Aptima® HCV Quant Dx Assay

Instruções de utilização
Para diagnóstico *in vitro*
Exclusivamente para exportação dos EUA

Informações gerais 2
Utilização prevista 2
Resumo e explicação do teste 2
Princípios do procedimento 3
Resumo de segurança e desempenho 4
Advertências e precauções 4
Requisitos de conservação e manuseamento de reagentes 8
Colheita e conservação de espécimes 9
Amostras dentro do Panther System 12
Transporte de espécimes 12
Panther System 13
Reagentes e materiais fornecidos 13
Materiais necessários, mas disponíveis separadamente 15
Materiais opcionais 16
Procedimento de teste no Panther System 16
Notas sobre o procedimento 20
Controlo de qualidade 22
Calibração do ensaio 22
Controlos negativo e positivo 22
Calibrador interno/controlo interno 22
Interpretação de resultados 23
Limitações 24
Desempenho analítico 25
Limite de deteção (LoD) utilizando o 2º Padrão Internacional da OMS 25
Limite de deteção em vários genótipos do HCV 25
Intervalo linear 26
Linearidade nos vários genótipos do HCV 27
Limite inferior de quantificação utilizando o 2º Padrão Internacional da OMS 28
Determinação do limite inferior de quantificação (LLoQ) em vários genótipos do HCV 29
Rastreabilidade ao padrão da OMS 31
Precisão 32
Substâncias potencialmente interferentes 32
Desempenho com espécimes HCV negativos 34
Especificidade analítica 34
Amostras clínicas contendo vírus que não o HCV 36
Equivalência de matriz 36
Diluição de amostras utilizando diluente de espécimes Aptima (1:3) 37
Diluição de amostras utilizando diluente de espécimes Aptima (1:100) 38
Confirmação do LLoQ em espécimes clínicos diluídos em diluente de espécimes 39
Precisão das amostras diluídas 40
Contaminação por transferência 40
Painel de seroconversão 40
Estudo de reprodutibilidade 41
Desempenho clínico 43
Correlação de métodos 43
Estudo de utilidade clínica 44
Resposta à terapêutica antiviral 48
Estudo de utilidade diagnóstica 51
Reatividade cruzada em pacientes com doença do fígado não relacionada com HCV 53
Bibliografia 55
Informações de contacto e histórico de revisões 56

Informações gerais

Utilização prevista

O Aptima® HCV Quant Dx assay é um teste de amplificação mediada por transcrição em tempo real. Este ensaio é utilizado para deteção e quantificação do RNA do vírus da hepatite C (HCV) em soro e plasma humano fresco e congelado em pessoas infetadas com HCV.

O plasma pode ser preparado em ácido etilenodiaminotetracético (EDTA), solução de anticoagulante de citrato e dextrose (ACD) e tubos de preparação de plasma (PPT). O soro pode ser preparado em tubos de soro e tubos de separação de soro (SST). Os espécimes são testados utilizando o sistema Panther™ para processamento, amplificação, deteção e quantificação automatizados de espécimes. Os espécimes contendo genótipos de HCV 1 a 6 são validados para deteção e quantificação no ensaio.

O Aptima HCV Quant Dx assay é indicado para utilização como um auxiliar no diagnóstico da infeção por HCV. O ensaio pode ser utilizado para confirmar a infeção por HCV ativa em pacientes com um resultado positivo de anticorpos de HCV. A deteção de RNA do HCV indica que o vírus se está a replicar e, por isso, é sinal de infeção ativa.

O Aptima HCV Quant Dx assay é indicado para utilização como um auxiliar no controlo de pacientes infetados por HCV que estão a seguir a terapêutica de medicamentos antivirais HCV. O ensaio mede os níveis de RNA do HCV na linha de referência, durante e após o tratamento para determinar a resposta virológica sustentada (SVR). Os resultados do Aptima HCV Quant Dx assay devem ser interpretados no contexto de todas as descobertas relevantes clínicas e laboratoriais.

O Aptima HCV Quant Dx assay não se destina a ser utilizado como um teste de rastreio à presença de HCV no sangue ou derivados do sangue.

Resumo e explicação do teste

O HCV é um patogénico transmitido pelo sangue e um problema para a saúde pública em todo o mundo com até 170 milhões de pessoas infetadas globalmente e 350 000 mortes anuais devido às condições relacionadas com o HCV, incluindo cirrose e cancro do fígado.[1,2] A transmissão de HCV é efetuada através da exposição ao sangue, aos derivados do sangue ou a atividades com potencial para exposição percutânea.[3,4] Geneticamente, o HCV contém um genoma de RNA de cadeia positiva de aproximadamente 9500 nucleótidos que codificam proteínas estruturais (núcleo, glicoproteínas E1 e E2, proteína de canal de ião p7) e proteínas não estruturais (NS2, NS3, NS4A/B, NS5A/B), sendo estas últimas proteínas e alvos replicativos virais chave dos antivirais de ação direta.[4,5] Duas regiões não traduzidas (UTR) do genoma, 5'UTR e 3'UTR, funcionam na tradução do genoma e nas tarefas de replicação/acondicionamento, respetivamente.[5] A 5'-UTR é a região genómica mais altamente conservada entre os seis principais genótipos de HCV.[6]

Clinicamente, existe uma prevalência elevada de infeção assintomática por HCV e a infeção crónica por HCV ocorre em até 75% dos pacientes.[2] Os algoritmos dos testes laboratoriais ao HCV necessitam do diagnóstico de infeções por HCV ativas em indivíduos positivos a anticorpos através da deteção de RNA do HCV no plasma ou no soro para permitir uma associação adequada aos cuidados.[7,8,9]

A quantificação do RNA do HCV (carga viral) tem desempenhado um papel essencial na definição e monitorização do tratamento com sucesso de HCV. A resposta virológica sustentada (SVR), definida como RNA do HCV não detetado após terapêutica de sucesso, é um marcador importante para a cura de HCV.[10,11] Na terapêutica com interferão, a resposta virológica precoce (EVR), definida como uma redução de 2 log ou mais na carga viral de HCV após 12 semanas

de terapêutica, e uma resposta virológica rápida (RVR), definida como níveis não detetáveis de RNA do HCV após 4 semanas de terapêutica, demonstraram ser indicadores positivos para SVR.[10,12,13] Estes marcadores de cinética viral são utilizados em abordagens guiadas por respostas que adaptam as opções de tratamento para paragem ou prolongamento da terapêutica para obtenção de SVR.[14] Além disso, os estudos de seguimento de longo prazo demonstraram durabilidade da SVR após o tratamento com sucesso e a erradicação viral evita a progressão da doença do fígado.[10]

Na era dos antivirais de ação direta (DAAs), a quantificação do RNA do HCV (carga viral) tem desempenhado um papel essencial na definição e monitorização do tratamento com sucesso de HCV. A resposta virológica sustentada (SVR) é definida como RNA do HCV não detetável (com um ensaio com um limite de deteção <25 UI/ml) após terapêutica.[10,11] As orientações recentes da AASLD sugerem que o RNA do HCV seja testado não apenas na linha de referência, mas também periodicamente durante o tratamento (ou seja, 4 semanas) e 12 semanas após a conclusão do tratamento.[10,12,13]

Princípios do procedimento

O Aptima HCV Quant Dx assay é um teste de amplificação de ácido nucleico que utiliza a tecnologia de amplificação mediada por transcrição (TMA) em tempo real para detetar e quantificar o RNA do HCV para auxiliar no diagnóstico ou para estabelecer a carga viral na linha de referência, bem como para avaliar as respostas, durante e após o tratamento. O ensaio tem como alvo uma região conservada do genoma do HCV, com a deteção e quantificação dos genótipos 1, 2, 3, 4, 5, e 6. Trata-se de um ensaio padrão de acordo com o 2º Padrão Internacional da OMS para o HCV (Código NIBSC 96/798).[12]

O Aptima HCV Quant Dx assay envolve três passos principais que decorrem todos num único tubo no sistema Panther: captura do alvo, amplificação do alvo por TMA e deteção dos produtos da amplificação (amplicon) através de sondas com marcadores fluorescentes (torches).

Durante a captura do alvo, o RNA viral é isolado dos espécimes. O espécime é tratado com um detergente para solubilizar o invólucro viral, desnaturar as proteínas e libertar o RNA viral genómico. Os oligonucleótidos de captura são hibridados com regiões altamente conservadas do RNA do HCV, caso estejam presentes no espécime que está a ser testado. O alvo hibridado é depois capturado por micropartículas magnéticas que são separadas do espécime num campo magnético. Os passos de lavagem removem componentes estranhos do tubo de reação.

A amplificação do alvo ocorre via TMA, que é um método de amplificação de ácidos nucleicos mediada por transcrição que utiliza duas enzimas: a transcriptase reversa MMLV (vírus da leucemia murina de Moloney) e a T7 RNA polimerase. A transcriptase reversa é utilizada para criar uma cópia de DNA (com uma sequência promotora para a T7 RNA polimerase) da sequência-alvo. A T7 RNA polimerase produz várias cópias do RNA amplicon a partir do modelo da cópia do DNA. O Aptima HCV Quant Dx assay utiliza o método TMA para amplificar uma parte da região 5' UTR do genoma do HCV. A amplificação desta região é conseguida utilizando "primers" específicos que foram concebidos para amplificar os genótipos do HCV 1, 2, 3, 4, 5 e 6.

A deteção é conseguida utilizando torches de ácidos nucleicos de cadeia simples, presentes durante a amplificação do alvo, e que se hibridam especificamente com o produto da amplificação em tempo real. Cada torch tem um fluoróforo e um agente de extinção. Quando a sonda fluorescente não é hibridada com o produto da amplificação, o agente de extinção fica em estreita proximidade com o fluoróforo e suprime a fluorescência. Quando o torch se liga ao produto da amplificação, o agente de extinção é ainda mais afastado do fluoróforo e emite um sinal num determinado comprimento de onda quando excitado por uma fonte de luz. À medida que uma maior quantidade de torches se hibrida com o produto da amplificação é gerado um sinal de fluorescência mais elevado. O tempo que demora até o sinal fluorescente

atingir um limiar especificado é proporcional à concentração inicial de HCV. Cada reação tem um calibrador interno/controlo interno (internal control, IC) que controla as variações do processamento, da amplificação e da deteção de espécimes. A concentração de uma amostra é determinada pelo software do Panther system utilizando os sinais do HCV e do IC para cada reação e comparando-os com as informações da calibração.

Resumo de segurança e desempenho

O Resumo de segurança e desempenho (SSP, Summary of Safety and Performance) está disponível na base de dados europeia de dispositivos médicos (Eudamed), onde está associado aos identificadores do dispositivo (UDI-DI básico). Para localizar o SSP do Aptima HCV Quant Dx assay, consulte o Identificador único do dispositivo básico (BUDI): 54200455DIAGAPTHCVAJ.

Advertências e precauções

A. Para efeitos de diagnóstico *in vitro*.

B. Para uso profissional.

C. Para reduzir o risco de resultados inválidos, leia atentamente o folheto informativo e o manual de instruções de *Panther*/*Panther Fusion™ System* para obter informação procedimental antes de realizar o ensaio no sistema Panther.

D. Para advertências, precauções e procedimentos suplementares sobre o controlo da contaminação, consulte o manual de instruções de *Panther/Panther Fusion System*.

Relacionadas com o laboratório

E. PRECAUÇÃO: Os controlos deste ensaio contêm plasma humano. O plasma é não reativo para o antigénio de superfície da hepatite B (HBsAg), anticorpos anti-HCV, anticorpos anti-HIV-1 e anti-HIV-2 e antigénio HIV quando testados com procedimentos licenciados pela Agência dos Medicamentos e Alimentos dos EUA. Além disso, o plasma não é reativo para o RNA do HCV e o RNA do HIV-1 quando testado com testes de ácidos nucleicos licenciados utilizando amostras agrupadas. Todos os materiais com origem em sangue humano devem ser considerados como potencialmente infeciosos e devem ser manuseados de acordo com as Precauções Universais.[14,15,16]

F. Este procedimento só deve ser executado por pessoal com a devida qualificação na utilização do Aptima HCV Quant Dx assay e no manuseamento de materiais infeciosos. Se ocorrer um derrame, desinfete imediatamente seguindo os procedimentos adequados do centro.

G. Use somente os artigos de laboratório descartáveis que sejam fornecidos ou especificados.

H. Tome todas as precauções laboratoriais de rotina. Não pipete com a boca. Não coma, não beba, nem fume nas áreas de trabalho designadas. Use luvas sem pó descartáveis, proteção ocular e batas de laboratório quando manusear espécimes e reagentes de um kit. Lave bem as mãos depois de manusear os espécimes e os reagentes do kit.

I. As superfícies de trabalho, as pipetas e outro equipamento devem ser regularmente descontaminados com solução de hipoclorito de sódio de 2,5% a 3,5% (0,35 M a 0,5 M).

J. Elimine todos os materiais que tenham estado em contacto com espécimes e reagentes de acordo com os regulamentos europeus, nacionais e locais.[14,15,16,17] Limpe e desinfete minuciosamente todas as superfícies de trabalho.

K. Os controlos contêm azida de sódio como conservante. Não utilize tubos de metal para a

transferência de reagentes. Se as soluções com compostos de azida de sódio forem eliminadas num sistema de canalização, deverão antes ser diluídas e irrigadas com água corrente em abundância. Estas precauções são recomendadas para evitar a acumulação de depósitos em canos metálicos onde se poderiam desenvolver condições explosivas.

L. As boas práticas padrão para os laboratórios moleculares incluem a monitorização ambiental. Para monitorizar o ambiente de um laboratório, sugere-se o seguinte procedimento:
   1. Obtenha uma zaragatoa com ponta de algodão e junte-a com um Tubo de alíquotas de espécime Aptima (SAT).
   2. Identifique adequadamente cada SAT.
   3. Encha cada SAT com 1 ml de diluente de espécimes Aptima.
   4. Para colher amostras de superfície, humedeça ligeiramente uma zaragatoa com água desionizada sem nuclease.
   5. Colha a amostra da superfície relevante movimentando a zaragatoa verticalmente, de cima para baixo. Rode a zaragatoa cerca de meia volta enquanto colhe a amostra do local.
   6. Coloque imediatamente a amostra em zaragatoa dentro do tubo e rode suavemente a zaragatoa no diluente para extrair materiais potencialmente colhidos. Pressione a zaragatoa no lado do tubo de transporte para extrair o máximo de líquido possível. Elimine a zaragatoa e tape o tubo.
   7. Repita os passos para as restantes amostras em zaragatoa.
   8. Teste a zaragatoa com um ensaio molecular.

Relacionadas com os espécimes

M. Os espécimes podem ser infeciosos. Utilize as Precauções universais[14,15,16] quando executar este ensaio. Devem ser estabelecidos métodos de manuseamento e eliminação adequados de acordo com os regulamentos locais.[17] Este procedimento só deve ser executado por pessoal com a devida qualificação na utilização do Aptima HCV Quant Dx assay e com formação no manuseamento de materiais infeciosos.

N. Mantenha as condições de conservação adequadas durante o transporte de espécimes, para garantir a integridade do espécime. A estabilidade do espécime noutras condições de transporte que não as recomendadas não foi avaliada.

O. Evite a contaminação cruzada durante os passos de manuseamento de espécimes. Tenha especial cuidado para evitar a contaminação por disseminação de aerossóis quando desapertar ou destapar espécimes. Os espécimes podem conter níveis de organismos extremamente elevados. Certifique-se de que os recipientes de espécimes não entram em contacto uns com os outros e deite fora os materiais usados sem passá-los por cima de recipientes abertos. Mude de luvas se estas entrarem em contacto com o espécime.

Relacionadas com o ensaio

P. Não utilize o kit de reagentes, o calibrador nem os controlos após o prazo de validade.

Q. Não troque, misture, nem combine reagentes do ensaio de kits com números de lote mestre diferentes. Os fluidos do ensaio podem pertencer a números de lote diferentes. Os controlos e o calibrador podem pertencer a números de lote diferentes.

R. Evite a contaminação microbiana ou com nuclease dos reagentes.

S. Tape e conserve todos os reagentes do ensaio às temperaturas especificadas. O desempenho do ensaio pode ser afetado pela utilização de reagentes do ensaio conservados de

forma incorreta. Consulte as secções *Requisitos de conservação e manuseamento de reagentes* e *Procedimento de teste no Panther System* para obter mais informações.

T. Não combine quaisquer reagentes ou fluidos do ensaio sem instruções específicas para tal. Não adicione reagentes ou fluidos. O sistema Panther verifica os níveis dos reagentes.

U. Alguns reagentes deste kit possuem símbolos de risco e segurança nos rótulos.

Nota: *A informação sobre a comunicação de perigos reflete as classificações das Fichas de dados de segurança (SDS) da União Europeia. Para obter informações sobre a comunicação de riscos específicas da sua região, consulte a respetiva SDS na Biblioteca de Fichas de*

Dados de Segurança em www.hologicsds.com. Para obter mais informações sobre os símbolos, consulte a legenda dos símbolos em www.hologic.com/package-inserts.

Informações sobre riscos para a UE

—	**Reagente de amplificação** *CLORETO DE MAGNÉSIO 60 % - 65 %* — H412 – Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros. P273 – Evitar a libertação para o ambiente. P501 – Eliminar o conteúdo/recipiente num centro de eliminação de resíduos aprovado.
—	**Reagente promotor** *CLORETO DE MAGNÉSIO 60 % - 65 %* — H412 – Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros. P273 – Evitar a libertação para o ambiente. P501 – Eliminar o conteúdo/recipiente num centro de eliminação de resíduos aprovado.
—	**Reagente de enzima** *Triton X-100 1 % - 5 %* *HEPES 1 % - 5 %* — H412 – Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros. P273 – Evitar a libertação para o ambiente. P501 – Eliminar o conteúdo/recipiente num centro de eliminação de resíduos aprovado.
  	***Kit* de controlos HCV VL** *AZOTETO DE SÓDIO <1 %* — **PERIGO** H300 – Mortal por ingestão. H410 – Muito tóxico para os organismos aquáticos com efeitos duradouros. P264 – Lavar o rosto, as mãos e toda a pele exposta cuidadosamente após manuseamento. P273 – Evitar a libertação para o ambiente. P301 + P310 – EM CASO DE INGESTÃO: Contacte imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico. P321 – Tratamento específico (consulte as instruções de primeiros socorros suplementares neste rótulo). P330 – Enxaguar a boca. P391 – Recolher o produto derramado.
—	***Kit* de calibradores HCV VL** *HEPES 15 % - 20 %* *Sal de lítio de laurilsulfato 5 % - 10 %* *Monoidrato de hidróxido de lítio 1 % - 5 %* *Ácido succínico 1 % - 5 %* — H412 – Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros. P273 – Evitar a libertação para o ambiente. P501 – Eliminar o conteúdo/recipiente num centro de eliminação de resíduos aprovado.
—	**Solução de reconstituição de enzima** *Glicerol 20 % - 25 %* *Triton X-100 5 % - 10 %* *HEPES 1 % - 5 %* — H412 – Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros. P273 – Evitar a libertação para o ambiente. P501 – Eliminar o conteúdo/recipiente num centro de eliminação de resíduos aprovado.

—	**Reagente de captura do alvo** *HEPES 15 % - 20 %* *Sal de lítio de laurilsulfato 5 % - 10 %* *Monoidrato de hidróxido de lítio 1 % - 5 %* *Ácido succínico 1 % - 5 %* — H412 – Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros. P273 – Evitar a libertação para o ambiente. P501 – Eliminar o conteúdo/recipiente num centro de eliminação de resíduos aprovado.

Requisitos de conservação e manuseamento de reagentes

A. Na tabela seguinte, são mostradas as condições de conservação e estabilidade para reagentes, controlos e calibrador.

Reagente	Conservação fechada	Kit aberto (reconstituído)	
		Conservação	Estabilidade
Reagente de amplificação qHCV	2 °C a 8 °C		
Solução de reconstituição do reagente de amplificação qHCV	2 °C a 8 °C	2°C a 8°C	30 dias[a]
Reagente enzimático qHCV	2 °C a 8 °C		
Solução de reconstituição do reagente enzimático qHCV	2 °C a 8 °C	2°C a 8°C	30 dias[a]
Reagente promotor qHCV	2 °C a 8 °C		
Solução de reconstituição do reagente promotor qHCV	2 °C a 8 °C	2°C a 8°C	30 dias[a]
Reagente de captura do alvo qHCV	2 °C a 8 °C	2°C a 8°C	30 dias[a]
qHCV CONTROL NC – (controlo negativo)	-15 °C a -35 °C	15 °C a 30 °C	Frasco de utilização única Utilizar num período de 24 horas
qHCV CONTROL LPC + (controlo positivo baixo)	-15 °C a -35 °C	15 °C a 30 °C	Frasco de utilização única Utilizar num período de 24 horas
qHCV HPC CONTROL + (controlo positivo alto)	-15 °C a -35 °C	15 °C a 30 °C	Frasco de utilização única Utilizar num período de 24 horas
qHCV PCAL (calibrador positivo)	-15 °C a -35 °C	15 °C a 30 °C	Frasco de utilização única Utilizar num período de 24 horas

[a] Quando os reagentes são removidos do sistema Panther, devem ser imediatamente devolvidos às respetivas temperaturas de conservação adequadas.

B. Deite fora quaisquer reagentes reconstituídos e o reagente de captura do alvo (TCR) não usados, após 30 dias ou após a data de validade do lote mestre, conforme o que ocorrer primeiro.

C. Os reagentes conservados dentro do sistema Panther têm 72 horas de estabilidade. Os reagentes podem ser carregados no sistema Panther até 8 vezes. O sistema Panther regista cada uma das vezes que os reagentes são carregados.

D. Depois de descongelar o calibrador, a solução deve estar límpida, ou seja, sem turvação ou precipitados.

E. O reagente promotor e o reagente promotor reconstituído são fotossensíveis. Proteja estes reagentes da luz durante a sua conservação e a preparação para utilização.

Colheita e conservação de espécimes

Nota: *Manuseie todos os espécimes como se contivessem agentes potencialmente infeciosos. Respeite as precauções universais.*

Nota: *Tenha cuidado para evitar a contaminação cruzada durante os passos de manuseamento das amostras. Por exemplo, elimine o material usado sem passar por cima de tubos abertos.*

Nota: *Só são recomendados para conservação tubos secundários de plástico.*

Podem utilizar-se espécimes de sangue total colhidos nos seguintes tubos de vidro ou de plástico:

- Tubos com anticoagulantes de ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) ou ácido de citrato e dextrose (ACD) ou
- Tubos de preparação de plasma (PPTs)
- Tubos de soro
- Tubos de separação de soro (SSTs)

No caso de soro, aguarde até o coágulo se formar antes de continuar o processamento.

A. Colheita de espécimes

O sangue total pode ser conservado a uma temperatura entre 2 °C e 30 °C e deve ser centrifugado no prazo de 6 horas após a colheita do espécime. Separe o plasma ou o soro dos glóbulos vermelhos aglomerados seguindo as instruções do fabricante do tubo utilizado. O plasma ou o soro pode ser testado no sistema Panther, num tubo primário, ou transferido para um tubo secundário, como, por exemplo, o Tubo de alíquotas de espécime Aptima. Para obter o volume de reação de 500 µl, o volume mínimo de plasma ou de soro é de até 1200 µl para tubos de colheita primários e de 700 µl para tubos secundários. A tabela que se segue identifica os requisitos de volume morto para cada tipo de tubo primário e secundário.

Tubo (tamanho e tipo)	Volume morto no Panther System
Tubo de alíquotas de amostra Aptima (SAT)	0,2 ml
12x75 mm	0,5 ml
13x100 mm	0,5 ml
13x100 mm com gel	0,3 ml
16x100 mm com gel	0,7 ml

Se não forem testados imediatamente, o plasma e o soro podem ser conservados de acordo com as especificações a seguir descritas. Se forem transferidos para um tubo secundário, o plasma ou o soro podem ser congelados a -20 °C. Não exceda 3 ciclos de congelamento/descongelamento. Não congele os espécimes em EDTA, ACD nem em tubos de colheita de soro primários.

B. Condições de conservação de espécimes

1. Espécimes de plasma com EDTA e ACD

   O sangue total pode ser conservado a uma temperatura entre 2 °C e 30 °C e deve ser centrifugado no prazo de 6 horas após a colheita do espécime. O plasma pode ser conservado numa das seguintes condições:

   - No tubo de colheita primário ou no tubo secundário de 2 °C a 25 °C durante até 24 horas,
   - No tubo de colheita primário ou no tubo secundário de 2 °C a 8 °C durante até 5 dias ou
   - No tubo secundário a -20 °C durante até 60 dias.

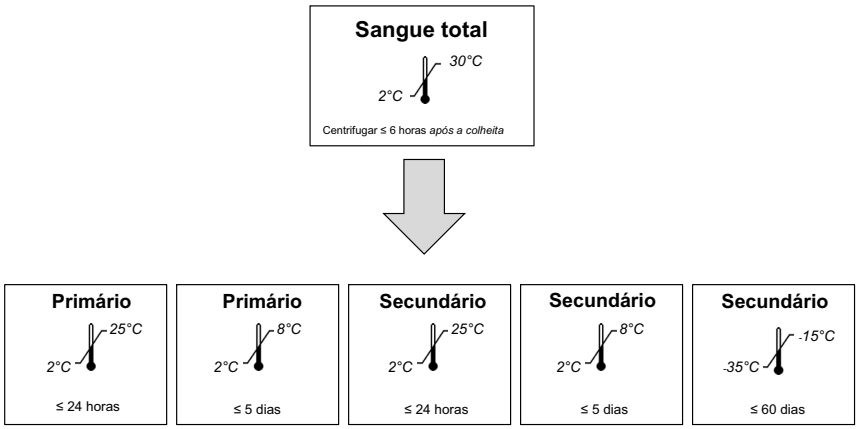


Figura 1. Condições de armazenamento dos tubos EDTA/ACD

2. Espécimes em PPT

   O sangue total pode ser conservado a uma temperatura entre 2 °C e 30 °C e deve ser centrifugado no prazo de 6 horas após a colheita do espécime. O plasma pode ser conservado numa das seguintes condições:

   - No tubo de colheita primário ou no tubo secundário de 2 °C a 25 °C durante até 24 horas,
   - No tubo de colheita primário ou no tubo secundário de 2 °C a 8 °C durante até 5 dias ou
   - No tubo de colheita primário ou no tubo secundário a -20 °C durante até 60 dias.

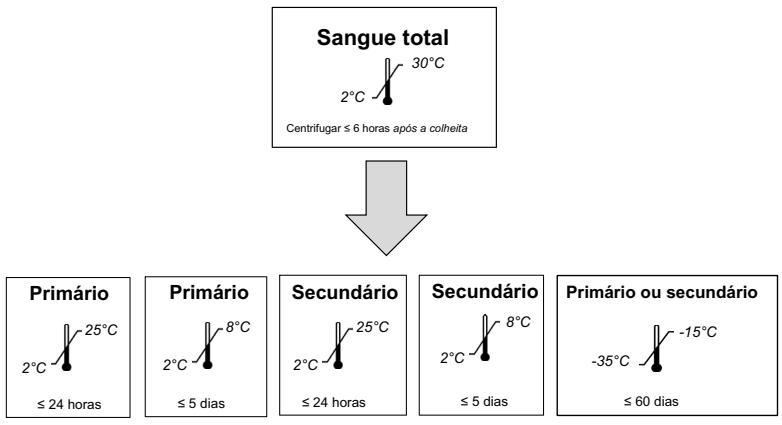


Figura 2. Condições de conservação para PPTs

3. Espécimes no tubo de soro

   O sangue total pode ser conservado a uma temperatura entre 2 °C e 30 °C e deve ser centrifugado no prazo de 6 horas após a colheita do espécime. O soro pode ser conservado numa das seguintes condições:

   - No tubo de colheita primário ou no tubo secundário de 2 °C a 30 °C durante até 24 horas,
   - No tubo de colheita primário ou no tubo secundário de 2 °C a 8 °C durante até 5 dias ou
   - No tubo secundário a -20 °C durante até 60 dias.

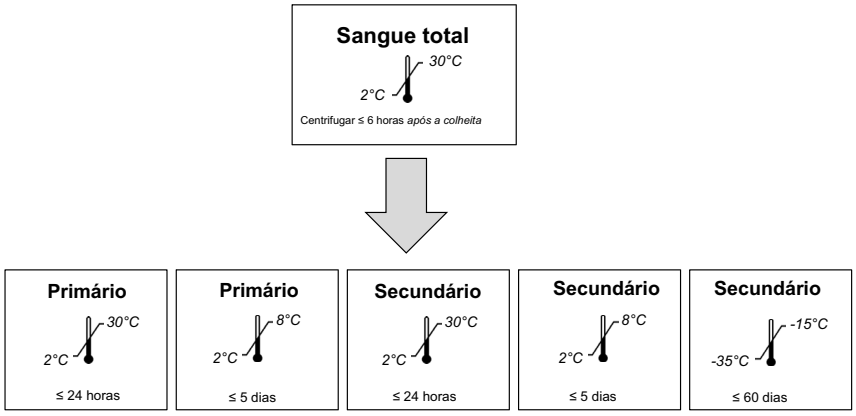


Figura 3. Condições de conservação para tubos de soro

4. Espécimes em SST

   O sangue total pode ser conservado a uma temperatura entre 2 °C e 30 °C e deve ser centrifugado no prazo de 6 horas após a colheita do espécime. O soro pode ser conservado numa das seguintes condições:

   - No tubo de colheita primário ou no tubo secundário de 2 °C a 30 °C durante até 24 horas,
   - No tubo de colheita primário ou no tubo secundário de 2 °C a 8 °C durante até 5 dias ou
   - No tubo de colheita primário ou no tubo secundário a -20 °C durante até 60 dias.

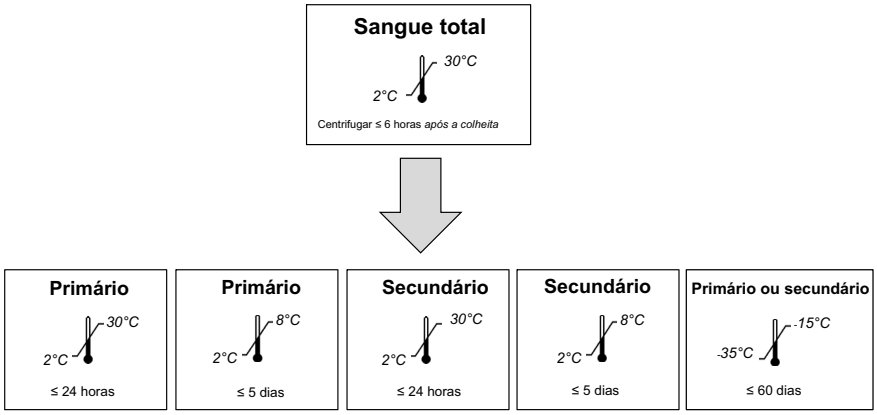


Figura 4. Condições de conservação para SST

C. Conservação em congelamento de longo prazo

As amostras de plasma ou de soro podem ser armazenadas de -65 °C a -70 °C até um máximo de 60 dias em SATs.

D. Diluição de espécimes de plasma e soro

Os espécimes de plasma e soro podem ser diluídos no SAT ou no tubo secundário para teste no sistema Panther. Consulte *Procedimento de teste no Panther System*, passo E.5 abaixo para obter mais informações.

⚠ *Não deve ser efetuada uma interpretação de diagnóstico a partir de um resultado "Não detetado" de espécimes de soro ou plasma que tenham sido diluídos. Obtenha um espécime novo não diluído e repita o teste.*

Nota: *Se um espécime estiver diluído, deverá ser testado imediatamente após a diluição. Não congele um espécime diluído.*

Amostras dentro do Panther System

As amostras podem permanecer destapadas no sistema Panther por um período máximo de 8 horas. As amostras podem ser removidas do sistema Panther e testadas, desde que o tempo total no instrumento não exceda as 8 horas antes da pipetagem da amostra pelo sistema Panther.

Transporte de espécimes

Mantenha as condições de conservação de amostras descritas em *Colheita e conservação de espécimes*.

Nota: *Os espécimes devem ser expedidos de acordo com os regulamentos de transporte locais, nacionais e internacionais em vigor.*

Panther System

Os reagentes do Aptima HCV Quant Dx assay para o sistema Panther estão indicados abaixo. Os símbolos de identificação do reagente também estão indicados ao lado do nome do reagente.

Reagentes e materiais fornecidos

Kit de Aptima HCV Quant Dx Assay, 100 testes, código de produto PRD-03506
(1 caixa de ensaio, 1 kit de calibrador e 1 kit de controlos)
É possível encomendar calibradores e controlos adicionais em separado. Consulte os respetivos códigos de produto abaixo.

Caixa do Aptima HCV Quant Dx Assay
(conservar a uma temperatura entre 2 °C e 8 °C após a receção)

Símbolo	Componente	Quantidade
A	**Reagente de amplificação qHCV** *Ácidos nucleicos não infeciosos liofilizados em solução tamponada.*	1 frasco
E	**Reagente enzimático qHCV** *Transcriptase reversa e polimerase de RNA liofilizadas em solução tamponada com HEPES.*	1 frasco
PRO	**Reagente promotor qHCV** *Ácidos nucleicos não infeciosos liofilizados em solução tamponada.*	1 frasco
AR	**Solução de reconstituição do reagente de amplificação qHCV** *Solução aquosa contendo glicerol e conservantes.*	1 x 7,2 ml
ER	**Solução de reconstituição do reagente enzimático qHCV** *Solução tamponada com HEPES com um agente tensioativo e glicerol.*	1 x 5,8 ml
PROR	**Solução de reconstituição do reagente promotor qHCV** *Solução aquosa contendo glicerol e conservantes.*	1 x 4,5 ml
TCR	**Reagente de captura do alvo qHCV** *Ácidos nucleicos numa solução salina tamponada que contém fase sólida, ácidos nucleicos não infeciosos e calibrador interno.*	1 x 72,0 ml
	Aros de reconstituição	3
	Folha de códigos de barras do lote mestre	1 folha

Kit de calibrador Aptima HCV Quant Dx (Código de produto PRD-03507)
(conservar a uma temperatura entre -15 °C e -35 °C após a receção)

Símbolo	Componente	Quantidade
PCAL	**Calibrador positivo qHCV** *Transcrito em solução tamponada.*	5 x 2,5 ml
	Etiqueta de código de barras do calibrador	—

Kit de controlos Aptima HCV Quant Dx (Código de produto PRD-03508)
(conservar a uma temperatura entre -15 °C e -35 °C após a receção)

Símbolo	Componente	Quantidade
NC	**Controlo negativo qHCV** *Plasma humano desfibrinado HCV negativo com gentamicina e azida de sódio a 0,2% como conservantes.*	5 x 0,8 ml
LPC	**Controlo positivo baixo qHCV** *Armored RNA de HCV não infecioso em plasma humano desfibrinado com gentamicina e azida de sódio a 0,2% como conservantes.*	5 x 0,8 ml
HPC	**Controlo positivo alto qHCV** *Armored RNA de HCV não infecioso em plasma humano desfibrinado com gentamicina e azida de sódio a 0,2% como conservantes.*	5 x 0,8 ml
	Etiqueta de código de barras do controlo	—

Materiais necessários, mas disponíveis separadamente

Nota: *Os materiais disponibilizados pela Hologic têm a indicação dos códigos de produto, a menos que o contrário seja especificado.*

Material	Código produto
Panther™ System	303095
Panther Fusion™ System	PRD-04172
Panther™ System, fluido contínuo e resíduos (Panther Plus)	PRD-06067
Kit de controlos Aptima® HCV Quant Dx	PRD-03508
Kit do calibrador Aptima® HCV Quant Dx	PRD-03507
Kit de execução Panther para ensaios em tempo real (apenas para ensaios em tempo real)	PRD-03455 (5000 testes)
Kit de fluidos Aptima® Assay (também conhecido como Kit de fluidos universais) *contém solução de lavagem Aptima®, tampão para o fluido de desativação Aptima® e reagente de óleo Aptima®*	303014 (1000 testes)
Unidades multitubos (MTUs)	104772-02
Kit de sacos de resíduos Panther™	902731
Tampa do recipiente de resíduos Panther™	504405
ou Kit de execução Panther™ System *(ao realizar ensaios TMA, sem ser em tempo real em paralelo com os ensaios TMA em tempo real) contém MTUs, sacos de resíduos, tampas do recipiente de resíduos, detetores automáticos e fluidos de ensaio*	303096 (5000 testes)
Pontas, 1000 µl, com filtro, deteção de líquido, condutoras e descartáveis *Nem todos os produtos estão disponíveis em todas as regiões. Contacte o seu representante para obter informações específicas da região.*	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Lixívia, solução de hipoclorito de sódio de 5% a 8,25% (0,7 M a 1,16 M)	—
Luvas sem pó descartáveis	—
Tampas não perfuráveis de substituição	103036A
Tampas de substituição para reagentes *Frascos de reconstituição do reagente de amplificação, do reagente enzimático e do reagente promotor* *Frasco de TCR*	CL0041 (100 tampas) CL0040 (100 tampas)
Coberturas de bancada laboratorial com forro de plástico	—
Toalhetes que não libertem pelos	—
Pipetador	—
Pontas	—
Opções de tubo de colheita primário: *13 mm x 100 mm* *13 mm x 75 mm* *16 mm x 100 mm*	 — — —
Centrífuga	—
Agitador de vórtex	—

Materiais opcionais

Material	Código produto
Opções de tubo secundário:	
12 mm x 75 mm	—
13 mm x 100 mm	—
16 mm x 100 mm	—
Tubos de alíquotas de espécime Aptima (SAT) (100 por embalagem)	FAB-18184
Tampa de tubo de transporte (100 por embalagem) *tampa para SAT*	504415
Diluente de espécimes Aptima®	PRD-03003
Kit de diluente de espécimes Aptima® *contém diluente de espécimes, 100 SATs e 100 tampas*	PRD-03478
Pipetas de transferência	—
Painéis disponíveis comercialmente	—
Zaragatoas com ponta de algodão	—
Dispositivo de agitação de tubos por oscilação	PRD-03488

Procedimento de teste no Panther System

Nota: *Consulte o Manual de instruções do Panther/Panther Fusion System para mais informações sobre o procedimento.*

A. Preparação da área de trabalho

1. Limpe as superfícies de trabalho onde serão preparados os reagentes. Limpe as superfícies de trabalho com uma solução de hipoclorito de sódio de 2,5% a 3,5% (0,35 M a 0,5 M). Deixe a solução de hipoclorito de sódio entrar em contacto com as superfícies durante pelo menos 1 minuto e depois enxague com água desionizada (DI). Não deixe secar a solução de hipoclorito de sódio. Cubra a superfície da bancada com capas limpas, absorventes, com forro de plástico, indicadas para bancadas de laboratórios.
2. Limpe uma superfície de trabalho separada onde as amostras serão preparadas. Siga o procedimento supramencionado (passo A.1).
3. Limpe os pipetadores. Siga o procedimento de limpeza supramencionado (passo A.1).

B. Preparação do calibrador e dos controlos

Deixe o calibrador e os controlos atingir uma temperatura de 15 °C a 30 °C antes de efetuar o processamento da seguinte forma:

1. Remova o calibrador e os controlos da conservação (-15 °C a -35 °C) e coloque-os a uma temperatura de 15 °C a 30 °C. Ao longo do processo de descongelação, inverta suavemente cada tubo para misturar bem. Certifique-se de que o conteúdo do tubo está totalmente descongelado antes da utilização.

   Opção. Os tubos de calibrador e controlo podem ser colocados num dispositivo de agitação de tubos por oscilação para misturar bem. Certifique-se de que o conteúdo do tubo está totalmente descongelado antes da utilização.

   Nota: *Evite criar espuma excessiva quando inverter o calibrador e os controlos. A espuma compromete o sensor de nível do sistema Panther.*

2. Quando o conteúdo do tubo tiver descongelado, seque a parte de fora do tubo com um toalhete descartável, limpo e seco.

3. Para prevenir a contaminação, não abra os tubos agora.

C. Reconstituição/preparação dos reagentes de um novo kit

Nota: *A reconstituição dos reagentes deve ser realizada antes de iniciar qualquer trabalho no sistema Panther.*

1. Para preparar o reagente de captura do alvo (TCR), proceda da seguinte forma:
   a. Remova o TCR da conservação (2 °C a 8 °C). Verifique o número de lote no frasco de TCR para se certificar de que corresponde ao número de lote da folha do código de barras do lote mestre.
   b. Agite imediata e vigorosamente o frasco de TCR 10 vezes. Deixe o frasco de TCR a uma temperatura de 15 °C a 30 °C para aquecer durante, pelo menos, 45 minutos. Durante este período, gire e inverta o frasco de TCR pelo menos a cada 10 minutos.

      Opção. O frasco de TCR pode ser preparado num dispositivo de agitação de tubos por oscilação seguindo estas instruções: Remova o TCR da conservação (2 °C a 8 °C) e agite imediata e vigorosamente 10 vezes. Coloque o frasco de TCR num dispositivo de agitação de tubos por oscilação e deixe o TCR a uma temperatura de 15 °C a 30 °C para aquecer durante, pelo menos, 45 minutos.
   c. Antes da utilização, assegure-se de que todo o precipitado está dissolvido e que as partículas magnéticas estão em suspensão.
2. Para reconstituir o reagente de amplificação, o reagente enzimático e o reagente promotor, proceda da seguinte forma:
   a. Remova os reagentes liofilizados e as soluções de reconstituição correspondentes da conservação (2 °C a 8 °C). Emparelhe cada solução de reconstituição com o respetivo reagente liofilizado.
   b. Certifique-se de que a solução de reconstituição e os reagentes liofilizados têm cores de rótulo correspondentes. Verifique os números do lote na Folha de códigos de barras do lote mestre para garantir que estão emparelhados os reagentes adequados.
      i. Abra o frasco de reagente liofilizado removendo o selo metálico e a rolha de borracha.
      ii. Insira com firmeza a extremidade ranhurada do aro de reconstituição (preto) no frasco (Figura 5, passo 1).
      iii. Abra o frasco da solução de reconstituição correspondente e coloque a tampa numa superfície de trabalho limpa e coberta.
      iv. Coloque o frasco da solução de reconstituição numa superfície estável (p. ex., bancada). Em seguida, inverta o frasco de reagente liofilizado sobre o frasco da solução de reconstituição e fixe firmemente o aro ao frasco da solução de reconstituição (Figura 5, passo 2).
      v. Inverta lentamente os frascos montados (frasco ligado ao frasco de solução) para permitir que a solução drene para o frasco de vidro (Figura 5, passo 3).
      vi. Recolha os frascos montados e gire-os durante pelo menos 10 segundos (Figura 5, passo 4).
      vii. Aguarde pelo menos 30 minutos para que o reagente liofilizado passe para a solução.
      viii. Depois de o reagente liofilizado estar na solução, gire os frascos montados durante pelo menos 10 segundos e, em seguida, oscile a solução no interior do frasco de vidro para a frente e para trás para misturar totalmente.
   c. Incline lentamente os frascos montados outra vez para permitir que toda a

solução seja novamente drenada para dentro do frasco da solução de reconstituição (Figura 5, passo 5).

d. Remova cuidadosamente o aro de reconstituição e o frasco de vidro (Figura 5, passo 6).

e. Volte a colocar a tampa do frasco. Grave as iniciais do operador e a data de reconstituição na etiqueta (Figura 5, passo 7).

f. Descarte o aro de reconstituição e o frasco de vidro (Figura 5, passo 8).

Advertência: *Evite formar espuma excessiva quando reconstituir os reagentes. A espuma compromete o sensor de nível do sistema Panther.*

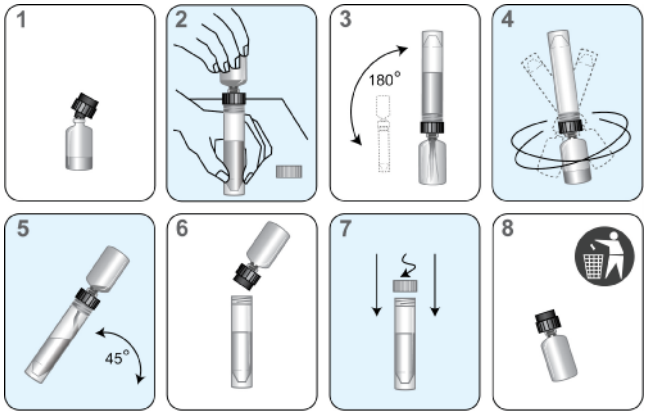


Figura 5. Processo de reconstituição de reagentes

D. Preparação de reagentes para reagentes previamente reconstituídos

1. Remova os reagentes previamente preparados da conservação (2 °C a 8 °C).
2. Os reagentes de amplificação, enzimático, promotor e TCR previamente preparados devem atingir uma temperatura situada entre 15 °C e 30 °C antes do início do ensaio.
3. No caso de TCR previamente preparado, execute o passo C.1 anterior antes de colocá-lo no sistema.
4. Misture bem os reagentes de amplificação, enzimático e promotor girando-os e invertendo-os antes de os colocar no sistema. Evite criar espuma excessiva quando inverter os reagentes.

   Opção: Os reagentes previamente preparados podem ser preparados num dispositivo de agitação de tubos por oscilação de acordo com estas instruções: Remova os reagentes da conservação (de 2 °C a 8 °C). Coloque os reagentes num dispositivo de agitação de tubos por oscilação e deixe a uma temperatura de 15 °C a 30 °C para aquecer durante, pelo menos, 30 minutos.

5. Não ateste frascos de reagente. O sistema Panther reconhece e rejeita os frascos que tenham sido atestados.

E. Manuseamento de espécimes

1. Certifique-se de que os espécimes processados em tubos primários ou os espécimes não diluídos em tubos secundários foram conservados corretamente de acordo com *Colheita e conservação de espécimes*.
2. Assegure-se de que os espécimes congelados estejam totalmente descongelados. Coloque no vórtex os espécimes descongelados durante 3 a 5 segundos para misturar totalmente.

3. Deixe os espécimes atingir uma temperatura de 15 °C a 30 °C antes do processamento. Consulte *Amostras dentro do Panther System* para obter mais informações sobre produtos dentro do instrumento.
4. Certifique-se de que cada tubo de colheita primário contém até 1200 µl de espécime ou de que cada SAT contém, pelo menos, 700 µl de espécime. Consulte a tabela fornecida em *Colheita de espécimes* para identificar os requisitos de volume morto para cada tipo de tubo primário e secundário. Se for necessária a diluição de espécimes, consulte o passo E.5 abaixo para obter mais informações.
5. Dilua um espécime de plasma ou de soro a 1:3 num SAT ou a 1:100 num tubo secundário.

   Um espécime pode ser diluído num tubo secundário para teste no sistema Panther.

⚠ *Não deve ser efetuada uma interpretação de diagnóstico a partir de um resultado "Não detetado" de espécimes de soro ou plasma que tenham sido diluídos. Obtenha um espécime novo não diluído e repita o teste.*

Nota: *Se um espécime estiver diluído, deverá ser testado imediatamente após a diluição.*

a. Diluição de espécimes de volume reduzido

   O volume de espécimes de plasma pode ser aumentado até ao volume mínimo necessário (700 µl) utilizando o diluente de espécimes Aptima. Os espécimes com pelo menos 240 µl de plasma podem ser diluídos com duas partes de diluente de espécimes (1:3) da seguinte forma:

   i. Coloque 240 µl de espécime no SAT.

   ii. Adicione 480 µl de diluente de espécimes Aptima.

   iii. Tape o tubo.

   iv. Inverta suavemente 5 vezes para misturar.

   Os espécimes diluídos na proporção de 1:3 podem ser testados utilizando a opção 1:3 do sistema Panther (consulte o *Manual de instruções do Panther/Panther Fusion System* para obter mais informações). O software irá comunicar automaticamente um resultado final ao aplicar o fator de diluição. Estes espécimes serão sinalizados como espécimes diluídos.

b. Diluição de espécimes de titulação alta

   Se o resultado de um espécime estiver acima do limite superior de quantificação (ULoQ), poderá ser diluído com 99 partes de diluente de espécimes Aptima (1:100) da seguinte forma:

   i. Coloque 30 µl de espécime no SAT ou num tubo secundário.

   ii. Adicione 2970 µl de diluente de espécimes Aptima.

   iii. Tape o tubo.

   iv. Inverta suavemente 5 vezes para misturar.

   Os espécimes diluídos na proporção de 1:100 podem ser testados utilizando a opção 1:100 do sistema Panther (consulte o *Manual de instruções do Panther/Panther Fusion System* para obter mais informações). O software irá comunicar automaticamente um resultado final ao aplicar o fator de diluição. Estes espécimes serão sinalizados como espécimes diluídos.

   Nota: *Para espécimes diluídos com concentrações puras acima do ULoQ, os resultados serão elaborados utilizando notação científica.*

6. Imediatamente antes de carregar os espécimes num suporte de amostras, centrifugue cada espécime de 1000 g a 3000 *g* durante 10 minutos. Não remova as tampas. A existência de bolhas no tubo compromete a deteção de nível do sistema Panther.

   Consulte *Preparação do sistema*, etapa F.2 abaixo, para obter informação sobre o carregamento do suporte e a remoção das tampas.

F. Preparação do sistema

1. Configure o sistema de acordo com as instruções do *Manual de instruções do Panther/Panther Fusion System* e *das Notas sobre o procedimento*. Certifique-se de que são utilizados suportes de reagente e adaptadores de TCR de dimensão adequada.
2. Carregue as amostras no respetivo suporte. Execute os seguintes passos para cada tubo de amostra (espécime e, quando necessário, calibrador e controlos):
   a. Desaperte a tampa de um tubo de amostra, mas não a remova já.

      Nota: *Tenha especial cuidado para evitar a contaminação por disseminação de aerossóis. Desaperte as tampas das amostras com cuidado.*

   b. Carregue o tubo de amostra no respetivo suporte.
   c. Repita os passos 2.a e 2.b para cada amostra restante.
   d. Depois de as amostras terem sido carregadas no suporte de amostras, remova e elimine a tampa de cada tubo de amostra num suporte de amostras. Para evitar a contaminação, não passe uma tampa sobre quaisquer outros suportes de amostras ou tubos de amostras.
   e. Se necessário, use uma pipeta de transferência descartável e nova para remover quaisquer bolhas ou espuma.
   f. Depois de removida a última tampa, carregue o suporte de amostras numa zona de amostras.

      Nota: *Se tentar executar outros tipos de ensaios e de amostras ao mesmo tempo, fixe o retentor de amostras antes de carregar o suporte de amostras numa zona de amostras.*

   g. Repita os passos 2.a a 2.f para o suporte de amostras seguinte.

Notas sobre o procedimento

A. Calibrador e controlos

1. Os tubos de calibrador positivo qHCV, controlo positivo baixo qHCV, controlo positivo alto qHCV e de controlo negativo qHCV podem ser carregados em qualquer posição no suporte de amostras e em qualquer corredor da zona de amostras do sistema Panther. A pipetagem de espécimes começa quando se verificar uma das duas condições seguintes:
   a. O calibrador e os controlos estão atualmente a ser processados pelo sistema.
   b. Os resultados válidos para os controlos e calibrador são registados no sistema.
2. Quando os tubos de calibrador e controlos tiverem sido pipetados e estiverem a ser processados pelo kit de reagente do Aptima HCV Quant Dx assay, os espécimes podem ser testados com o kit reconstituído associado até um máximo de 24 horas, **a não ser que:**
   a. Os resultados do calibrador ou do controlo sejam inválidos.
   b. O respetivo kit de reagente de ensaio seja retirado do sistema.
   c. O respetivo kit de reagente de ensaio tenha ultrapassado os limites de estabilidade.

3. O calibrador e cada tubo de controlo só podem ser usados uma única vez. As tentativas para usar o tubo mais do que uma vez podem dar origem a erros de processamento.

B. Pó das luvas

Como em qualquer sistema de reagentes, o excesso de pó em algumas luvas pode causar a contaminação de tubos abertos. Recomenda-se a utilização de luvas sem pó.

Controlo de qualidade

Um resultado de uma execução ou espécime pode ser invalidado por um operador se tiverem sido observadas dificuldades técnicas, do operador ou do instrumento, durante a execução do ensaio e se estas estiverem documentadas. Neste caso, será necessário testar novamente os espécimes.

Calibração do ensaio

Para gerar resultados válidos, é necessário concluir uma calibração do ensaio. Um calibrador positivo único é executado em triplicado de cada vez que um kit de reagente é carregado no sistema Panther. Depois de estabelecida, a calibração é válida durante um máximo de 24 horas. O software do Panther System alerta o operador quando uma calibração for necessária. O operador lê um coeficiente de calibração que se encontra na folha de códigos de barras do lote mestre fornecida com cada kit de reagente.

Durante o processamento, os critérios de aceitação do calibrador são automaticamente verificados pelo software do Panther System. Se menos do que duas réplicas do calibrador forem válidas, o software invalidará automaticamente a execução. As amostras de uma execução invalidada devem ser novamente testadas com um calibrador e controlos recém-preparados.

Controlos negativo e positivo

Para gerar resultados válidos, deve ser testado um conjunto de controlos de ensaio. Deve ser testada uma réplica do controlo negativo, uma do controlo positivo baixo e outra do controlo positivo alto sempre que um kit de reagente for carregado no sistema Panther. Depois de estabelecidos, os controlos são válidos durante um máximo de 24 horas. O software do Panther System alerta o operador quando os controlos forem necessários.

Durante o processamento, os critérios de aceitação dos controlos são automaticamente verificados pelo software do Panther System. Para gerar resultados válidos, o controlo negativo deve apresentar um resultado de “Não detetado” e os controlos positivos devem obter resultados dentro dos parâmetros predefinidos (alvo nominal do LPC: 2,36 $\log_{10}$ UI/ml, alvo nominal do HPC: 5,36 $\log_{10}$ UI/ml). Se algum dos controlos tiver um resultado inválido, o software invalidará automaticamente a execução. As amostras de uma execução invalidada devem ser novamente testadas com um calibrador e controlos recém-preparados.

Calibrador interno/controlo interno

Cada amostra contém um calibrador interno/controlo interno (IC). Durante o processamento, os critérios de aceitação do IC são automaticamente verificados pelo software do Panther System. Se um resultado de IC for inválido, o resultado da amostra é invalidado. É necessário repetir o teste de cada amostra com um resultado de IC inválido para obter um resultado válido.

O software do Panther system foi concebido para verificar os processos com exatidão, quando os procedimentos são feitos de acordo com as instruções fornecidas neste folheto informativo e no *Manual de instruções do Panther/Panther Fusion System*.

Interpretação de resultados

O sistema Panther determina automaticamente a concentração de RNA do HCV para espécimes e controlos mediante a comparação dos resultados com uma curva de calibração. As concentrações de RNA do HCV são apresentadas em UI/ml e log_{10} UI/ml. A interpretação de resultados é fornecida na Tabela 1. Se utilizar a diluição 1:3 ou 1:100 para espécimes diluídos, o sistema Panther calcula automaticamente a concentração de RNA do HCV para o espécime não diluído, multiplicando a concentração diluída pelo fator de diluição e os espécimes diluídos são assinalados como diluídos.

Nota: *No caso de espécimes diluídos, os resultados indicados como "Não detetados" ou "<10 detetado" podem ser gerados por diluição de um espécime com uma concentração acima, mas próxima do LoD ou LLoQ (limite de deteção ou limite inferior de quantificação). Caso não se obtenha um resultado quantitativo, recomenda-se a colheita e teste de outro espécime não diluído.*

O sistema Panther não fornece um resultado qualitativo (isto é, "Reativo" ou "Não reativo") para fins de diagnóstico. O operador tem de interpretar a concentração de RNA do HCV apresentada convertendo-a num resultado qualitativo (Tabela 1). Os espécimes com resultados apresentados como "Não detetado" são não reativos para o RNA do HCV. Os espécimes com resultados indicados como "<10 detetado", com resultados indicados dentro do intervalo linear e >100.000.000 (limite superior de quantificação) indicam que foi detetado RNA do HCV e que estes espécimes foram reativos para o RNA do HCV.

Tabela 1: Interpretação de resultados

Resultado do Aptima HCV Quant Dx Assay apresentado		Interpretação da concentração do RNA do HCV	Interpretação qualitativa do diagnóstico do utilizador[a]
UI/ml	Valor Log_{10}[b]		
Não detetado	Não detetado	RNA do HCV não detetado.	Não reativo para RNA do HCV
< 10 detetado	< 1,00	Foi detetado RNA do HCV, mas num nível abaixo do LLoQ	Reativo para RNA do HCV
10 a 100 000 000	1,00 a 8,00	A concentração de RNA do HCV situa-se dentro do intervalo linear de 10 a 100 000 000 UI/ml	Reativo para RNA do HCV
> 100 000 000	> 8,00	A concentração do RNA do HCV está acima do limite superior de quantificação (ULoQ)	Reativo para RNA do HCV
Inválido[c]	Inválido[c]	Ocorreu um erro na produção do resultado. O espécime deve ser novamente testado.	Inválido

[a] Uma interpretação de diagnóstico pode ser feita a partir de espécimes de soro ou plasma que não tenham sido diluídas.
[b] O valor é truncado a duas casas decimais.
[c] Os resultados inválidos são apresentados em letra de cor azul.

Os critérios de aceitação para cada um dos controlos do Aptima HCV Quant Dx assay são descritos na Tabela 2.

Nota: *O intervalo de recuperação apresentado abaixo varia com base no valor atribuído a cada lote específico. Consulte a concentração atribuída apresentada na Folha do Código de Barras do controlo proporcionada em cada caixa de Controlo.*

Tabela 2: Critérios de aceitação para o intervalo de recuperação dos controlos de Aptima HCV Quant Dx Assay

Componente	Intervalo de recuperação para execuções válidas
Controlo negativo	N/A
Controlo positivo baixo	+/- 0,5 log_{10} UI/ml
Controlo positivo alto	+/- 0,5 log_{10} UI/ml

Limitações

A. A utilização deste ensaio está limitada a pessoal que tenha recebido formação relativa ao procedimento. O não cumprimento das instruções fornecidas neste folheto informativo pode levar a resultados erróneos.

B. A fiabilidade dos resultados depende da colheita, do transporte, da conservação e do processamento adequados dos espécimes.

C. Apesar de ser raro, poderão ocorrer mutações em regiões altamente conservadas do genoma viral abrangido pelos “primers” e/ou sondas do Aptima HCV Quant Dx assay, que poderão resultar na falha de deteção do vírus.

Desempenho analítico

Limite de deteção (LoD) utilizando o 2º Padrão Internacional da OMS

O limite de deteção (LoD) do ensaio é definido como a concentração de RNA do HCV que é detetada com uma probabilidade igual ou superior a 95% de acordo com a norma CLSI EP17-A2.[18]

O LoD foi determinado testando painéis do 2º Padrão Internacional da OMS para o RNA do vírus da hepatite C (NIBSC 96/798 genótipo 1) diluído em soro e plasma humano EDTA HCV negativo. Testaram-se um mínimo de 36 réplicas de cada diluição com cada um dos três lotes de reagentes, para um mínimo de 108 réplicas por diluição. Realizou-se a análise Probit para gerar os limites de deteção previstos. Os valores de LoD são os resultados do lote de reagentes com o limite de deteção previsto mais elevado. O LoD de 95% do Aptima HCV Quant Dx assay utilizando o 2º Padrão Internacional da OMS é 4,3 UI/ml para plasma e 3,9 UI/ml para soro.

Limite de deteção em vários genótipos do HCV

O LoD foi determinado testando diluições dos espécimes clínicos HCV positivos para os genótipos 1, 2, 3, 4, 5 e 6 em soro e plasma humano HCV negativo. As concentrações foram determinadas utilizando um ensaio aprovado. Foram testadas, no mínimo, 20 réplicas de cada membro do painel com cada um dos três lotes de reagentes, para um mínimo de 60 réplicas por membro do painel. Realizou-se a análise Probit para gerar os limites de deteção previstos de 95%. Os valores de LoD mostrados na Tabela 3 são os resultados do lote de reagentes com o limite de deteção previsto mais elevado.

Tabela 3: Limite de deteção em vários genótipos do HCV utilizando espécimes clínicos

Genótipo	Limite de deteção previsto	Concentração (UI/ml)	
		Plasma	Soro
1	95%	4,0	5,2
2	95%	2,8	4,0
3	95%	4,3	3,4
4	95%	4,8	2,3
5	95%	2,1	3,3
6	95%	4,1	3,9

Intervalo linear

O intervalo linear foi estabelecido testando painéis de Armored RNA (aRNA) do HCV 1a diluído em soro e plasma humano HCV negativo, de acordo com a norma CLSI EP06-A.[19] A concentração dos painéis variou entre 1,0 log_{10} UI/ml e 8,2 log_{10} UI/ml. O Aptima HCV Quant Dx assay demonstrou linearidade no intervalo testado, com um limite superior da quantificação (ULoQ) de 8,0 log_{10} UI/ml, conforme apresentado na Figura 6.

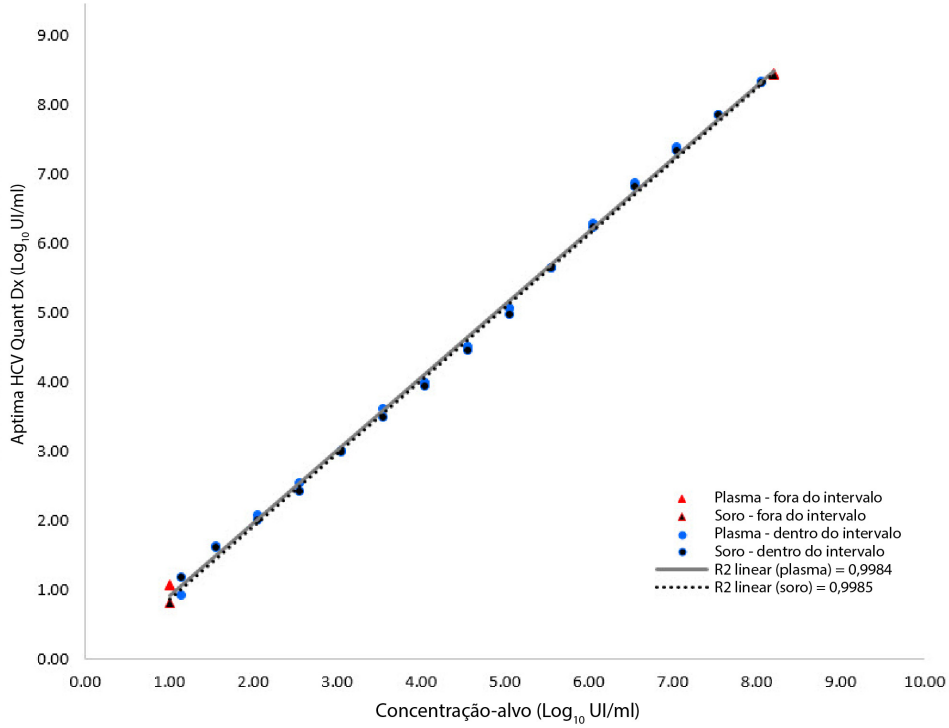


Figura 6. Linearidade no plasma e soro

Linearidade nos vários genótipos do HCV

A linearidade e o intervalo linear dos genótipos do HCV 1 (1a para plasma e 1b para soro) a 6 foram estabelecidos testando espécimes clínicos positivos individuais diluídos, um para cada genótipo do HCV para o intervalo inferior do ensaio combinados com aRNA (HCV 1a) para o intervalo superior do ensaio (acima de 100 000 UI/ml). Foram testadas diluições em soro e plasma humano negativos para todos os genótipos. Foi demonstrada linearidade para todos os seis genótipos em todo o intervalo testado, conforme apresentado na Figura 7 para plasma e na Figura 8 para soro.

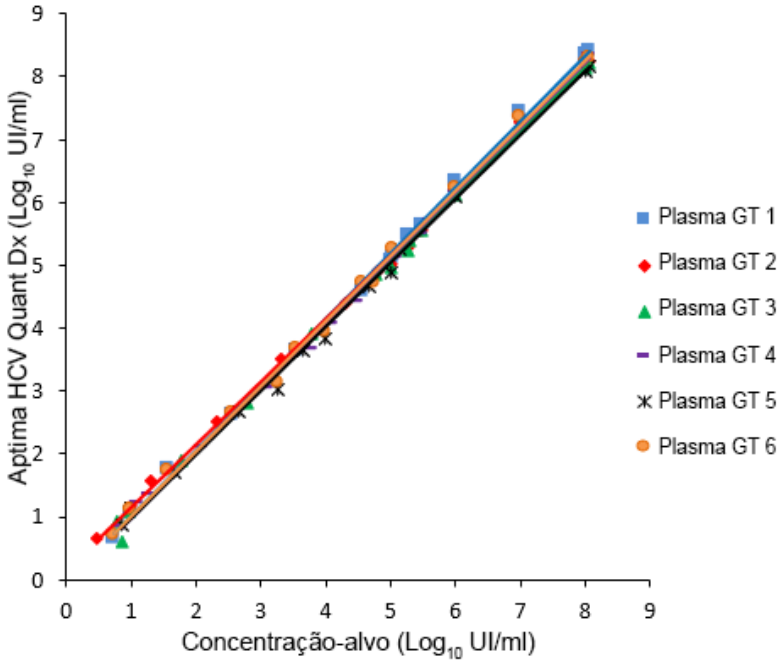


Figura 7. Intervalo linear e linearidade (Plasma)

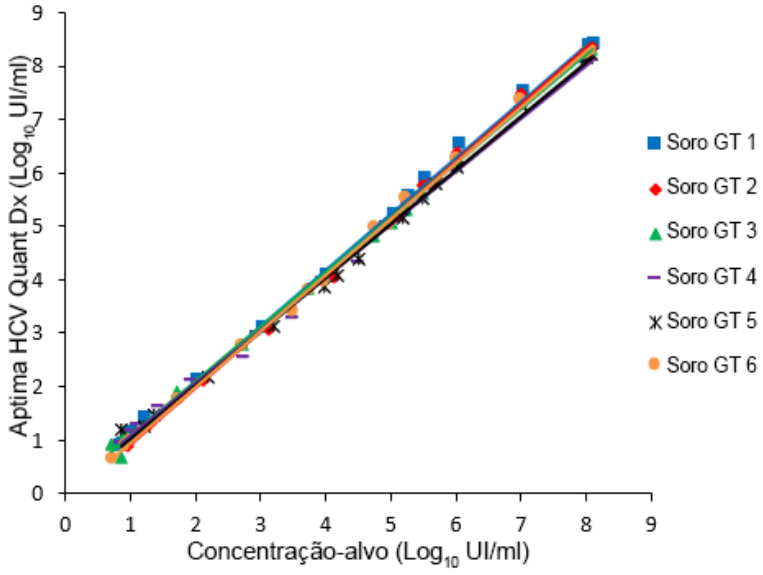


Figura 8. Intervalo linear e linearidade (Soro)

Limite inferior de quantificação utilizando o 2º Padrão Internacional da OMS

O limite inferior de quantificação (LLoQ) é definido como a concentração mais baixa na qual o RNA do HCV é quantificado com fiabilidade dentro de um erro total, de acordo com a norma CLSI EP17-A2.[18] O erro total foi estimado por dois métodos: Erro analítico total (EAT) = |desvio sistemático| + 2 DP e Erro total (ET) = SQRT(2) x 2 DP. Para garantir a exatidão e a precisão das medições, o erro total do Aptima HCV Quant Dx assay foi definido para 1 $\log_{10}$ UI/ml (ou seja, no LLoQ, a diferença entre duas medições superior a 1 $\log_{10}$ UI/ml é estatisticamente significativa).

O LLoQ foi determinado testando painéis do 2º Padrão Internacional da OMS para o RNA do vírus da hepatite C (NIBSC 96/798 genótipo 1) diluído em plasma e soro humano HCV negativo. Testaram-se trinta e seis (36) réplicas de cada diluição com cada um dos três lotes de reagentes, para um mínimo de 108 réplicas por diluição. Os resultados do lote de reagentes com a concentração mais elevada, igual ou superior ao LoD e segundo os requisitos do ET e EAT, são apresentados na Tabela 4 para plasma e na Tabela 5 para soro. O LLoQ conforme o 2º Padrão Internacional da OMS é de 7 UI/ml (0,82 $\log_{10}$ UI/ml) para plasma e 9 UI/ml (0,93 $\log_{10}$ UI/ml) para soro como está resumido na Tabela 6. O LLoQ foi estabelecido em vários genótipos (consulte *Determinação do limite inferior de quantificação (LLoQ) em vários genótipos do HCV*). Estes dados do genótipo estabelecem o LLoQ global para o ensaio como 10 UI/ml.

Tabela 4: LLoQ utilizando o 2º Padrão Internacional da OMS para o HCV diluído em plasma

Lote de reagente	Aptima HCV Quant Dx	Aptima HCV Quant Dx	DP	Desvio sistemático	ET calculado	EAT calculado
	(UI/ml)	($\log_{10}$ UI/ml)	($\log_{10}$ UI/ml)	($\log_{10}$ UI/ml)	($\log_{10}$ UI/ml)	($\log_{10}$ UI/ml)
1	3	0,53	0,30	0,05	0,85	0,65
	5	0,73	0,31	-0,04	0,88	0,67
	12	1,08	0,23	0,18	0,65	0,64
2	2	0,37	0,32	-0,11	0,92	0,75
	7	0,82	0,27	0,04	0,78	0,59
	9	0,96	0,26	0,06	0,74	0,58
3	3	0,46	0,25	-0,01	0,71	0,52
	6	0,76	0,34	-0,02	0,95	0,69
	8	0,89	0,26	-0,01	0,73	0,53

DP=desvio padrão

Tabela 5: LLoQ utilizando o 2º Padrão Internacional da OMS para o HCV diluído em soro

Lote de reagente	Aptima HCV Quant Dx	Aptima HCV Quant Dx	DP	Desvio sistemático	ET calculado	EAT calculado
	(UI/ml)	($\log_{10}$ UI/ml)	($\log_{10}$ UI/ml)	($\log_{10}$ UI/ml)	($\log_{10}$ UI/ml)	($\log_{10}$ UI/ml)
1	4	0,65	0,33	0,17	0,94	0,84
	8	0,93	0,32	0,15	0,90	0,79
	12	1,08	0,28	0,18	0,80	0,74
2	3	0,52	0,36	0,04	1,02	0,76
	8	0,89	0,32	0,11	0,90	0,75
	10	1,01	0,21	0,11	0,60	0,53
3	3	0,47	0,39	-0,01	1,11	0,79
	5	0,71	0,30	-0,06	0,86	0,67
	9	0,95	0,29	0,05	0,83	0,63

DP=desvio padrão

Tabela 6: Resumo do LLoQ utilizando o 2º Padrão Internacional da OMS para o HCV

Lote de reagente	LLoQ do plasma		LLoQ do soro	
	UI/ml	log_{10} UI/ml	UI/ml	log_{10} UI/ml
1	5	0,73	8	0,93
2	7	0,82	8	0,89
3	6	0,76	5	0,71

Determinação do limite inferior de quantificação (LLoQ) em vários genótipos do HCV

O LLoQ foi determinado testando diluições dos espécimes clínicos HCV positivos para os genótipos 1, 2, 3, 4, 5 e 6 em soro e plasma humano HCV negativo. A atribuição da concentração dos espécimes clínicos foi determinada utilizando um ensaio de comparação. Foram testadas trinta e seis (36) réplicas de cada membro do painel com cada um dos três lotes de reagentes, para um mínimo de 108 réplicas por membro do painel. Os resultados do lote de reagentes com a concentração mais elevada igual ou superior ao LoD e segundo os requisitos do ET e EAT, calculada de acordo com a norma CLSI EP 17-A2,[18] são apresentados na Tabela 7 para plasma e na Tabela 8 para soro. Apenas são apresentados um resultado superior e um resultado inferior ao LLoQ por genótipo na Tabela 7 e na Tabela 8 abaixo, uma vez que estes resultados refletem o LLoQ esperado. O LLoQ para os genótipos 1 a 6 no plasma e soro é resumido na Tabela 9. O genótipo 6 teve o LLoQ mais elevado para soro, a 10 UI/ml. Estes dados estabelecem o LLoQ global para o ensaio como sendo de 10 UI/ml.

Tabela 7: Determinação do LLoQ em vários genótipos no plasma

Genótipo	Aptima HCV Quant Dx[a] (UI/ml)	Aptima HCV Quant Dx[a] (log_{10} UI/ml)	DP (log_{10} UI/ml)	Desvio sistemático (log_{10} UI/ml)	ET calculado (log_{10} UI/ml)	EAT calculado (log_{10} UI/ml)
1	4	0,65	0,38	0,17	1,08	0,94
	8	0,88	0,35	0,11	1,00	0,82
	10	0,99	0,24	0,09	0,68	0,56
2	4	0,63	0,40	0,16	1,13	0,95
	6	0,76	0,29	0,15	0,81	0,73
	13	1,12	0,30	0,34	0,86	0,94
3	3	0,52	0,30	-0,26	0,85	0,86
	6	0,80	0,21	-0,20	0,59	0,62
	8	0,89	0,26	-0,19	0,74	0,71
4	4	0,61	0,39	-0,29	1,11	1,07
	7	0,82	0,31	-0,18	0,87	0,80
	10	1,01	0,29	-0,07	0,83	0,65
5	4	0,57	0,37	0,10	1,06	0,85
	7	0,87	0,31	0,09	0,89	0,72
	14	1,15	0,16	0,15	0,44	0,46
6	5	0,66	0,36	0,36	1,02	1,08
	6	0,79	0,28	0,31	0,80	0,87
	14	1,14	0,26	0,36	0,74	0,89

DP=desvio padrão

[a]Foram executados níveis adicionais, mas estes dados não estão indicados na tabela.

Tabela 8: Determinação do LLoQ em vários genótipos no soro

Genótipo	Aptima HCV Quant Dx[a] (UI/ml)	Aptima HCV Quant Dx[a] (log_{10} UI/ml)	DP (log_{10} UI/ml)	Desvio sistemático (log_{10} UI/ml)	ET calculado (log_{10} UI/ml)	EAT calculado (log_{10} UI/ml)
1	6	0,75	0,36	-0,03	1,02	0,75
	8	0,88	0,32	-0,02	0,89	0,65
	11	1,04	0,29	0,04	0,81	0,61
2	3	0,48	0,35	0,00	0,99	0,70
	6	0,80	0,31	0,02	0,86	0,63
	11	1,04	0,25	0,04	0,72	0,54
3	3	0,45	0,25	-0,33	0,72	0,84
	5	0,67	0,22	-0,33	0,63	0,78
	8	0,92	0,19	-0,16	0,54	0,54
4	2	0,19	0,27	0,19	0,77	0,73
	4	0,65	0,32	0,35	0,91	0,99
	4	0,65	0,34	0,17	0,96	0,85
5	3	0,48	0,37	0,02	1,04	0,76
	5	0,72	0,29	-0,04	0,81	0,61
	11	1,04	0,27	0,10	0,77	0,65
6	4	0,58	0,37	0,11	1,04	0,84
	10	0,99	0,22	0,21	0,61	0,64
	18	1,25	0,22	0,25	0,63	0,70

DP=desvio padrão

[a]Foram executados níveis adicionais, mas estes dados não estão indicados na tabela.

Tabela 9: Resumo do LLoQ em vários genótipos no plasma e soro

Genótipo do HCV	LLoQ do plasma		LLoQ do soro	
	UI/ml	log_{10} UI/ml	UI/ml	log_{10} UI/ml
1	8	0,88	8	0,88
2	6	0,76	6	0,80
3	6	0,80	5	0,67
4	7	0,82	4	0,65
5	7	0,87	5	0,72
6	6	0,79	10	0,99

Rastreabilidade ao padrão da OMS

Durante o desenvolvimento e o fabrico do produto, foi utilizada uma série de padrões secundários com concentrações conhecidas para estabelecer a rastreabilidade ao padrão da OMS. As concentrações testadas para o padrão da OMS para HCV situaram-se entre 4,00 e 2,30 log_{10} UI/ml, a concentração dos padrões secundários situou-se entre 1,50 e 8,46 log_{10} UI/ml. Os controlos e os calibradores do Aptima HCV Quant Dx assay também foram testados, juntamente com os padrões secundários e o padrão da OMS. Todos os painéis tiveram resultados semelhantes e distribuíram-se de forma linear pelo intervalo linear, conforme apresentado na Figura 9.

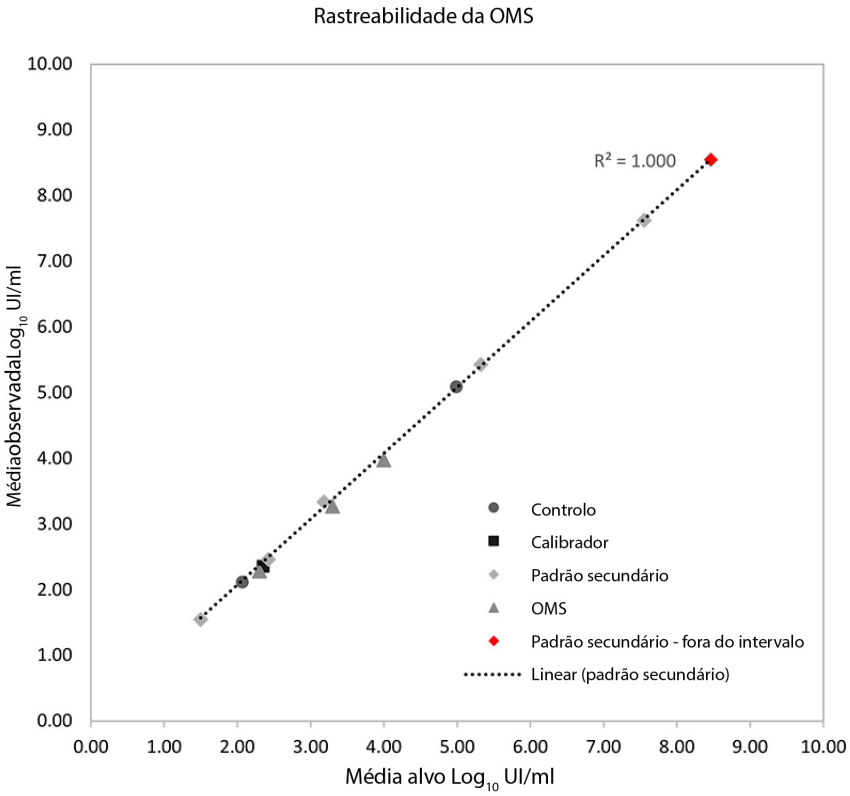


Figura 9. Rastreabilidade entre as concentrações-alvo do 2º Padrão da OMS para o HCV e a concentração observada do Aptima HCV Quant Dx Assay

Precisão

O painel de precisão do Aptima HCV Quant Dx foi criado diluindo plasma clínico HCV positivo e aRNA do HCV 1a em plasma clínico HCV negativo (os dois membros do painel mais elevados foram aRNA). Sete membros do painel positivo abrangeram o intervalo do ensaio (1,86 log_{10} UI/ml a 7,68 log_{10} UI/ml) e foram testados em três réplicas por execução por um operador, utilizando um lote de reagentes piloto num sistema Panther ao longo de 21 dias de testes, duas execuções por dia.

A Tabela 10 mostra a precisão dos resultados do ensaio (em log_{10} UI/ml) entre execuções, dentro das execuções e globais. A variabilidade total foi de ≤ 0,14 em todos os membros do painel, principalmente devido à variabilidade intra-execução (por exemplo, erro aleatório).

Tabela 10: Precisão do Aptima HCV Quant Dx Assay

N	Concentração média (UI/ml)	Concentração média (log_{10} UI/ml)	Inter-dia DP	Entre execuções DP	Intra-execução DP	Total DP
126	72	1,86	0,02	0,06	0,12	0,14
126	182	2,26	0,00	0,07	0,07	0,10
126	617	2,79	0,00	0,06	0,08	0,10
126	1950	3,29	0,00	0,07	0,05	0,08
126	8128	3,91	0,00	0,06	0,07	0,10
126	616 595	5,79	0,03	0,04	0,06	0,08
125[a]	47 863 009	7,68	0,05	0,05	0,06	0,09

DP=desvio padrão

[a] Número de resultados válidos no intervalo linear do ensaio.

Nota: A variabilidade de alguns fatores pode ser numericamente negativa, o que pode ocorrer se a variabilidade devido a esses fatores for muito pequena. Quando tal sucede, o DP é mostrado como 0,00.

Substâncias potencialmente interferentes

Foi avaliada a suscetibilidade do Aptima HCV Quant Dx assay à interferência por níveis elevados de substâncias endógenas ou fármacos frequentemente receitados a indivíduos infetados pelo HCV. Foram testadas amostras de plasma HCV negativas e amostras aditivadas com HCV a uma concentração de aproximadamente 15 UI/ml (1,2 log_{10} UI/ml) e 1995 UI/ml (3,3 log_{10} UI/ml) de RNA do HCV.

Não foi observada qualquer interferência no desempenho do ensaio na presença de albumina (90 mg/ml), hemoglobina (5 mg/ml), triglicéridos (30 mg/ml) ou bilirrubina não conjugada (0,2 mg/ml).

Foram testados com o Aptima HCV Quant Dx assay espécimes de plasma clínicos de pacientes com níveis elevados de substâncias definidas ou de pacientes com as doenças, dez amostras para cada substância, listadas na Tabela 11. Não foi observada qualquer interferência no desempenho do ensaio.

Tabela 11: Tipos de espécimes clínicos testados

	Tipos de espécimes clínicos
1	Fator reumatoide (FR)
2	Anticorpos antinucleares (ANA)
3	Anticorpos anti-Jo-1 (JO-1)
4	Lúpus eritematoso sistémico (LES)
5	Artrite reumatoide (AR)
6	Esclerose múltipla (EM)
7	Hiperglobulinemia
8	Alanina-aminotransferase (ALT) elevada
9	Aspartato-aminotransferase (AST) elevada
10	Cirrose alcoólica (CA)
11	Mieloma múltiplo (MM)
12	Lipémico (lípidos elevados)
13	Ictérico (bilirrubina elevada)
14	Hemolisado (hemoglobina elevada)
15	Albumina proteica elevada
16	Anticorpos anti-HBV
17	Anticorpos anti-HIV-1
18	Anticorpos anti-HIV-2

Não foi observada qualquer interferência no desempenho do ensaio na presença das substâncias exógenas indicadas na Tabela 12 em concentrações pelo menos três vezes a $C_{máx}$ (plasma humano).

Tabela 12: Substâncias exógenas

Grupo de substâncias exógenas	Substâncias exógenas testadas
1	Telaprevir, claritromicina, interferão alfa-2a, dolutegravir, azitromicina
2	Simeprevir, sofosbuvir
3	Efavirenz, boceprevir, peginterferão alfa-2b, emtricitabina, raltegravir, amoxicilina
4	Sulfato de abacavir, ribavirina, dasabuvir, rilpivirina, rifampina/rifampicina
5	Lopinavir, tenofovir, lamivudina, valganciclovir
6	Heparina, EDTA, citrato de sódio

Desempenho com espécimes HCV negativos

A especificidade foi determinada utilizando 198 espécimes clínicos frescos e 538 congelados HCV negativos. Um total de 370 espécimes de plasma e 366 de soro foram confirmados como sendo HCV negativos utilizando ensaios aprovados. A especificidade foi calculada como a percentagem das amostras HCV negativas com os resultados de "não detetado". O RNA do HCV não foi detetado em todas as 736 amostras. A especificidade foi de 100% (736/736, CI de 95%: 99,6 -100%).

Tabela 13: Desempenho em espécimes clínicos de plasma e soro HCV negativos

	Plasma fresco	Plasma congelado	Plasma total	Soro fresco	Soro congelado	Soro total	Combinado
Réplicas válidas (n)	100	270	370	98	268	366	736
Não detetado	100	270	370	98	268	366	736
Especificidade (CI de 95%)	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
	(97,1-100)	(98,9-100)	(99,2-100)	(97,0-100)	(98,9-100)	(99,2-100)	(99,6-100)

CI=intervalo de confiança

Especificidade analítica

A potencial reatividade cruzada com os agentes patogénicos listados na Tabela 14 foi avaliada em plasma humano HCV negativo na presença ou ausência de aproximadamente 15 UI/ml (1,2 $\log_{10}$ UI/ml) e 1995 UI/ml (3,3 $\log_{10}$ UI/ml) de HCV. Não foi observada reatividade cruzada. Não foi observada interferência na presença de agentes patogénicos.

Tabela 14: Agentes patogénicos testados para a especificidade analítica

Agente patogénico	Concentração	
Vírus da hepatite A	100 000	cópias/ml
Vírus da hepatite B (HBV)	100 000	UI/ml[a]
Vírus da hepatite G	1470	genoma/ml
HIV-1	100 000	cópias/ml
HIV-2	100 000	PFU/ml[b]
Vírus herpes simplex 1 (HSV-1)	100 000	PFU/ml
Vírus herpes simplex 2 (HSV-2)	100 000	PFU/ml
Vírus do herpes 6B humano	100 000	cópias/ml
Vírus do herpes 8 humano	2667	TCID50 U/ml[c]
Vírus linfotrópico de células T tipo 1 (HTLV-1)	100 000	vp/ml[d]
Vírus linfotrópico de células T tipo 2 (HTLV-2)	100 000	vp/ml
Parvovírus B19	100 000	UI/ml
Vírus do Nilo Ocidental	100 000	PFU/ml
Vírus do dengue 1	100 000	PFU/ml
Vírus do dengue 2	100 000	PFU/ml
Vírus do dengue 3	100 000	PFU/ml
Vírus do dengue 4	100 000	PFU/ml
Citomegalovírus	100 000	PFU/ml
Vírus Epstein-Barr	100 000	cópias/ml
Vírus da rubéola	100 000	PFU/ml
Papilomavírus humano	100 000	células/ml
Adenovírus tipo 5	100 000	TCID50 U/ml
Vírus influenza A	100 000	TCID50 U/ml
Vírus da encefalite japonesa	NA	NA
Vírus da encefalite de St. Louis	NA	NA
Vírus da encefalite de Murray Valley	2643	LD50/ml[e]
Vírus da febre amarela	100 000	células/ml

Agente patogénico	Concentração	
Corynebacterium diphtheriae	1 000 000	CFU/ml[f]
Streptococcus pneumoniae	1 000 000	CFU/ml
Staphylococcus aureus	1 000 000	CFU/ml
Propionibacterium acnes	1 000 000	CFU/ml
Staphylococcus epidermidis	1 000 000	CFU/ml
Candida albicans	1 000 000	CFU/ml
Neisseria gonorrhoeae	1 000 000	CFU/ml
Chlamydia trachomatis	1 000 000	IFU/ml[g]
Trichomonas vaginalis	1 000 000	células/ml

[a]UI/ml = Unidades internacionais por ml

[b]PFU/ml = Unidades formadoras de placa por ml

[c]TCID50 U/ml = Unidades de dose infeciosa de cultura do tecido por ml

[d]vp/ml = Partículas virais por ml

[e]LD50/ml = Dose letal por ml

[f]CFU/ml = Unidades formadoras de colónias por ml

[g]IFU/ml = Unidades formadoras de inclusão por ml

Amostras clínicas contendo vírus que não o HCV

Os agentes patogénicos listados na Tabela 15 foram avaliados pela obtenção de espécimes clínicos infetados naturalmente. Estes foram testados na presença ou ausência de aproximadamente 15 UI/ml (1,2 log_{10} UI/ml) ou 1995 UI/ml (3,3 log_{10} UI/ml) de HCV. Não foi observada reatividade cruzada. Não foi observada interferência.

Tabela 15: Amostras clínicas testadas para a especificidade analítica

Micro-organismo	Matriz	N (dadores)
HBV	Soro	5
HBV	Plasma	5
Vírus do dengue	Plasma	10
Vírus da hepatite A	Plasma	10
HTLV-1	Plasma	10
HTLV-2	Plasma	10
HIV-1	Plasma	10
Vírus do Nilo Ocidental	Plasma	10

Equivalência de matriz

Foram avaliados cento e setenta e seis conjuntos de amostras de tubos de colheita de sangue correspondentes (tubos de soro, SST, PPT, ACD, K2 EDTA, K3 EDTA) relativamente à equivalência de matriz. Destes conjuntos de amostras, 68 eram conjuntos HCV positivos infetados naturalmente e 108 eram HCV negativos. Vinte e seis dos 68 positivos foram ainda mais diluídos com 13 amostras negativas de tubos de colheita de sangue correspondentes a 1:10, 1:100 e 1:1000 ou 1:100, 1:10 000 e 1:100 000, com concentrações pelo intervalo dinâmico do ensaio (146 réplicas positivas por tubo de colheita). A correlação foi medida utilizando o tubo de colheita de soro como comparador.

Tabela 16: Estudo de equivalência de matriz

Tubo de colheita de sangue	Regressão de Deming	CI de 95% da inclinação		CI de 95% da interceção		R^2	Diferença média (log_{10})
		Limite inferior	Limite superior	Limite inferior	Limite superior		
SST	y = 1,00x - 0,01	0,99	1,01	-0,05	0,07	0,998	0,00
K2 EDTA	y = 1,01x - 0,03	0,99	1,02	-0,12	-0,07	0,995	0,00
K3 EDTA	y = 1,00x - 0,01	0,98	1,01	-0,10	0,07	0,996	-0,02
ACD	y = 1,00x - 0,14	0,99	1,01	-0,20	-0,08	0,997	-0,13
PPT	y = 1,00x - 0,01	0,98	1,01	-0,10	0,08	0,996	-0,01

Diluição de amostras utilizando diluente de espécimes Aptima (1:3)

Para avaliar a exatidão da deteção de RNA do HCV em amostras diluídas com diluente de espécimes Aptima, plasma ou soro, foram diluídas amostras de 1,67 log_{10} UI/ml a 6,34 log_{10} UI/ml a 1:3 com diluente de espécimes Aptima (240 µl de amostra combinados com 480 µl de diluente de espécimes Aptima). Cada amostra foi testada não diluída e diluída (1:3) em triplicado. Os testes foram realizados utilizando um lote de reagentes do ensaio num sistema Panther com dois lotes de diluente de espécimes Aptima. A diferença entre os resultados dos testes não diluídos e diluídos foi calculada para cada conjunto de amostras, como mostra a Tabela 17 para plasma e a Tabela 18 para soro.

Tabela 17: Resumo da comparação de matrizes de diluição na proporção de 1:3 de espécimes de plasma de Log_{10} UI/ml

Matriz de plasma Concentração média apresentada (log_{10} UI/ml) n = 3	Diluente Concentração média apresentada (log_{10} UI/ml) n = 6	Diferença Diluente da matriz de plasma (log_{10} UI/ml)
1,74[a]	1,57[b]	-0,18
4,56	4,36	-0,20
5,62	5,46	-0,17
3,69	3,56	-0,13
2,65	2,60	-0,05
4,18	4,09	-0,09
3,25	3,28	0,03
4,12	4,06	-0,07
3,54	3,48	-0,06
6,20	5,91	-0,30

[a]Resultado de duas réplicas. Um resultado de "Detetado", mas não quantificado.
[b]Resultado de quatro réplicas. Dois resultados de "Detetado", mas não quantificados.

Tabela 18: Resumo da comparação de matrizes de diluição na proporção de 1:3 de espécimes de soro de Log_{10} UI/ml

Matriz de soro Concentração média apresentada (log_{10} UI/ml) n = 3	Diluente Concentração média apresentada (log_{10} UI/ml) n = 6	Diferença Diluente da matriz de soro (log_{10} UI/ml)
1,50[a]	1,80	0,30
5,32	5,14	-0,18
3,65	3,59	-0,06
4,91	4,71	-0,20
3,66	3,72	0,06
3,81	3,74	-0,07
2,42	2,60	0,18
2,65	2,88	0,23
4,90	4,70	-0,21
6,17	6,00	-0,17

[a]Resultado de duas réplicas. Um resultado de “Detetado”, mas não quantificado.

Diluição de amostras utilizando diluente de espécimes Aptima (1:100)

Para avaliar a exatidão da deteção de RNA do HCV em amostras diluídas com diluente de espécimes Aptima, plasma ou soro, foram testados em triplicado cinco espécimes de plasma infetados naturalmente e cinco espécimes de soro infetados naturalmente, juntamente com dez espécimes cada de plasma e soro HCV negativo aditivadas com aRNA do HCV com alvo acima do ULoQ, 8 log_{10} UI/ml a 8,30 log_{10} UI/ml. Foi realizada uma diluição na proporção de 1:100 com uma parte de amostra e 99 partes de diluente de espécimes Aptima imediatamente antes dos testes. Os testes foram realizados utilizando um lote de reagentes do ensaio num sistema Panther com dois lotes de diluente de espécimes Aptima. A diferença entre os resultados dos testes não diluídos e diluídos foi calculada para cada conjunto de amostras, como mostra a Tabela 19 para plasma e a Tabela 20 para soro.

Tabela 19: Resumo da comparação de matrizes de diluição na proporção de 1:100 de espécimes de plasma de Log_{10} UI/ml

Matriz	Diluição	Matriz de plasma Concentração média apresentada (log_{10} UI/ml) n = 3	Diluente Concentração média apresentada (log_{10} UI/ml) n = 6	Diferença
Plasma	1:100	8,03[a]	7,95	-0,08
		8,07[a]	7,93	-0,15
		8,14[a]	7,97	-0,17
		8,16[a]	7,94	-0,22
		8,09[a]	7,96	-0,13
		8,38[a]	7,97	-0,42
		7,98[a]	7,89	-0,09
		8,08[a]	7,89	-0,19
		8,14[a]	7,92	-0,22
		8,08[a]	7,97	-0,11
		6,41	6,22	-0,19
		6,73	6,58	-0,15
		6,88	6,75	-0,14
		6,54	6,51	-0,03
		6,55	6,29	-0,27

[a]Espécime ao qual foi adicionado um analito

Tabela 20: Resumo da comparação de matrizes de diluição na proporção de 1:100 de espécimes de soro de Log_{10} UI/ml

Matriz	Diluição	Matriz de soro Concentração média apresentada (log_{10} UI/ml) n = 3	Diluente Concentração média apresentada (log_{10} UI/ml) n = 6	Diferença
Soro	1:100	8,04[a]	7,94	-0,09
		8,07[a]	7,91	-0,16
		7,99[a]	7,91	-0,08
		8,03[a]	7,92	-0,11
		7,99[a]	7,89	-0,09
		8,05[a]	7,85	-0,20
		8,16[a]	7,93	-0,23
		8,16[a]	7,90	-0,26
		8,06[a]	7,89	-0,17
		8,26[a]	7,92	-0,34
		7,34	7,09	-0,25
		7,07	6,83	-0,24
		7,18	6,80	-0,38
		7,35[b]	7,12	-0,23
		7,07	6,68	-0,39

[a]Espécime ao qual foi adicionado um analito
[b] Resultado de duas em três réplicas testadas. Uma réplica outlier removida.

Confirmação do LLoQ em espécimes clínicos diluídos em diluente de espécimes

O LLoQ do Aptima HCV Quant assay foi confirmado com espécimes clínicos do genótipo 1 do HCV diluídos em diluente de espécimes Aptima. Os espécimes foram preparados em soro e plasma humano HCV negativo a 21, 30 e 45 UI/ml. Cada painel foi diluído na proporção de 1:3 em diluente de espécimes Aptima antes dos testes de forma a obter concentrações finais de aproximadamente 7, 10 e 15 UI/ml. Foram testadas trinta e seis (36) réplicas de cada membro do painel com um lote de reagente em três dias. Foi confirmado um LLoQ ≤ 10 UI/ml para soro e plasma HCV diluídos em diluente de espécimes Aptima como mostra a Tabela 21.

Tabela 21: Confirmação do LLoQ – amostras clínicas em diluente de espécimes Aptima

Matriz	Concentração-alvo (UI/ml)	Concentração-alvo (log_{10} UI/ml)	% Detetado	Aptima HCV Quant Dx (UI/ml)	Aptima HCV Quant Dx (log_{10} UI/ml)	DP (log_{10} UI/ml)	Desvio sistemático (log_{10} UI/ml)	ET calculado (log_{10} UI/ml)	EAT calculado (log_{10} UI/ml)
Plasma	7	0,85	100%	9	0,94	0,25	0,10	0,71	0,60
Soro	7	0,85	100%	9	0,96	0,21	0,12	0,60	0,54

Precisão das amostras diluídas

O painel de precisão do Aptima HCV Quant Dx foi criado diluindo plasma clínico HCV positivo e aRNA do HCV em plasma clínico HCV negativo. Estes foram ainda mais diluídos em diluente de espécimes Aptima. Os painéis positivos foram diluídos em diluente de espécimes Aptima. Estes foram testados em três réplicas por execução por um operador, utilizando um lote de reagentes num sistema Panther ao longo de 21 dias de testes, duas execuções por dia.

A Tabela 22 mostra a precisão dos resultados do ensaio (em log_{10} UI/ml) entre execuções, dentro das execuções, entre dias e globais. A variabilidade total foi de ≤ 0,15 em todos os membros do painel, principalmente devido à variabilidade intra-execução (por exemplo, erro aleatório).

Tabela 22: Precisão dos painéis diluídos em diluente de espécimes Aptima

Diluição	N	Concentração média (log_{10} UI/ml)	Desvio padrão			
			Inter-dia	Entre execuções	Intra-execução	Total
1:3	126	2,24	0,00	0,05	0,13	0,14
1:100	126	3,86	0,06	0,05	0,12	0,15
1:100	126	7,31	0,03	0,10	0,05	0,12

[a]Número de resultados válidos no intervalo linear do ensaio

Nota: *a variabilidade de alguns fatores pode ser numericamente negativa, o que pode ocorrer se a variabilidade devido a esses fatores for muito pequena. Quando tal sucede, o DP e o CV são mostrados como 0.*

Contaminação por transferência

Para estabelecer se o sistema Panther minimiza o risco de resultados positivos falsos decorrentes de contaminação por transferência, foi realizado um estudo utilizando painéis com vírus adicionado em três sistemas Panther. A contaminação por transferência foi avaliada utilizando amostras de plasma com adição de aRNA de titulação elevada (7 log_{10} UI/ml) dispersas entre amostras HCV negativas num padrão em tabuleiro de damas. Os testes foram realizados ao longo de quinze execuções. A taxa geral de contaminação por transferência foi de 0,14% (1/704)

Painel de seroconversão

Foram testados onze conjuntos de painéis de seroconversão do HCV, totalizando 72 amostras. Os resultados do Aptima HCV Quant Dx assay foram comparados com os resultados de teste de anticorpos do HCV. O número de dias até ao primeiro resultado reativo está indicado na Tabela 23. O Aptima HCV Quant Dx assay detetou a presença do HCV numa média de 20 dias antes dos testes de anticorpos.

Tabela 23: Resumo de dados do painel de seroconversão

ID do painel	Número de membros do painel testados	Número de membros do painel reativos			Dias até ao primeiro resultado reativo			Diferença em dias até ao primeiro resultado reativo (com base na data da colheita)	
		Aptima HCV Quant Dx	Teste 1 dos anticorpos do HCV	Teste 2 dos anticorpos do HCV	Aptima HCV Quant Dx	Teste 1 dos anticorpos do HCV	Teste 2 dos anticorpos do HCV	Dias antes do teste 1 dos anticorpos do HCV	Dias antes do teste 2 dos anticorpos do HCV
PHV911	4	4	3	3	3[a]	14	14	11	11
PHV913	4	4	0	2	0	9[b]	7	9	7
PH919	7	4	3	3	25	28	28	3	3
PH920	9	9	7	6	0[c]	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[b]	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			Média	19,36	20,73
							Mediana	14	18

O teste 1 de anticorpos HCV foi realizado com o Abbot Prism HCV assay

O teste 2 de anticorpos HCV foi realizado com o Ortho Enhanced SAVE assay, com as seguintes exceções:

Os painéis 6227 e 6229, que foram testados com o Ortho ELISA Anti-HCV 3.0 assay

[a] A primeira colheita não foi testada devido à indisponibilidade da amostra do fornecedor.

[b] Todas as colheitas neste painel foram não reativas para os anticorpos do HCV. O último dia da colheita foi utilizado como “Dias até ao primeiro resultado reativo”.

[c] A segunda colheita não foi testada devido à indisponibilidade da amostra do fornecedor

Estudo de reprodutibilidade

A reprodutibilidade foi avaliada no sistema Panther em três locais externos nos EUA. Dois operadores realizaram testes em cada centro. Cada operador realizou duas execuções por dia durante três dias, utilizando 3 lotes de reagentes durante os testes. Cada execução teve 3 réplicas de cada membro do painel. No geral, foram testadas 108 réplicas de cada membro do painel.

A reprodutibilidade foi testada utilizando membros do painel criados a partir de plasma HCV negativo. Os membros do painel positivo eram positivos para genótipo 1, genótipo 2 ou genótipo 3 do HCV. As concentrações de RNA do HCV abrangeram o intervalo linear do ensaio.

A Tabela 24 mostra a reprodutibilidade e a precisão dos resultados do ensaio para cada membro do painel positivo entre centros, entre operadores, entre lotes, entre dias, entre execuções, dentro das execuções e globais, e a proporção de réplicas com resultados fora do intervalo notificável do Aptima HCV Quant Dx assay.

O coeficiente de variação foi calculado utilizando a equação seguinte em que σ^2 é a variação da amostra dos dados após a transformação $\log_{10}$.

$$\%CV = 100 \times \sqrt{(10^{\sigma_2^{\ln(10)}} - 1)}$$

Para o membro do painel HCV negativo, foram testadas 108 réplicas e não foi detetado RNA do HCV em nenhuma das 108 réplicas (concordância negativa=100%, CI de 95%: 96,6% a 100%). Para todos os membros do painel HCV positivos, os valores de concordância foram de 100%.

Tabela 24: Reprodutibilidade dos níveis de RNA do HCV do Aptima HCV Quant Dx assay no Panther System nos membros do painel positivo

GT	N	Média observada UI/ml	Média observada Log_{10} UI/ml	Entre instalações SD (%CV)	Entre lotes SD (%CV)	Entre operadores/dias[a] SD (%CV)	Entre execuções SD (%CV)	Em execuções SD (%CV)	Total SD (%CV)	Abaixo do LLoQ n (%)	Acima do ULoQ n (%)
1	108	10,6	1,0	0,070 (16,22)	0,048 (10,98)	0,000 (0,00)	0,040 (9,20)	0,258 (64,93)	0,274 (69,94)	59 (54,6)	0 (0,0)
	107	19,5	1,3	0,034 (7,77)	0,035 (7,97)	0,009 (2,10)	0,064 (14,91)	0,169 (40,31)	0,187 (45,12)	9 (8,4)	0 (0,0)
	108	43,6	1,6	0,000 (0,00)	0,070 (16,11)	0,000 (0,00)	0,061 (14,13)	0,155 (36,82)	0,180 (43,39)	0 (0,0)	0 (0,0)
	108	602,7	2,8	0,042 (9,58)	0,035 (8,02)	0,022 (5,05)	0,023 (5,30)	0,075 (17,40)	0,098 (22,81)	0 (0,0)	0 (0,0)
	108	22710,9	4,3	0,075 (17,42)	0,045 (10,49)	0,044 (10,08)	0,058 (13,46)	0,071 (16,57)	0,135 (31,74)	0 (0,0)	0 (0,0)
	108	4195539,0	6,6	0,007 (1,65)	0,026 (6,08)	0,045 (10,43)	0,000 (0,00)	0,131 (30,97)	0,142 (33,50)	0 (0,0)	0 (0,0)
	108	58549271,2	7,8	0,010 (2,26)	0,000 (0,00)	0,022 (5,10)	0,035 (8,08)	0,105 (24,42)	0,113 (26,43)	0 (0,0)	1 (0,9)
2	108	11,3	1,0	0,062 (14,29)	0,075 (17,28)	0,112 (26,28)	0,000 (0,00)	0,290 (75,02)	0,326 (86,94)	53 (49,1)	0 (0,0)
	108	13,9	1,1	0,000 (0,00)	0,125 (29,36)	0,128 (30,18)	0,068 (15,83)	0,211 (51,69)	0,285 (73,45)	46 (42,6)	0 (0,0)
	108	62,6	1,8	0,000 (0,00)	0,044 (10,18)	0,101 (23,48)	0,069 (16,00)	0,124 (29,25)	0,180 (43,24)	0 (0,0)	0 (0,0)
	108	351,0	2,5	0,022 (5,18)	0,062 (14,38)	0,004 (1,01)	0,045 (10,31)	0,081 (18,70)	0,113 (26,56)	0 (0,0)	0 (0,0)
	108	14519,2	4,1	0,000 (0,00)	0,051 (11,78)	0,048 (11,01)	0,011 (2,42)	0,092 (21,50)	0,116 (27,25)	0 (0,0)	0 (0,0)
	108	5810012,3	6,8	0,000 (0,00)	0,017 (4,00)	0,041 (9,54)	0,015 (3,53)	0,104 (24,25)	0,114 (26,73)	0 (0,0)	0 (0,0)
	108	77499195,7	7,9	0,000 (0,00)	0,018 (4,24)	0,028 (6,56)	0,000 (0,00)	0,077 (17,77)	0,084 (19,46)	0 (0,0)	10 (9,3)

GT	N	Média observada UI/ml	Média observada Log_{10} UI/ml	Entre instalações SD (%CV)	Entre lotes SD (%CV)	Entre operadores/dias[a] SD (%CV)	Entre execuções SD (%CV)	Em execuções SD (%CV)	Total SD (%CV)	Abaixo do LLoQ n (%)	Acima do ULoQ n (%)
3	107	8,6	0,9	0,049 (11,32)	0,103 (24,05)	0,056 (12,95)	0,000 (0,00)	0,225 (55,47)	0,258 (65,16)	71 (66,4)	0 (0,0)
	108	14,3	1,1	0,157 (37,31)	0,000 (0,00)	0,090 (21,04)	0,000 (0,00)	0,178 (42,88)	0,254 (63,90)	36 (33,3)	0 (0,0)
	107	49,9	1,7	0,119 (27,96)	0,065 (15,08)	0,047 (10,80)	0,034 (7,81)	0,109 (25,42)	0,183 (44,15)	0 (0,0)	0 (0,0)
	108	218,3	2,2	0,324 (86,23)	0,043 (10,01)	0,139 (32,83)	0,063 (14,64)	0,082 (19,09)	0,370 (103,21)	0 (0,0)	0 (0,0)
	107	8541,1	3,9	0,248 (61,97)	0,056 (12,90)	0,151 (35,77)	0,048 (10,99)	0,078 (18,19)	0,309 (81,20)	0 (0,0)	0 (0,0)
	107	4128761,4	6,6	0,044 (10,17)	0,000 (0,00)	0,000 (0,00)	0,042 (9,61)	0,126 (29,65)	0,140 (33,06)	0 (0,0)	0 (0,0)
	108	63813728,0	7,8	0,012 (2,84)	0,000 (0,00)	0,000 (0,00)	0,059 (13,76)	0,092 (21,32)	0,110 (25,71)	0 (0,0)	3 (2,8)

%CV=coeficiente de variação log-normal, GT=genótipo, DP=desvio padrão (log_{10} UI/ml)

Nota: a variabilidade derivada de alguns fatores pode ser numericamente negativa. Tal ocorreu quando a variabilidade devido a esses fatores foi muito pequena. Nesses casos, o DP e o CV são mostrados como 0.

[a] Entre operadores pode ser confundido com Entre dias; assim, as estimativas Entre operadores e Entre dias são combinadas em Entre operadores/dias.

Desempenho clínico

Correlação de métodos

O desempenho do Aptima HCV Quant Dx assay foi avaliado em relação a um ensaio comparador com marcação CE testando espécimes clínicos não diluídos de pacientes infetados pelo HCV em três sistemas Panther com quatro lotes de reagentes. Foi utilizado para a regressão linear um total de 1058 amostras de plasma e soro (872 de plasma, 186 de soro) em todos os genótipos do HCV no intervalo linear comum a ambos os ensaios, conforme mostrado na Figura 10.

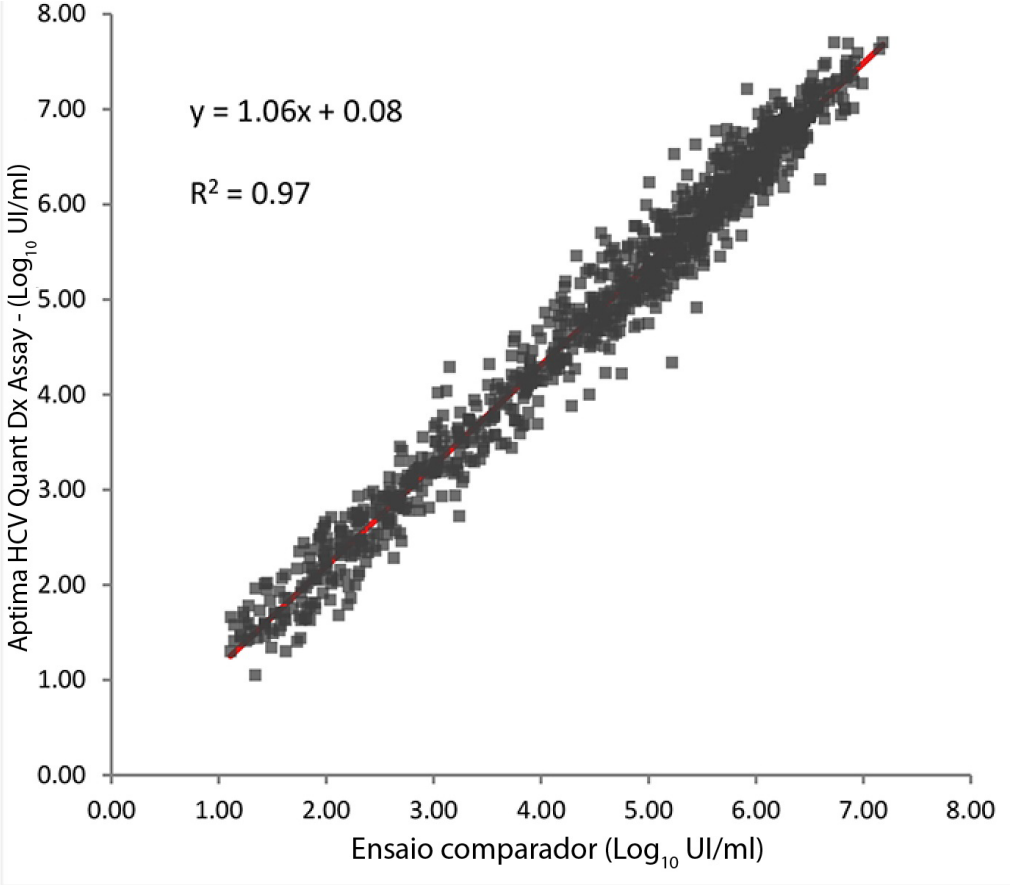


Figura 10. Correlação entre o Aptima HCV Quant Dx Assay e o ensaio comparador

Estudo de utilidade clínica

O estudo foi desenhado para demonstrar a utilidade clínica estimando as características de desempenho para alcançar a resposta virológica sustentada (SVR) ou a resposta virológica não sustentada (NSVR) em pontos temporais clinicamente relevantes estabelecidos durante o tratamento antiviral de 8, 12 ou 24 semanas. O estudo também avaliou o impacto das covariáveis (ou seja, idade, sexo, raça, nível de RNA do HCV na linha de referência, presença ou ausência de cirrose) na resposta SVR.

Foram colhidos prospetivamente espécimes de pacientes com os genótipos 1, 2 e 3 com infeção crónica por HCV que estavam a iniciar a terapêutica com tratamentos à base de sofosbuvir de 8, 12 ou 24 semanas utilizando fármacos aprovados pela FDA, prescritos de acordo com a rotulagem aprovada pela FDA e/ou as diretrizes de tratamento do HCV da AASLD/IDSA.[20,21] Os pacientes sem tratamento prévio ou com experiência de tratamento do HCV, e os pacientes sem cirrose ou com cirrose compensada eram elegíveis, conforme aplicável para cada regime de tratamento.

A determinação da carga viral de RNA do HCV foi realizada na linha de referência, na semana 1, semana 2, semana 4, semana 8, semana 12 e semana 24 utilizando o Aptima HCV Quant Dx assay. Os resultados de acompanhamento de fim do tratamento (EOT) e pós-tratamento da semana 4 e semana 12 foram determinados utilizando o Aptima HCV Quant Dx assay e dois ensaios quantitativos aprovados de RNA do HCV. A SVR foi definida como um nível de RNA do HCV < LLoQ conforme determinado por um ensaio quantitativo aprovado para a amostra da semana 12 após o tratamento.

Dos 352 pacientes incluídos dos 35 centros clínicos dos EUA, 274 pacientes tiveram um estado de SVR conclusivo e eram avaliáveis para análise. 56 pacientes tiveram um estado de SVR não avaliável e não foram incluídos na análise. 22 pacientes adicionais tiveram um estado de SVR conclusivo, mas não eram avaliáveis devido a resultados pré-tratamento/de linha de referência em falta, todos os resultados durante o tratamento <LLoQ ou não detetados ou os genótipos não foram estabelecidos com um ensaio aprovado. Neste estudo, 90,5% (248/274) dos pacientes alcançaram a SVR e 9,5% (26/274) alcançaram a NSVR (ver Tabela 31 a Tabela 33 para obter as contagens por genótipo e DRA). A carga viral na linha de referência mais elevada foi 7,58 $\log_{10}$ UI/ml, conforme determinado pelo Aptima HCV Quant Dx assay. Todos os pacientes avaliáveis concluíram a terapêutica, sem falhas durante o tratamento (por ex., não resposta). Foi testado um total de 2449 amostras colhidas em diferentes pontos temporais de cada paciente, em três centros de testes nos EUA.

A Tabela 25 mostra as características demográficas e clínicas dos 274 pacientes avaliáveis.

Tabela 25: Características demográficas e clínicas

Características		
Total	N	274
Sexo	Feminino, n (%)	112 (40,9)
	Masculino, n (%)	162 (59,1)
Idade (anos)	n	274
	Média	55,1
	Mediana	56,0
	DP	10,40
	Mínima	23
	Máxima	83
	21-49, n (%)	61 (22,3)
	50-70, n (%)	203 (74,1)
	>70, n (%)	10 (3,6)
Etnia	n	274
	Hispânico ou latino, n (%)	65 (23,7)
	Não hispânico ou latino, n (%)	202 (73,7)
	Desconhecido, n (%)	6 (2,2)
	Recusado, n (%)	1 (0,4)
Raça[a]	n	274
	Caucasiano, n (%)	223 (81,4)
	Negro ou afro-americano, n (%)	43 (15,7)
	Asiático, n (%)	1 (0,4)
	Americano nativo/nativo do Alasca, n (%)	3 (1,1)
	Nativo do Havai/das ilhas do Pacífico, n (%)	0 (0,0)
	Outro, n (%)	3 (1,1)
	Desconhecido, n (%)	1 (0,4)
	Recusado, n (%)	0 (0,0)
Genótipo	n	274
	Genótipo 1, n (%)	158 (57,7)
	Genótipo 2, n (%)	66 (24,1)
	Genótipo 3, n (%)	50 (18,2)
Estado de tratamento do HCV	n	274
	Sem tratamento prévio, n (%)	232 (84,7)
	Com experiência de tratamento, n (%)	42 (15,3)
	Recaída, n (%)	32 (76,2)
	Resposta nula, n (%)	1 (2,4)
	Não resposta, n (%)	2 (4,8)
	Resposta parcial, n (%)	3 (7,1)
	Breakthrough, n (%)	1 (2,4)
	Recidiva, n (%)	0 (0,0)
	Resposta ao tratamento desconhecida, n (%)	3 (7,1)
	Em falta, n (%)	0 (0,0)
Estado cirrótico	n	274
	Cirrótico, n (%)	98 (35,8)
	Não cirrótico, n (%)	176 (64,2)

[a] Os pacientes podem declarar várias raças

A Tabela 26 mostra as atribuições do regime de fármacos final dos 274 pacientes avaliáveis.

Tabela 26: Resumo das atribuições do regime de fármacos final dos pacientes por genótipo

Atribuição do regime de fármacos	Genótipo do HCV n (%)		
	1	2	3
Sofosbuvir e peginterferão e ribavirina durante 12 semanas	25 (15,8)	-	3 (6,0)
Sofosbuvir e simeprevir e/ou ribavirina durante 12 semanas	63 (39,9)	-	-
Sofosbuvir e simeprevir e/ou ribavirina durante 24 semanas	4 (2,5)	-	-
Sofosbuvir e ribavirina durante 12 semanas	-	66 (100)	-
Sofosbuvir e ribavirina durante 24 semanas	6 (3,8)	-	47 (94,0)
Ledipasvir e sofosbuvir durante 8 semanas	14 (8,9)	-	-
Ledipasvir e sofosbuvir durante 12 semanas	39 (24,7)	-	-
Ledipasvir e sofosbuvir durante 24 semanas	7 (4,4)	-	-
Total de pacientes elegíveis	158	66	50

A Tabela 27 avalia a associação das covariáveis na linha de referência (idade, raça, sexo, carga viral de HCV na linha de referência [variável binária] e estado cirrótico) e da SVR utilizando a relação de probabilidade (OR) com análise de regressão logística univariada (não ajustada). Os resultados dos 274 pacientes avaliáveis foram avaliados por genótipo do HCV. Para os genótipos 1 e 2, os pacientes cirróticos tinham menor probabilidade do que os pacientes não cirróticos de alcançarem a SVR (OR=0,16 [CI de 95% de Wald: 0,04 a 0,63], P=0,009 e OR=0,13 [CI de 95% de Wald: 0,02 a 0,70], P=0,017, respetivamente). Os valores do CI de 95% para outras variáveis para o genótipo 1 e 2, e todas as covariáveis para o genótipo 3, incluíram o valor 1 e não foram estatisticamente significativos.

Tabela 27: Avaliação dos indicadores na linha de referência da SVR na linha de referência

GT	Categoria	N	Agrupamento	N(%)	Percentagem que alcançou SVR	Relação de probabilidade (CI de 95% de Wald) utilizando a análise de LR univariada	Valor P
1	Idade	158	≥ 40 anos	146 (92,4)	91,8	0 [0 – ∞)	Não calculável
			< 40 anos	12 (7,6)	100		
	Sexo	158	Masculino	92 (58,2)	90,2	0,44 (0,11 – 1,69)	0,231
			Feminino	66 (41,8)	95,5		
	Raça	158	Caucasiano	116 (73,4)	94,0	2,10 (0,63 – 7,03)	0,227
			Não caucasiano	42 (26,6)	88,1		
	Carga viral na linha de referência de RNA do HCV[a]	156	> 740.000 UI/ml	111 (71,2)	92,8	1,26 (0,36 – 4,40)	0,721
			≤ 740.000 UI/ml	45 (28,8)	91,1		
	Estado cirrótico	158	Cirrótico	57 (36,1)	84,2	0,16 (0,04 – 0,63)	0,009
			Não cirrótico	101 (63,9)	97,0		
2	Idade	66	≥ 40 anos	60 (90,9)	88,3	1,51 (0,15 – 14,91)	0,722
			< 40 anos	6 (9,1)	83,3		
	Sexo	66	Masculino	36 (54,5)	86,1	0,69 (0,15 – 3,15)	0,631
			Feminino	30 (45,5)	90,0		
	Raça	66	Caucasiano	61 (92,4)	86,9	0 [0 – ∞)	Não calculável
			Não caucasiano	5 (7,6)	100		
	Carga viral na linha de referência de RNA do HCV	66	> 740.000 UI/ml	44 (66,7)	84,1	0,25 (0,03 – 2,19)	0,211
			≤ 740.000 UI/ml	22 (33,3)	95,5		
	Estado cirrótico	66	Cirrótico	22 (33,3)	72,7	0,13 (0,02 – 0,70)	0,017
			Não cirrótico	44 (66,7)	95,5		
3	Idade	50	≥ 40 anos	44 (88,0)	86,4	0 [0 – ∞)	NC
			< 40 anos	6 (12,0)	100		
	Sexo	50	Masculino	34 (68,0)	85,3	0,39 (0,04 – 3,62)	0,405
			Feminino	16 (32,0)	93,8		
	Raça	50	Caucasiano	46 (92,0)	87,0	0 [0 – ∞)	Não calculável
			Não caucasiano	4 (8,0)	100		
	Carga viral na linha de referência de RNA do HCV[a]	49	> 740.000 UI/ml	30 (61,2)	83,3	0,28 (0,03 – 2,59)	0,261
			≤ 740.000 UI/ml	19 (38,8)	94,7		
	Estado cirrótico	50	Cirrótico	19 (38,0)	78,9	0,26 (0,04 – 1,58)	0,143
			Não cirrótico	31 (62,0)	93,5		

CI=intervalo de confiança, GT=genótipo, LR=regressão logística

[a]A covariável de carga viral na linha de referência de RNA do HCV não inclui os pacientes que não forneceram uma carga viral quantitativa de RNA do HCV antes do início da terapêutica.

Resposta à terapêutica antiviral

As características do desempenho do ensaio foram estabelecidas para indivíduos tratados com certos regimes de DAA. Não estão disponíveis informações sobre o valor preditivo do ensaio quando são utilizadas outras terapêuticas de combinação de DAA.

Definições:

Carga viral (VL) na semana 1 = RNA do HCV < LLoQ = 10 UI/ml na semana 1 da terapêutica antiviral

VL na semana 2 = RNA do HCV < LLoQ = 10 UI/ml na semana 2 da terapêutica antiviral

VL na semana 4 = RNA do HCV < LLoQ = 10 UI/ml na semana 4 da terapêutica antiviral

VL na semana 8 = RNA do HCV < LLoQ = 10 UI/ml na semana 8 da terapêutica antiviral

VL na semana 8 (EOT): RNA do HCV < LLoQ na semana 8 da terapêutica antiviral

VL na semana 12 = RNA do HCV < LLoQ = 10 UI/ml na semana 12 da terapêutica antiviral

VL na semana 12 (EOT): RNA do HCV < LLoQ na semana 12 da terapêutica antiviral

VL na semana 24 (EOT): RNA do HCV < LLoQ na semana 24 da terapêutica antiviral

Resposta virológica sustentada (SVR)12: RNA do HCV < LLoQ na semana 12 após a conclusão da terapêutica antiviral, medida com um teste de RNA do HCV independente.

A Tabela 28 e a Tabela 29 mostram a frequência da resposta e da não resposta SVR, respetivamente, por genótipo e regime de fármacos global, e para pacientes cirróticos, não cirróticos, sem tratamento prévio e com experiência de tratamento. A maioria dos pacientes alcançou a SVR em vários genótipos: 92,4% genótipo 1, 87,9% genótipo 2 e 88,0% genótipo 3. Em vários genótipos, as taxas de SVR foram geralmente mais elevadas em pacientes não cirróticos do que em pacientes cirróticos e semelhantes entre pacientes sem tratamento prévio e com experiência de tratamento.

Tabela 28: Frequência de resposta SVR por genótipo e regime de fármacos

GT	DRA	Pacientes com resposta SVR n (%)				
		Global	Cirrótico	Não cirrótico	Sem tratamento prévio	Com experiência de tratamento
1	Ledipasvir e sofosbuvir durante 8 semanas	13/14 (92,9)	N/A	13/14 (92,9)	13/14 (92,9)	N/A
	Ledipasvir e sofosbuvir durante 12 semanas	39/39 (100)	9/9 (100)	30/30 (100)	34/34 (100)	5/5 (100)
	Ledipasvir e sofosbuvir durante 24 semanas	6/7 (85,7)	6/7 (85,7)	N/A	N/A	6/7 (85,7)
	Sofosbuvir e peginterferão e ribavirina durante 12 semanas	24/25 96,0)	7/7 (100)	17/18 (94,4)	22/23 (95,7)	2/2 (100)
	Sofosbuvir e ribavirina durante 24 semanas	6/6 (100)	1/1 (100)	5/5 (100)	5/5 (100)	1/1 (100)
	Sofosbuvir e simeprevir e/ou ribavirina durante 12 semanas	54/63 (85,7)	21/29 (72,4)	33/34 (97,1)	45/54 (83,3)	9/9 (100)
	Sofosbuvir e simeprevir e/ou ribavirina durante 24 semanas	4/4 (100)	4/4 (100)	N/A	2/2 (100)	2/2 (100)
2	Sofosbuvir e ribavirina durante 12 semanas	58/66 (87,9)	16/22 (72,7)	42/44 (95,5)	53/60 (88,3)	5/6 (83,3)
3	Sofosbuvir e peginterferão e ribavirina durante 12 semanas	3/3 (100)	3/3 (100)	N/A	1/1 (100)	2/2 (100)
	Sofosbuvir e ribavirina durante 24 semanas	41/47 (87,2)	12/16 (75,0)	29/31 (93,5)	35/39 (89,7)	6/8 (75,0)

DRA=atribuição do regime de fármacos, GT=genótipo, N/A=o regime de fármacos não é aplicável a este grupo de pacientes

Tabela 29: Frequência de não resposta SVR por genótipo e regime de fármacos

GT	DRA	Pacientes com não resposta SVR n (%)				
		Global	Cirrótico	Não cirrótico	Sem tratamento prévio	Com experiência de tratamento
1	Ledipasvir e sofosbuvir durante 8 semanas	1/14 (7,1)	N/A	1/14 (7,1)	1/14 (7,1)	N/A
	Ledipasvir e sofosbuvir durante 12 semanas	0/39 (0,0)	0/9 (0,0)	0/30 (0,0)	0/34 (0,0)	0/5 (0,0)
	Ledipasvir e sofosbuvir durante 24 semanas	1/7 (14,3)	1/7 (14,3)	N/A	N/A	1/7 (14,3)
	Sofosbuvir e peginterferão e ribavirina durante 12 semanas	1/25 (4,0)	0/7 (0,0)	1/18 (5,6)	1/23 (4,3)	0/2 (0,0)
	Sofosbuvir e ribavirina durante 24 semanas	0/6 (0,0)	0/1 (0,0)	0/5 (0,0)	0/5 (0,0)	0/1 (0,0)
	Sofosbuvir e simeprevir e/ou ribavirina durante 12 semanas	9/63 (14,3)	8/29 (27,6)	1/34 (2,9)	9/54 (16,7)	0/9 (0,0)
	Sofosbuvir e simeprevir e/ou ribavirina durante 24 semanas	0/4 (0,0)	0/4 (0,0)	N/A	0/2 (0,0)	0/2 (0,0)
2	Sofosbuvir e ribavirina durante 12 semanas	8/66 (12,1)	6/22 (27,3)	2/44 (4,5)	7/60 (11,7)	1/6 (16,7)
3	Sofosbuvir e peginterferão e ribavirina durante 12 semanas	0/3 (0,0)	0/3 (0,0)	N/A	0/1 (0,0)	0/2 (0,0)
	Sofosbuvir e ribavirina durante 24 semanas	6/47 (12,8)	4/16 (25,0)	2/31 (6,5)	4/39 (10,3)	2/8 (25,0)

DRA=atribuição do regime de fármacos, GT=genótipo, N/A=o regime de fármacos não é aplicável a este grupo de pacientes

A Tabela 30 mostra a percentagem de pacientes com resposta virológica (definida como resultados do Aptima HCV Quant Dx assay < LLoQ) para cada genótipo e atribuição do regime de fármacos em cada consulta das semanas durante o tratamento e após o tratamento. A maioria dos pacientes alcançou a SVR até à semana 4 em vários genótipos e todos os pacientes alcançaram a SVR até à semana 8.

Tabela 30: Probabilidade de alcançar a SVR em várias semanas durante e após o tratamento

GT	DRA	N	Com resposta SVR % (n)	Com não resposta SVR % (n)	Percentagem de pacientes com resposta virológica por consulta[a] n (%)						
					Semanas					EOT	PT04
					1	2	4	8	12		
1	LDV + SOF (8 semanas)	14	92,9 (13/14)	7,1 (1/14)	42,9 (6/14)	76,9 (10/13)	100 (14/14)	N/A	N/A	100 (14/14)	90 (9/10)
	LDV + SOF (12 semanas)	39	100 (39/39)	0,0 (0/39)	11,1 (4/36)	52,6% (20/38)	92,1 (35/38)	100 (36/36)	N/A	100 (39/39)	100 (33/33)
	LDV + SOF (24 semanas)	7	85,7 (6/7)	14,3 (1/7)	0,0 (0/6)	42,9 (3/7)	71,4 (5/7)	100 (7/7)	100 (7/7)	100 (6/6)	80 (4/5)
	SOF+PEG+RBV (12 semanas)	25	96,0 (24/25)	4,0 (1/25)	40,0 (10/25)	80,0 (20/25)	100 (25/25)	100 (25/25)	N/A	100 (25/25)	100 (25/25)
	SOF+RBV (24 semanas)	6	100 (6/6)	0,0 (0/6)	16,7 (1/6)	66,7 (4/6)	83,3 (5/6)	100 (5/5)	100 (6/6)	100 (5/5)	100 (6/6)
	SOF+SIM+RBV (12 semanas)	63	85,7 (54/63)	14,3 (9/63)	20,7 (12/58)	67,9 (38/56)	98,4 (62/63)	100 (57/57)	N/A	96,6 (57/59)	90,0 (54/60)
	SOF+SIM+RBV (24 semanas)	4	100 (4/4)	0,0 (0/4)	66,7 (2/3)	66,7 (2/3)	100 (4/4)	100 (3/3)	100 (3/3)	100 (4/4)	100 (4/4)
2	SOF+RBV (12 semanas)	66	87,9 (58/66)	12,1 (8/66)	22,2 (12/54)	69,4 (43/62)	95,4 (62/65)	100 (64/64)	N/A	98,5 (64/65)	93,5 (58/62)
3	SOF+PEG+RBV (12 semanas)	3	100 (3/3)	0,0 (0/3)	33,3 (1/3)	100 (2/2)	100 (3/3)	100 (2/2)	N/A	100 (3/3)	100 (3/3)
	SOF+RBV (24 semanas)	47	87,2 (41/47)	12,8 (6/47)	20,9 (9/43)	70,5 (31/44)	100 (46/46)	100 (46/46)	100 (47/47)	100 (42/42)	89,1 (41/46)

DRA= atribuição do regime de fármacos, EOT=fim do tratamento, N/A=não aplicável porque a consulta corresponde a EOT do tratamento administrado ou está além da janela de tratamento, PT04=semana 4 após o tratamento

[a]Resposta viral durante e após o tratamento definida como < 10 UI/ml.

Nota: EOT não incluído na semana de tratamento

Em pacientes com o genótipo 1, 95,5% (150/157) dos pacientes avaliados tiveram respostas virais durante o tratamento até à semana 4. Os 7 pacientes com o genótipo 1 que não tinham tido resposta até à semana 4 (3 pacientes tratados com LDV + SOF [12 semanas], 2 pacientes tratados com LDV + SOF [24 semanas], 1 paciente cada tratado com SOF + RBV [24 semanas] ou SOF + SIM ± RBV [12 semanas]) tiveram respostas virais durante o tratamento até à semana 8. Dois (2) pacientes tratados com SOF + SIM ± RBV (12 semanas) tiveram recaída até ao fim do tratamento e 6 (1 paciente tratado com LDF + SOF [8 semanas], 1 paciente tratado com LDF + SOF [24 semanas] e 4 pacientes tratados com SOF + SIM ± RBV [12 semanas]) tiveram recaída até à semana 4 após o tratamento.

Em pacientes com o genótipo 2, 95,4% (62/65) dos pacientes avaliados tiveram respostas virais durante o tratamento até à semana 4. Os 3 pacientes com o genótipo 2 que não tiveram resposta até à semana 4 tiveram respostas virais durante o tratamento até à semana 8. Um (1) paciente tratado com SOF + RBV (12 semanas) teve recaída até ao fim do tratamento e 4 pacientes com a mesma atribuição do regime de fármacos tiveram recaída até à semana 4 após o tratamento.

Em pacientes com o genótipo 3, 100% (49/49) dos pacientes avaliados tiveram respostas virais durante o tratamento até à semana 4. Nenhum (0) paciente teve recaída até ao fim do tratamento e 5 pacientes tratados com SOF + RBV (24 semanas) tiveram recaída até à

semana 4 após o tratamento.

Com base nos resultados deste estudo, o Aptima HCV Quant Dx assay pode ser utilizado como auxiliar no controlo de pacientes infetados por HCV submetidos a terapêutica antiviral à base de sofosbuvir e pode ser utilizado para determinar a resposta e a não resposta SVR. Os resultados do ensaio podem ser utilizados para medir quantitativamente os níveis de RNA do HCV no plasma humano na linha de referência e durante o tratamento.

Estudo de utilidade diagnóstica

A sensibilidade foi avaliada em 338 pacientes positivos a anticorpos do HCV de uma população de alto risco. A Tabela 31 mostra as características demográficas e clínicas dos pacientes.

Tabela 31: Características demográficas e clínicas em pacientes positivos a anticorpos do HCV

Características		
Total	*N*	338
Sexo	Feminino, n (%)	80 (23,7)
	Masculino, n (%)	258 (76,3)
Idade (anos)	Média	48,2
	Mediana	51,0
	DP	11,01
	<21, n (%)	2 (0,6)
	21-49, n (%)	152 (45,0)
	50-70, n (%)	182 (53,8)
	>70, n (%)	2 (0,6)
Raça/Etnia[a]	Caucasiano, n (%)	86 (25,4)
	Negro, n (%)	118 (34,9)
	Asiático, n (%)	1 (0,3)
	Hispânico, n (%)	123 (36,4)
	Etnias mistas, n (%)	4 (1,2)
	Outro, n (%)	10 (3,0)
	Desconhecido, n (%)	0 (0,0)
Fatores de risco[b]	Uso de drogas injetáveis, n (%)	294 (87,0)
	Recetores de fatores de coagulação fabricados antes de 1990, n (%)	0 (0,0)
	Diagnóstico/tratamento de hepatite, n (%)	172 (50,9)
	Diagnóstico/tratamento de HIV, n (%)	13 (3,8)
	Histórico de encarceramento, n (%)	311 (92,0)
	Receção de uma transfusão de sangue ou componentes do sangue, n (%)	39 (11,5)
	Receção de um transplante, n (%)	0 (0,0)
	Hemodiálise, n (%)	3 (0,9)
	Níveis de ALT persistentemente elevados, n (%)	2 (0,6)
	Nascido entre 1945 e 1965, n (%)	192 (56,8)
Estado de infeção por HCV	RNA do HCV positivo, n (%)	259 (76,6)
	RNA do HCV negativo, n (%)	79 (23,4)

ALT=alanina aminotransferase, HIV=vírus da imunodeficiência humana
[a] Podem ser declaradas várias raças.
[b] Podem ser declarados vários fatores de risco.

Os espécimes foram testados com um teste de RNA do HCV qualitativo aprovado, um teste de anticorpos HCV aprovado e o Aptima HCV Quant Dx assay. O estudo incluiu 338 pacientes reativos a anticorpos HCV. De acordo com as diretrizes atuais da AASLD, deve ser utilizado um NAAT aprovado pela FDA com um nível de deteção de 25 UI/ml ou inferior[20] para confirmar um estado de infeção por HCV positivo após um resultado de teste de anticorpos HCV reativo. A concordância entre o estado de infeção dos pacientes e os resultados do Aptima HCV Quant Dx assay foi determinada utilizando um cutoff de 25 UI/ml. Os espécimes < 25 UI/ml foram considerados como "não detetado" e os espécimes com resultados ≥ 25 UI/ml foram considerados como "detetado" Consulte a Tabela 32.

Os resultados do Aptima HCV Quant Dx assay foram comparados com um estado de infeção do paciente com base nos resultados do teste de anticorpos HCV aprovado e os resultados do teste de RNA qualitativo aprovado. O estado de infeção do paciente foi considerado HCV positivo se o teste de anticorpos HCV aprovado e o teste qualitativo aprovado tivessem resultados reativos. O estado de infeção do paciente foi considerado HCV negativo se o teste de anticorpos HCV aprovado tivesse um resultado não reativo.

Dos 338 pacientes com resultados reativos a anticorpos HCV, 256 foram detetados pelo Aptima HCV Quant Dx assay (% de concordância positiva = 98,8%). Dos três pacientes com quantificação de RNA do HCV abaixo de 25 UI/ml ou não detetado, dois pacientes tiveram um resultado detetado mas não quantificado (RNA do HCV < 10 UI/ml) e um paciente teve um resultado de RNA do HCV quantitativo de 12 UI/ml.

Tabela 32: Concordância entre os resultados do Aptima HCV Quant Dx Assay com o estado de infeção do paciente utilizando um cutoff de 25 UI/ml

Aptima HCV Quant Dx Resultado do ensaio	**Estado de infeção do paciente**		**Total**
	HCV positivo	**HCV negativo**	
RNA do HCV quantificado a ou acima de 25 UI/ml	256	0	256
RNA do HCV quantificado ou detetado abaixo de 25 UI/ml ou não detetado	3[a]	79	82
Total	259	79	338
% de concordância positiva (CI de 95% da pontuação)	98,8 (96,7-99,6)	N/A	N/A
% de concordância negativa (CI de 95% da pontuação)	N/A	100 (95,4-100)	N/A

CI = intervalo de confiança, N/A = não aplicável

[a] O Aptima HCV Quant Dx assay detetou mas não quantificou RNA do HCV (<10 UI/ml) para dois pacientes e o terceiro teve uma quantificação de RNA do HCV de 12 UI/ml.

Este estudo demonstra a utilidade clínica do Aptima HCV Quant Dx assay para diagnosticar corretamente pacientes com infeção por RNA do HCV ativa em curso e distingui-los de pacientes com infeções inativas numa população com uma exposição prévia ao HCV (serologia positiva a anticorpos HCV).

Reatividade cruzada em pacientes com doença do fígado não relacionada com HCV

Foram obtidas amostras de soro e plasma (n=214) de indivíduos com outras doenças do fígado (nas quais a infeção por HCV ativa não era indicada como a causa subjacente). As amostras foram testadas com um teste anti-HCV aprovado e um teste de RNA do HCV qualitativo aprovado para confirmar que as amostras eram HCV negativas. Dezassete (17) amostras HCV positivas (com resultados anti-HCV positivos e/ou resultados do teste de RNA do HCV qualitativo reativos) e três amostras não elegíveis foram excluídas. Os testes com o Aptima HCV Quant Dx assay foram realizados internamente com três lotes de kits de reagentes. A Tabela 33 mostra as características demográficas e o estado da doença do fígado dos 194 pacientes avaliáveis.

Tabela 33: Características demográficas e estado da doença do fígado dos pacientes

Características		Todos
Total	N	194
Sexo	n	193
	Feminino, n (%)	116 (60,1)
	Masculino, n (%)	77 (39,9)
Idade (anos)	n	194
	Média	55,2
	Mediana	56,0
	DP	12,19
	Mínima	25
	Máxima	82
	21-49, n (%)	60 (30,9)
	50-70, n (%)	114 (58,8)
	>70, n (%)	20 (10,3)
Etnia	n	194
	Hispânico ou latino, n (%)	9 (4,6)
	Não hispânico ou latino, n (%)	147 (75,8)
	Desconhecido, n (%)	38 (19,6)
	Recusado, n (%)	0 (0,0)
Raça[a]	n	194
	Caucasiano, n (%)	122 (62,9)
	Negro ou afro-americano, n (%)	20 (10,3)
	Asiático, n (%)	17 (8,8)
	Americano nativo/nativo do Alasca, n (%)	0 (0,0)
	Nativo do Havai/das ilhas do Pacífico, n (%)	1 (0,5)
	Outro, n (%)	34 (17,5)
	Desconhecido, n (%)	2 (1,0)
	Recusado, n (%)	0 (0,0)
Doença do fígado[b]	n	194
	Hepatite autoimune, n (%)	31 (16,0)
	Doença hepática alcoólica, n (%)	51 (26,3)
	HBV crónico, n (%)	34 (17,5)
	Cirrose biliar primária, n (%)	37 (19,1)
	NASH, n (%)	39 (20,1)
	Várias doenças do fígado declaradas, n (%)	2 (1,0)

HBV = vírus da hepatite B, NASH = esteato-hepatite não alcoólica

[a] Os pacientes podiam declarar várias raças.

[b] Os pacientes com várias doenças do fígado declararam hepatite autoimune e cirrose biliar primária.

A Tabela 34 mostra a especificidade do Aptima HCV Quant Dx assay por doença do fígado e a distribuição dos resultados do Aptima HCV Quant Dx assay em várias categorias de carga viral. A especificidade foi de 100% em pacientes com vírus da hepatite B (HBV) crónico, cirrose biliar primária, esteato-hepatite não alcoólica (NASH) e várias doenças do fígado declaradas. O RNA do HCV foi detetado em níveis muito baixos num paciente com hepatite autoimune (< 10 UI/ml) e em 4 pacientes com doença hepática alcoólica (< 10 UI/ml para 3 pacientes e 16 UI/ml para 1 paciente). Num dos 5 pacientes, o RNA do HCV foi detetado por um ensaio quantitativo de HCV aprovado.

Tabela 34: Especificidade do Aptima HCV Quant Dx Assay e resultados da distribuição em pacientes negativos a anticorpos e RNA do HCV com doenças do fígado não relacionadas com HCV

Doença do fígado	Especificidade (%) CI de 95%[a]	Não Detetado	<10 UI/ml	10 a <25 UI/ml	25 a 100 000 000 UI/ml	>100 000 000 UI/ml	Total
Hepatite autoimune	96,8 (83,8-99,4)	30 (96,8)	1 (3,2)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	31
Doença hepática alcoólica	92,2 (81,5-96,9)	47 (92,2)	3 (5,9)[b]	1 (2,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	51
HBV crónico	100 (89,8-100)	34 (100)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	34
Cirrose biliar primária	100 (90,6-100)	37 (100)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	37
NASH	100 (91,0-100)	39 (100)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	39
Várias doenças do fígado[c]	100 (34,2-100)	2 (100)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	2
Total	97,4 (94,1-98,9)	189 (97,4)	4 (2,1)	1 (0,5)	0 (0,0)	0 (0,0)	194

HBV = vírus da hepatite B, NASH = esteato-hepatite não alcoólica

[a]CI da pontuação.

[b]Num paciente, o RNA do HCV foi detetado por um ensaio quantitativo de HCV aprovado pela FDA.

[c]Os pacientes tinham hepatite autoimune e cirrose biliar primária.

Bibliografia

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. Zalesak M, Francis K, Gedeon A, et al. Current and Future Disease Progression of the Chronic HCV Population in the United States. PLoS One. 2013 May 21;8(5):e63959
3. Engle RE, Bukh J, Alter HJ et al., Transfusion-associated hepatitis before the screening of blood for hepatitis risk factors.Transfusion. 5 de maio de 2014.
4. Lee M-H, Yang, H-I, Yuan Y et al., Epidemiology and natural history of hepatitis C virus infection. World J Gasteroenterology 2014: 20 (28): 9270-9280.
5. Tan SL, editor. Hepatitis C Viruses: Genome and Molecular Biology. Norfolk (UK): Horizon Bioscience; 2006.
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. Jan de 2014;59(1):318-27.
7. EASL Recommendations on treatment of Hepatitis C 2014: 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). HCV Guidance: Recommendations for Testing, Managing, and Treating Hepatitis C. 2014: www.hcvguidelines.org.
9. CDC. Testing for HCV infection: An update for clinicians and laboratories. MMWR 2013; 62 (18).
10. Sidharthan, S., Kohli, A., Sims, Z., Nelson, A., Osinusi, A., Masur, H., Kottilil, S. Utility of Hepatitis C Viral Load Monitoring on Directly Acting Antiviral Therapy. Clinical Infectious Diseases, 2015.
11. Kohli, A., Shaffer, A., Sherman, A., Kottilil, S. Treatment of hepatitis C: a systematic review. JAMA, 2014.
12. AASLD. Recommendations for Testing, Managing, and Treating Hepatitis C. 2015. Publicado em hcvguidelines.org, consultado em 11 de fevereiro de 2016.
13. Simmons, B., Saleem, J., Heath, K., Cooke, G., Hill, A. Long-term treatment outcomes of patients infected with Hepatitis C virus: a systematic review and meta-analysis of the survival benefit of achieving a Sustained Virological Response. Clinical Infectious. 2015 Sep 1;61(5):730-40.
14. **Clinical and Laboratory Standards Institute.** 2005. Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods; Approved Guideline. CLSI Document MM13-A. Wayne, PA.
15. **29 CFR Part 1910.1030.** Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens; current version.
16. **Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health.** Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL); current version.
17. **Clinical and Laboratory Standards Institute.** 2002. Clinical Laboratory Waste Management. CLSI Document GP5-A2. Villanova, PA.
18. **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.
19. **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.
20. AASLD/IDSA. Recommendations for testing, managing, and treating hepatitis C. AASLD and IDSA. http://www.hcvguidelines.org/fullreport. Atualizado em 21 de março de 2014. Consultado em 01 de março de 2016.
21. AASLD/IDSA HCV Guidance Panel. Hepatitis C Guidance: AASLD-IDSA recommendations for testing, managing, and treating adults infected with hepatitis C virus. Hepatology. 2015;62(3):932-954.

Informações de contacto e histórico de revisões



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

IVD

CE 2797

EC REP
Hologic BV
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

Australian Sponsor
Hologic (Australia & New Zealand) Pty Ltd.
Macquarie Park NSW 2113

Para obter o endereço de e-mail e o número de telefone da assistência técnica e do apoio ao cliente específicos de cada país, visite www.hologic.com/support.

Os incidentes graves relacionados com o dispositivo na União Europeia devem ser comunicados ao fabricante e à autoridade competente do Estado-Membro em que o utilizador e/ou o paciente se encontram estabelecidos.

Hologic, Aptima, Panther, Panther Fusion e os logótipos associados são marcas comerciais ou marcas comerciais registadas da Hologic, Inc. e/ou das respetivas subsidiárias nos Estados Unidos e/ou noutros países.

Armored RNA é uma marca comercial da Asuragen, Inc.

Quaisquer outras marcas comerciais que possam aparecer neste folheto informativo pertencem aos respetivos proprietários.

Este produto pode estar abrangido por uma ou várias patentes nos EUA, as quais podem ser consultadas em: www.hologic.com/patents.

©2016-2025 Hologic, Inc. Todos os direitos reservados.

AW-28216-601 Rev. 001

2025-12

Histórico de revisões	Data	Descrição
AW-28216-601 Rev. 001	Dezembro de 2025	• Versão inicial.