   | 0,30      |
|                   | 7,15  | 6,86   | 0,29      |
| 1:100             | 7,15  | 6,65   | 0,50      |
|                   | > 8,00 (8,44) <sup>b</sup>                              | 8,46   | -0,02     |

<sup>a</sup> Rapportert konsentrasjon er verdien som beregnes etter at fortynningsfaktoren har blitt brukt.

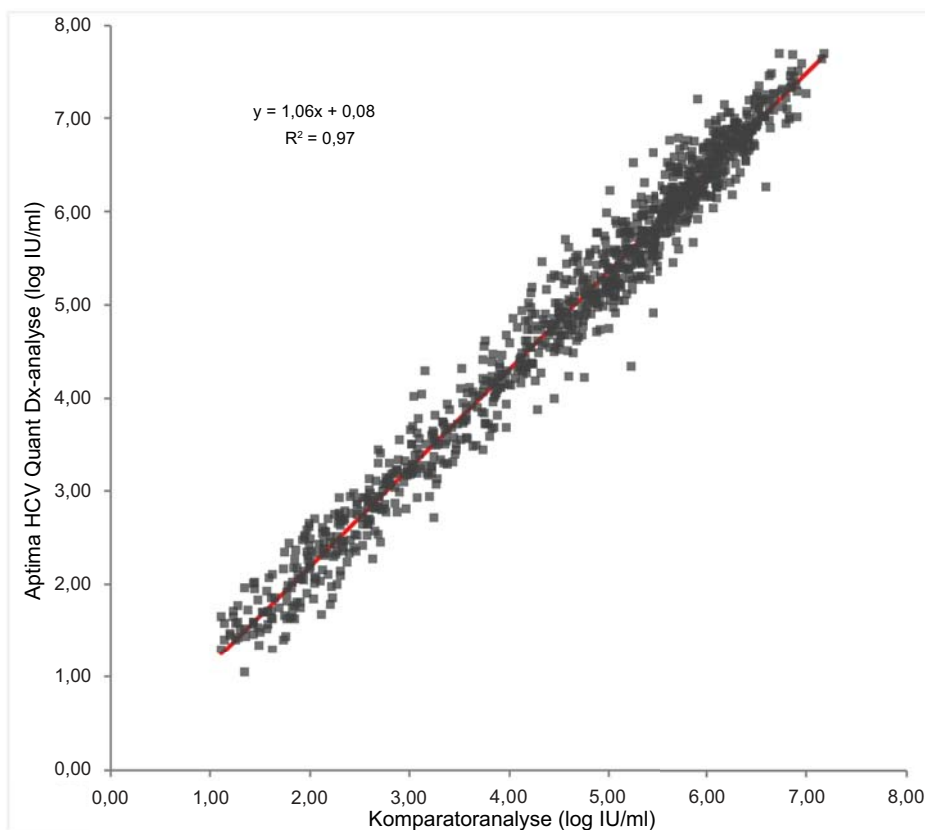
<sup>b</sup> Anriket prøve.

<sup>c</sup> Resultat fra to av tre replikater som ble testet. Ett avvikende replikat fjernet.

**Merk:** Alle resultater > 8,00 log IU/ml ble anslått med tilleggsanalyse.

## Metodekorrelasjon

Ytelsen til Aptima HCV Quant Dx-analyse ble vurdert mot en CE-merket komparatoranalyse ved å teste uforynnede kliniske prøver fra HCV-infiserte pasienter på tre Panther-systemer som brukte fire reagenspartier. Totalt 1 058 plasma- og serumprøver (872 plasma, 186 serum) på tvers av alle HCV-genotyper innen det lineære området felles for begge analysene, ble brukt for den lineære regresjonen som vist i Figur 8.



**Figur 8. Korrelasjon mellom Aptima HCV Quant Dx-analyse og sammenligningsanalyse**

## Diagnostisk samsvar

For å vurdere diagnostisk samsvar, ble 227 plasma- og serumprøver fra HCV positive personer testet med Aptima HCV Quant Dx-analyse og en komparator CE-merket kvalitativ analyse. Alle resultater som ga et kvantifiserbart eller detekterbart resultat ble kategorisert om "detektert". Ethvert resultat av målet som ikke var detektert, ble kategorisert som "Målet ikke detektert". Diagnostisk samsvar mellom analyser var 100 % som vist i Tabell 20.

*Tabell 20: Diagnostisk samsvar mellom Aptima HCV Quant Dx-analyse og komparatoranalyse*

|                   |                      | Aptima HCV Quant Dx-analyse |                      |
|-------------------|----------------------|-----------------------------|----------------------|
|                   |                      | Detektert                   | Målet ikke detektert |
| Komparatoranalyse | Detektert            | 99                          | 0                    |
|                   | Målet ikke detektert | 0                           | 128                  |

## Overføring

For å fastslå at Panther-systemet minimerer risikoen for falske positive resultatet fra overføringskontaminering, ble det utført en studie med tilsatte paneler på tre Panther-systemer. Overføringen ble vurdert med høy titer Armored RNA tilsatt plasmaprøver (7 log IU/ml) innsatt mellom HCV negative prøver i et sjakkbrettmønster. Testingen ble utført over femten kjøringer. Den totale overføringsfrekvensen var 0,14 % (1/704).

## Serokonversjonspanel

Elleve HCV serokonversjonspanelsett, totalt 72 prøver, ble testet. Resultatene av Aptima HCV Quant Dx-analysen ble sammenlignet med HCV antistofftestresultater. Antallet dager til første reaktive resultat er oppført i Tabell 21. Aptima HCV Quant Dx-analyse detekterte nærvær av HCV gjennomsnittlig 20 dager tidligere enn antistofftester.

Tabell 21: Serokonversjonspanel, datasammendrag

| Panel-ID | Antall panelelementer som ble testet | Antall reaktive panelelementer |                     |                     | Dager til første reaktive resultat |                     |                     | Forskjell i dag til første reaktive resultat (basert på prøvetakingsdatoen) |   |
|----------|--------------------------------------|--------------------------------|---------------------|---------------------|------------------------------------|---------------------|---------------------|---|---|
|          |                                      | Aptima HCV Quant Dx            | HCV antistoff test1 | HCV antistoff test2 | Aptima HCV Quant Dx                | HCV antistoff test1 | HCV antistoff test2 | Dager tidligere enn HCV antistoff test1                                     | Dager tidligere enn HCV antistoff test2 |
| PHV911   | 4                                    | 4                              | 3                   | 3                   | 3 <sup>a</sup>                     | 14                  | 14                  | 11  | 11                                      |
| PHV913   | 4                                    | 4                              | 0                   | 2                   | 0                                  | g <sup>b</sup>      | 7                   | 9   | 7                                       |
| PH919    | 7                                    | 4                              | 3                   | 3                   | 25                                 | 28                  | 28                  | 3   | 3                                       |
| PH920    | 9                                    | 9                              | 7                   | 6                   | 0 <sup>c</sup>                     | 13                  | 16                  | 13  | 16                                      |
| PH921    | 11                                   | 11                             | 9                   | 7                   | 0                                  | 7                   | 18                  | 7   | 18                                      |
| PH923    | 6                                    | 6                              | 2                   | 2                   | 0                                  | 21                  | 21                  | 21  | 21                                      |
| PH924    | 6                                    | 6                              | 3                   | 3                   | 0                                  | 59                  | 59                  | 59  | 59                                      |
| PH925    | 5                                    | 5                              | 1                   | 1                   | 0                                  | 27                  | 27                  | 27  | 27                                      |
| PH926    | 5                                    | 5                              | 1                   | 0                   | 0                                  | 14                  | 14 <sup>b</sup>     | 14  | 14                                      |
| 6227     | 7                                    | 4                              | 2                   | 2                   | 42                                 | 74                  | 74                  | 32  | 32                                      |
| 6229     | 8                                    | 8                              | 4                   | 3                   | 0                                  | 17                  | 20                  | 17  | 20                                      |
| Total    | 72                                   | 66                             | 35                  | 32                  |                                    |                     | Gjennomsnitt        | 19,36   | 20,73                                   |
|          |                                      |                                |                     |                     |                                    |                     | Median              | 14  | 18                                      |

HCV antistofftest1 ble utført med Abbott Prism HCV-analyse.

HCV antistofftest2 ble utført med Ortho Enhanced SAVE-analyse, med følgende unntak:

Panel 6 227 og 6 229, som begge ble testet med Ortho ELISA Anti-HCV 3.0-analyse

<sup>a</sup> Første prøvetaking var ikke testet på grunn av utilgjengelig prøve fra leverandøren.

<sup>b</sup> Alle prøvetakinger i dette panelet var ureaktive for HCV antistoff. Den siste prøvetakingen ble brukt som "Dager til første reaktive resultat".

<sup>c</sup> Andre prøvetaking var ikke testet på grunn av utilgjengelig prøve fra leverandøren.

**Bibliografi**

1. Averhoff FM, Glass N and Holtzman D. Global Burden of Hepatitis C: Considerations for Healthcare Providers in the United States. *Clinical Infectious Diseases* 2012; 55 (S1): S10-15.
2. Current and Future Disease Progression of the Chronic HCV Population in the United States (2013) PLOS ONE Volume 8: Issue 5; 1-10.
3. Engle RE, Bukh J, Alter HJ et al., <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24797372> Transfusion-associated hepatitis before the screening of blood for hepatitis risk factors. *Transfusion*. 2014 May 5
4. Lee M-H, Yang, H-I, Yuan Y et al., Epidemiology and natural history of hepatitis C virus infection. *World J Gastroenterology* 2014; 20 ( 28): 9270-9280
5. Hepatitis C-virus: Genome and Molecular Biology (2006); Horizon Biosciences
6. Smith DB, Bukh J, Kuiken C, et al, P. Expanded classification of hepatitis C virus into 7 genotypes and 67 subtypes: updated criteria and genotype assignment web resource. *Hepatology*. 2014 Jan;59(1):318-27.
7. EASL Recommendations on treatment of Hepatitis C 2014: [www.easl.eu/\\_clinical-practice-guideline](http://www.easl.eu/_clinical-practice-guideline)
8. AASLD and the Infectious Diseases Society of America (IDSA), in collaboration with the International Antiviral Society-USA (IAS-USA) 2014: [www.hcvguidelines.org](http://www.hcvguidelines.org)
9. CDC. Testing for HCV infection: An update for clinicians and laboratories. *MMWR* 2013; 62 (18)
10. Rutter, K, Hofer H, Beinhardt, S et al., Durability of SVR in chronic hepatitis C patients treated with peginterferon- $\alpha$ 2a/ribavirin in combination with a direct acting antiviral. *Aliment Pharmacol Ther*. 2013 Jul;38(2):118-23.
11. Treatment of Hepatitis C, A Systemic Review (2014) *JAMA* Volume 312: No.6; 631-640.
12. EASL International Consensus Conference on Hepatitis C. Consensus Statement. *J Hepatol* 1999; 30; 956-61
13. NIH Consensus and State-of-the-Science Statements. Management of Hepatitis C: 2002; 19 (3):1-46
14. Peiffer K-H and Sarrazin C. The importance of HCV RNA measurement in tailoring treatment duration: *Digestive and Liver Disease* 45S (2013) S323-S331.
15. **Clinical and Laboratory Standards Institute**. 2005. Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods; Approved Guideline. CLSI Document MM13-A. Wayne, PA.
16. **29 CFR Part 1910.1030**. Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens; current version.
17. **Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health**. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL); current version.
18. **Clinical and Laboratory Standards Institute**. 2002. Clinical Laboratory Waste Management. CLSI Document GP5-A2. Villanova, PA.
19. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)**. 2012. Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline—Second Edition. CLSI Document EP17-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
20. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)**. 2003. Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline. CLSI document EP06-A. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.



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

**Kundestøtte:** +1 800 442 9892  
customersupport@hologic.com

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

For mer kontaktinformasjon, gå til [www.hologic.com](http://www.hologic.com).



**Hologic N.V.**  
Da Vincilaan 5  
1930 Zaventem  
Belgium

Hologic, Aptima, Panther, og tilknyttede logoer er varemerker og/eller registrerte varemerker for Hologic, Inc. og/eller dattereselskaper i USA og/eller andre land.

Armored RNA er et varemerke for Asuragen, Inc.

Alle andre varemerker som kan forekomme i dette pakningsinnlegget er eiendom til sine respektive eiere.

Dette produktet kan være dekket av ett eller flere patenter i USA, som identifiseres på [www.hologic.com/patents](http://www.hologic.com/patents).

© 2017-2018 Hologic, Inc. Med enerett.

AW-13249-1801 Rev. 004  
2018-09