Aptima® HCV Quant Dx Assay

Gebrauchsanweisung
Zur Verwendung als *In-vitro*-Diagnostikum.
Nur für den US-Export

Allgemeine Informationen 2
Verwendungszweck 2
Zusammenfassung und Testerklärung 2
Verfahrensprinzipien 3
Zusammenfassung von Sicherheit und Leistung 4
Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen 4
Lagerungs- und Handhabungsbedingungen für Reagenzien 8
Probenentnahme und -lagerung 9
Proben im Panther System 12
Transport von Patientenproben 12
Panther System 13
Im Lieferumfang enthaltene Reagenzien und Materialien 13
Erforderliche, jedoch nicht im Lieferumfang enthaltene Materialien 15
Optionale Materialien 16
Testverfahren mit dem Panther System 16
Verfahrenshinweise 20
Qualitätskontrolle 22
Assay-Kalibrierung 22
Negativ- und Positivkontrollen 22
Interner Kalibrator/Interne Kontrolle 22
Interpretation der Ergebnisse 23
Einschränkungen 24
Analytische Leistung 25
Nachweisgrenze (Limit of Detection, LoD) mit dem 2. internationalen WHO-Standard 25
Nachweisgrenze bei HCV-Genotypen 25
Linearer Bereich 26
Linearität bei HCV-Genotypen 27
Untere Quantifizierungsgrenze mit dem 2. internationalen WHO-Standard 28
Bestimmung der unteren Quantifizierungsgrenze (LLoQ) bei HCV-Genotypen 29
Rückführbarkeit auf den WHO-Standard 31
Präzision 32
Substanzen mit möglicher beeinträchtigender Wirkung 32
Leistung mit HCV-negativen Patientenproben 34
Analytische Spezifität 35
Klinische Proben mit anderen Viren als HCV 36
Matrix-Äquivalenz 36
Probenverdünnung mit Aptima Probenverdünner (1:3) 37
Probenverdünnung mit Aptima Probenverdünner (1:100) 38
Bestätigung der LLoQ in mit Probenverdünner verdünnten klinischen Proben 39
Präzision verdünnter Proben 40
Verschleppung 40
Serokonversionspanel 41
Reproduzierbarkeitsstudie 41
Klinische Leistungsdaten 43
Methodenkorrelation 43
Studie zum klinischen Nutzen 44
Ansprechen auf die antivirale Therapie 48
Studie zum diagnostischen Nutzen 51
Kreuzreaktivität bei Probanden mit nicht-HCV-bedingter Lebererkrankung 53
Literatur 55
Kontaktdaten und Änderungsprotokoll 56

Allgemeine Informationen

Verwendungszweck

Der Aptima® HCV Quant Dx Assay ist ein sogenannter transkriptionsvermittelter Amplifikations-Test (Transcription-Mediated Amplification, TMA) in Echtzeit (Real-time). Dieser Assay wird sowohl zum Nachweis als auch zur Quantifizierung der Hepatitis C Virus (HCV)-RNA in frischem und gefrorenem Humanserum und Plasma von HCV-infizierten Personen angewendet.

Das Plasma kann in Edetinsäure (EDTA), gerinnungshemmender Acid-Citrate-Dextrose-Lösung (ACD-Stabilisator) und Plasmavorbereitungsröhrchen (PPT) vorbereitet werden. Das Serum kann in Serumröhrchen und Serum-Separator-Röhrchen (SST) vorbereitet werden. Die Testung der Proben findet automatisiert auf dem Panther™ System statt und umfasst die Aufarbeitung der Proben, Amplifikation, Detektion und Quantifizierung. Proben, die die HCV-Genotypen 1 bis 6 enthalten, werden für die Erkennung und Quantifizierung im Test validiert.

Der Aptima HCV Quant Dx Assay ist als Hilfsmittel bei der Diagnose von HCV-Infektionen angezeigt. Der Assay kann zur Bestätigung einer aktiven HCV-Infektion bei Patienten mit positivem HCV-Antikörperbefund eingesetzt werden. Die Detektion von HCV-RNA bedeutet, dass sich das Virus repliziert und ist daher der Nachweis für eine aktive Infektion.

Der Aptima HCV Quant Dx Assay ist als Hilfsmittel beim Management von HCV-infizierten Patienten indiziert, die sich einer antiviralen medikamentösen HCV-Therapie unterziehen. Der Assay misst die HCV-RNA-Werte bei Baseline, während der Behandlung und nach der Behandlung, um das anhaltende virologische Ansprechen (SVR) zu ermitteln. Die Ergebnisse in Bezug auf den Aptima HCV Quant Dx Assay sind im Kontext aller relevanten klinischen und laborbezogenen Erkenntnisse zu interpretieren.

Der Aptima HCV Quant Dx Assay ist nicht für die Verwendung als Screening-Test auf das Vorhandensein von HCV im Blut oder Blutprodukten bestimmt.

Zusammenfassung und Testerklärung

HCV ist ein durch Blut übertragener Erreger und stellt mit bis zu 170 Mio. Infizierten weltweit und jährlich 350.000 Todesfällen durch HCV-bedingte Erkrankungen, darunter Zirrhose und Leberkrebs, eine Bedrohung für die weltweite öffentliche Gesundheit dar.[1,2] Die Übertragung von HCV erfolgt über Blut, Blutprodukte oder Aktivitäten mit potenzieller perkutaner Exposition.[3,4] Genetisch gesehen enthält das HCV ein Positivstrang-RNA-Genom mit 9500 Nukleotiden, die strukturelle Proteine (Core, E1- und E2-Glykoproteinen, p7-Ionenkanalprotein) und nicht-strukturelle Proteine (NS2, NS3, NS4A/B, NS5A/B) kodieren, wobei es sich bei letzteren um wichtige virale replikationsfähige Proteine und Targets von direkt wirksamen antiviralen Wirkstoffen handelt.[4,5] Zwei untranslatierte Regionen (UTR) des Genoms, 5'UTR und 3'UTR, dienen zur Regulation der Translation bzw. Replikation/Verpackung des Genoms.[5] Die 5'UTR ist die am höchsten konservierte genomische Region der sechs wichtigsten HCV-Genotypen.[6]

Aus klinischer Sicht gibt es eine hohe Prävalenz asymptomatischer HCV-Infektionen und bei bis zu 75 % der Patienten tritt eine chronische HCV-Infektion auf.[2] HCV-Laboruntersuchungsalgorithmen erfordern die Diagnose aktiver HCV-Infektionen bei antikörperpositiven Personen durch Nachweis von HCV-RNA in Plasma oder Serum, um eine geeignete Behandlung zu ermöglichen.[7,8,9]

Die Quantifizierung der HCV-RNA (Viruslast) spielt eine entscheidende Rolle bei der Festlegung und Überwachung einer erfolgreichen HCV-Behandlung. Das anhaltende virologische Ansprechen (SVR), definiert als nicht-detektierte HCV-RNA nach erfolgreicher Therapie, ist ein wichtiger Marker für eine HCV-Heilung.[10,11] Bei einer Interferon-basierten Therapie erwiesen sich die frühe virologische Ansprechrate (EVR), definiert als Rückgang der HCV-Viruslast um 2 log oder mehr nach 12 Wochen Therapie, und die schnelle virologische Ansprechrate (RVR),

definiert als nicht nachweisbare HCV-RNA nach 4 Wochen Therapie, als positive SVR-Prädikatoren.[10,12,13] Diese Marker viraler Kinetik werden in auf das Ansprechen der Patienten beruhenden Ansätzen eingesetzt, bei denen die Behandlungsoptionen für Absetzung oder Ausweitung der Therapie individuell zugeschnitten werden, um eine SVR zu erhalten.[14] Darüber hinaus haben langzeitig angelegte Follow-up Studien gezeigt, dass die Dauerhaftigkeit der SVR nach erfolgreicher Behandlung und Ausrottung des Virus ein Fortschreiten der Lebererkrankung verhindert.[10]

Im Zeitalter direkt wirksamer antiviraler Wirkstoffe (Direct-Acting Antivirals, DAAs) hat die Quantifizierung der HCV-RNA (Viruslast) eine entscheidende Rolle bei der Festlegung und Überwachung einer erfolgreichen HCV-Behandlung gespielt. Das anhaltende virologische Ansprechen (SVR) wird definiert als nicht nachweisbare HCV-RNA (mit einem Assay mit einer Nachweisgrenze von <25 IE/ml) nach der Behandlung.[10,11] Die neuesten Richtlinien der AASLD empfehlen, HCV-RNA nicht nur bei Baseline, sondern auch regelmäßig während der Behandlung (d. h. 4 Wochen) und 12 Wochen nach Abschluss der Behandlung zu testen.[10,12,13]

Verfahrensprinzipien

Der Aptima HCV Quant Dx Assay ist ein Nukleinsäure-Amplifikationstest mit transkriptionsvermittelter Echtzeit-Amplifikationstechnologie (TMA) zum Nachweis und zur Quantifizierung der HCV-RNA, um die Diagnosestellung zu erleichtern oder die Ausgangsviruslast bei Baseline zu ermitteln sowie um das Ansprechen unter und nach Therapie zu messen. Der Assay zielt auf eine konservierte Region des HCV-Genoms ab und ermöglicht den Nachweis und die Quantifizierung der Genotypen 1, 2, 3, 4, 5 und 6. Der Assay ist gemäß dem 2. internationalen WHO-Standard für das Hepatitis-C-Virus (NIBSC-Code 96/798) standardisiert.[12]

Der Aptima HCV Quant Dx Assay umfasst drei Hauptschritte, die alle in einem einzigen Röhrchen auf dem Panther System stattfinden: Target Capture, Target-Amplifikation durch transkriptionsvermittelte Amplifikation (TMA) und Detektion der Amplifikationsprodukte (Amplikons) mithilfe der fluoreszenzmarkierten Sonden (Torches).

Beim Target-Capture wird die Virus-RNA von den Proben isoliert. Die Patientenprobe wird mit einem Detergens behandelt, um die Virushülle zu solubilisieren, Proteine zu denaturieren und die genomische Virus-RNA freizusetzen. Capture-Oligonukleotide hybridisieren an hoch konservierte Regionen der ggf. in der Testprobe vorhandenen HCV-RNA. Das hybridisierte Target wird anschließend an magnetische Mikropartikel gebunden, die dann in einem Magnetfeld von der Patientenprobe getrennt werden. Irrelevante Bestandteile werden durch Waschschritte aus dem Reaktionsröhrchen entfernt.

Die Target-Amplifikation findet durch TMA statt, eine transkriptionsvermittelte Nukleinsäureamplifikationsmethode, bei der zwei Enzyme, die reverse Transkriptase des MMLV (Moloney murines Leukämievirus) und die T7-RNA-Polymerase zum Einsatz kommen. Die reverse Transkriptase erzeugt eine DNA-Kopie (mit einer Promotersequenz für die T7-RNA-Polymerase) der Targetsequenz. T7-RNA-Polymerase produziert mehrere Kopien des RNA-Amplikons vom Template der DNA-Kopie. Der Aptima HCV Quant Dx Assay nutzt die TMA-Methode, um einen Teil der 5'UTR des HCV-Genoms zu amplifizieren. Die Amplifikation dieser Region erfolgt über spezielle Primer, die zur Amplifikation der HCV-Genotypen 1, 2, 3, 4, 5 und 6 bestimmt sind.

Die Detektion wird erreicht, indem einzelsträngige Nukleinsäure-Torches verwendet werden, die während der Amplifikation des Targets vorhanden sind und spezifisch und in Echtzeit an das Amplikon hybridisieren. Jeder Torch hat ein Fluorophor und einen Quencher. Wenn der Torch nicht mit dem Amplikon hybridisiert, befindet sich der Quencher nahe bei dem Fluorophor und unterdrückt die Fluoreszenz. Bindet der Torch jedoch an das Amplikon, ist der Abstand zwischen Quencher und Fluorophor größer, sodass dieses bei Anregung mit einer Lichtquelle ein Signal mit einer bestimmten Wellenlänge abgibt. Je mehr Torches an

Amplikons hybridisieren, desto stärker ist das erzeugte Fluoreszenzsignal. Der Zeitraum, der verstreicht, bis das Fluoreszenzsignal einen bestimmten Schwellenwert erreicht hat, ist zur HCV-Ausgangskonzentration proportional. Jede Reaktion hat einen internen Kalibrator/eine interne Kontrolle (Internal Control, IC) zur Überprüfung auf Schwankungen bei der Probenbearbeitung, Amplifikation und Detektion. Die Konzentration einer Probe wird von der Panther System Software bestimmt, indem die HCV- und IC-Signale in jeder Reaktion mit Kalibrierungsdaten verglichen werden.

Zusammenfassung von Sicherheit und Leistung

Die SSP (Zusammenfassung von Sicherheit und Leistung, Summary of Safety and Performance) ist in der Europäischen Datenbank für Medizinprodukte (Eudamed) verfügbar und dort mit den Gerätekennungen (Basis UDI-DI) verknüpft. Die SSP für den Aptima HCV Quant Dx Assay finden Sie unter der grundlegenden eindeutigen Gerätekennung (Basic Unique Device Identifier, BUDI): 54200455DIAGAPTHCVAJ.

Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

A. Zur Verwendung als *In-vitro*-Diagnostikum.

B. Für den professionellen Einsatz.

C. Zur Verringerung des Risikos ungültiger Ergebnisse vor Durchführung des Assays auf dem Panther System die gesamte Packungsbeilage sowie die *Bedienungsanleitung für das Panther*/Panther Fusion™-System sorgfältig lesen.

D. Weitere spezifische Warnhinweise, Vorsichtsmaßnahmen und Verfahren zur Vermeidung von Kontamination finden Sie in der *Bedienungsanleitung für das Panther-/Panther Fusion™-System*.

Laborbezogen

E. VORSICHT! Die Kontrollen für diesen Assay enthalten Humanplasma. In von der US-amerikanischen Food and Drug Administration (FDA) zugelassenen Verfahren ist das Plasma nicht-reaktiv auf Hepatitis B-Oberflächenantigen (HBsAg), Antikörper gegen HCV, Antikörper gegen HIV-1 und HIV-2 und HIV-Antigen. Das Plasma ist außerdem bei Testung mit zugelassenen Nukleinsäuretests von Probenpools nicht-reaktiv auf HCV-RNA und HIV-1-RNA. Alle aus Humanblut stammenden Materialien sind als potenziell infektiös zu betrachten und mit den allgemeinen Vorsichtsmaßnahmen zu handhaben.[14,15,16]

F. Dieses Verfahren sollte nur von Personen durchgeführt werden, die in der Anwendung des Aptima HCV Quant Dx Assays und in der Handhabung potenziell infektiösen Materials entsprechend geschult sind. Bei Materialverschüttung sind die betroffenen Flächen unter Einhaltung entsprechender vor Ort gültiger Verfahren sofort zu desinfizieren.

G. Nur die im Lieferumfang enthaltenen oder angegebenen Einweg-Laborprodukte verwenden.

H. Die normalen Vorsichtsmaßnahmen im Labor ergreifen. Nicht mit dem Mund pipettieren. In den ausgewiesenen Arbeitsbereichen nicht essen, trinken oder rauchen. Beim Umgang mit Patientenproben und Kitreagenzien ungepuderte Einweghandschuhe, Augenschutz und Laborkittel tragen. Nach der Handhabung von Proben und Kitreagenzien die Hände gründlich waschen.

I. Arbeitsflächen, Pipetten und andere Geräte müssen regelmäßig mit einer 2,5%igen bis 3,5%igen (0,35 M bis 0,5 M) Natriumhypochloritlösung dekontaminiert werden.

J. Material, das in Kontakt mit Patientenproben und Reagenzien gekommen ist, nach allen geltenden lokalen, bundestaatlichen und bundesweiten Vorschriften entsorgen.[14,15,16,17] Alle Arbeitsflächen gründlich reinigen und desinfizieren.

K. Die Kontrollen enthalten Natriumazid als Konservierungsmittel. Für den Reagenzientransfer keine Metallröhrchen verwenden. Wenn Lösungen mit Natriumazidverbindungen in ein Rohrsystem entsorgt werden, sind sie zu verdünnen und mit reichlich fließendem Leitungswasser hinunterzuspülen. Diese Vorsichtsmaßnahmen werden empfohlen, um Ablagerungen in Metall-Abflussrohren zu vermeiden, die eine Explosionsgefahr bilden können.

L. Zu der guten Standardpraxis für Molekularbiologie-Laboratorien gehört auch die Überwachung der Laborumgebung. Zur Überwachung der Laborumgebung wird folgende Vorgehensweise empfohlen:

1. Einen Tupfer mit Wattespitze und ein Aptima Probenaliquotröhrchen (Specimen Aliquot Tube, SAT) bereitlegen.
2. Jedes SAT entsprechend beschriften.
3. Jedes SAT mit 1 ml Aptima Probenverdünner füllen.
4. Zur Erfassung der Oberflächenproben einen Tupfer leicht mit nukleasefreiem entionisiertem Wasser befeuchten.
5. Den Probenentnahmetupfer auf der betreffenden Oberfläche in einer vertikalen Bewegung von oben nach unten führen. Während der Probengewinnung den Probenentnahmetupfer etwa eine halbe Drehung drehen.
6. Die Tupferprobe sofort in das Röhrchen geben und im Verdünner vorsichtig schwenken, um möglicherweise auf dem Tupfer vorhandenes Material zu extrahieren. Den Tupfer an der Seite des Transportröhrchens ausdrücken, um so viel Flüssigkeit wie möglich zu extrahieren. Den Tupfer entsorgen und das Röhrchen mit der Kappe verschließen.
7. Die Schritte mit den verbleibenden Tupferproben wiederholen.
8. Die Tupferprobe mit dem molekularen Assay testen.

Probenbezogen

M. Proben können infektiös sein. Bei der Durchführung dieses Assay sind die allgemein gültigen Vorsichtsmaßnahmen[14,15,16] zu befolgen. Entsprechend den vor Ort geltenden Bestimmungen sind angemessene Handhabungs- und Entsorgungsmethoden festzulegen.[17] Dieses Verfahren sollte nur von Personen durchgeführt werden, die in der Anwendung des Aptima HCV Quant Dx Assays und in der Handhabung infektiösen Materials entsprechend geschult sind.

N. Um die Probenintegrität zu wahren, müssen während des Probenversands die ordnungsgemäßen Lagerungsbedingungen aufrechterhalten werden. Die Probenstabilität unter anderen Versandbedingungen als den hier empfohlenen wurde nicht untersucht.

O. Kreuzkontamination während der Probenhandhabungsschritte vermeiden. Insbesondere ist darauf zu achten, beim Lösen oder Entfernen von Kappen von Patientenproben eine Kontamination durch Verbreitung von Aerosolen zu vermeiden. Die Proben können sehr hohe Konzentrationen von Organismen aufweisen. Es ist sicherzustellen, dass die Probenbehälter nicht miteinander in Berührung kommen. Benutzte Materialien dürfen nicht über offene Behälter hinweg entsorgt werden. Die Handschuhe wechseln, wenn diese mit Proben in Kontakt kommen.

Hinweise zum Assay

P. Das Reagenzien-Kit, den Kalibrator oder die Kontrollen nicht nach Ablauf des Verfallsdatums verwenden.

Q. Assay-Reagenzien aus Kits mit verschiedenen Hauptchargennummern nicht austauschen, vermischen oder kombinieren. Assay-Flüssigkeiten dürfen verschiedene Chargennummern aufweisen. Kontrollen und Kalibratoren dürfen verschiedene Chargennummern aufweisen.

R. Eine Kontamination der Reagenzien mit Mikroben oder Nuklease vermeiden.

S. Alle Assay-Reagenzien verschließen und bei den angegebenen Temperaturen lagern. Die Assay-Leistung kann durch Verwendung von falsch gelagerten Assay-Reagenzien beeinträchtigt werden. Siehe *Lagerungs- und Handhabungsbedingungen für Reagenzien* und *Testverfahren mit dem Panther System* für weitere Informationen.

T. Assay-Reagenzien oder Flüssigkeiten nur auf ausdrückliche Anweisung miteinander kombinieren. Reagenzien und Flüssigkeiten nicht nachfüllen. Das Panther System überprüft die Reagenzien-Füllstände.

U. Einige Reagenzien in diesem Kit sind mit Risiko- und Sicherheitssymbolen gekennzeichnet.

Hinweis: *Die Gefahrenkommunikation spiegelt die Einstufung der EU Sicherheitsdatenblätter (SDS) wider. Informationen zu spezifischen Gefahrenhinweisen für Ihre Region sind im regionsspezifischen SDB in der Sicherheitsdatenblatt-Sammlung unter www.hologicsds.com zu finden. Weitere Informationen zu den Symbolen sind der Symbollegende auf www.hologic.com/package-inserts zu entnehmen.*

Gefahreninformationen für Europa	
—	**Amplifikationsreagenz** *MAGNESIUMCHLORID 60–65 %* — H412 – Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung. P273 – Freisetzung in die Umwelt vermeiden. P501 – Inhalt/Behälter einer zugelassenen Einrichtung zur Abfallentsorgung zuführen.
—	**Promotorreagenz** *MAGNESIUMCHLORID 60–65 %* — H412 – Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung. P273 – Freisetzung in die Umwelt vermeiden. P501 – Inhalt/Behälter einer zugelassenen Einrichtung zur Abfallentsorgung zuführen.
—	**Enzymreagenz** *Triton X-100 1–5 %* *HEPES 1-5 %* — H412 – Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung. P273 – Freisetzung in die Umwelt vermeiden. P501 – Inhalt/Behälter einer zugelassenen Einrichtung zur Abfallentsorgung zuführen.



HCV VL Kit Kontrollen

NATRIUMAZID < 1 %

—

GEFAHR

H300 – Lebensgefahr bei Verschlucken.
H410 – Sehr giftig für Wasserorganismen mit langfristiger Wirkung.
P264 – Nach Gebrauch Gesicht, Hände und exponierte Hautstellen gründlich waschen.
P273 – Freisetzung in die Umwelt vermeiden.
P301 + P310 – BEI VERSCHLUCKEN: Sofort GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen.
P321 – Besondere Behandlung (siehe ergänzende Erste-Hilfe-Anweisungen auf diesem Kennzeichnungsetikett).
P330 – Mund ausspülen.
P391 – Verschüttete Mengen aufnehmen.

—

HCV VL Kit Kalibratoren

HEPES 15 - 20 %
Lithiumlaurylsulfat 5–10 %
Lithiumhydroxid-Monohydrat 1–5 %
Bernsteinsäure 1–5 %

—

H412 – Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung.
P273 – Freisetzung in die Umwelt vermeiden.
P501 – Inhalt/Behälter einer zugelassenen Einrichtung zur Abfallentsorgung zuführen.

—

Lösung zur Enzymrekonstitution

Glycerol 20–25 %
Triton X-100 5–10 %
HEPES 1-5 %

—

H412 – Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung.
P273 – Freisetzung in die Umwelt vermeiden.
P501 – Inhalt/Behälter einer zugelassenen Einrichtung zur Abfallentsorgung zuführen.

—

Target Capture-Reagenz

HEPES 15 - 20 %
Lithiumlaurylsulfat 5–10 %
Lithiumhydroxid-Monohydrat 1–5 %
Bernsteinsäure 1–5 %

—

H412 – Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung.
P273 – Freisetzung in die Umwelt vermeiden.
P501 – Inhalt/Behälter einer zugelassenen Einrichtung zur Abfallentsorgung zuführen.

Lagerungs- und Handhabungsbedingungen für Reagenzien

A. Die folgende Tabelle zeigt die Lagerungsbedingungen und die Stabilität der Reagenzien, der Kontrollen und des Kalibrators.

Reagenz	Lagerung im ungeöffneten Zustand	Offenes Kit (rekonstituiert)	
		Lagerung	Stabilität
qHCV-Amplifikationsreagenz	2 °C bis 8 °C		
qHCV-Amplifikationsrekonstitutionslösung	2 °C bis 8 °C	2 °C bis 8 °C	30 Tage[a]
qHCV-Enzymreagenz	2 °C bis 8 °C		
qHCV-Enzymrekonstitutionslösung	2 °C bis 8 °C	2 °C bis 8 °C	30 Tage[a]
qHCV Promotorreagenz	2 °C bis 8 °C		
qHCV-Promotorekonstitutionslösung	2 °C bis 8 °C	2 °C bis 8 °C	30 Tage[a]
qHCV Target-Capture-Reagenz	2 °C bis 8 °C	2 °C bis 8 °C	30 Tage[a]
qHCV NC CONTROL – (Negativkontrolle)	-15 °C bis -35 °C	15 °C bis 30 °C	Fläschchen für den Einmalgebrauch Innerhalb von 24 Stunden verwenden
qHCV LPC CONTROL + (schwach positive Kontrolle)	-15 °C bis -35 °C	15 °C bis 30 °C	Fläschchen für den Einmalgebrauch Innerhalb von 24 Stunden verwenden
qHCV HPC CONTROL + (stark positive Kontrolle)	-15 °C bis -35 °C	15 °C bis 30 °C	Fläschchen für den Einmalgebrauch Innerhalb von 24 Stunden verwenden
qHCV PCAL (Positivkalibrator)	-15 °C bis -35 °C	15 °C bis 30 °C	Fläschchen für den Einmalgebrauch Innerhalb von 24 Stunden verwenden

[a] Wenn Reagenzien aus dem Panther System genommen werden, sind sie sofort wieder bei ihren jeweiligen Lagerungstemperaturen aufzubewahren.

B. Alle unbenutzten rekonstituierten Reagenzien und das Target-Capture-Reagenz (Target Capture Reagent, TCR) nach 30 Tagen oder nach Ablauf des Verfallsdatums der Hauptcharge (das frühere Datum ist ausschlaggebend) entsorgen.

C. Im Panther System gelagerte Reagenzien sind im Gerät 72 Stunden stabil. Reagenzien können bis zu 8 Mal auf das Panther System geladen werden. Das Laden von Reagenzien wird jedes Mal im Panther System-Protokoll vermerkt.

D. Nach dem Auftauen des Kalibrators muss die Lösung klar sein, d. h., keine Trübungen oder Präzipitate aufweisen.

E. Das Promoter Reagent und das rekonstituierte Promoter Reagent sind lichtempfindlich. Diese Reagenzien sind lichtgeschützt zu lagern und für die Anwendung vorzubereiten.

Probenentnahme und -lagerung

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

Hinweis: *Bei den Schritten, die eine Handhabung von Proben erfordern, darauf achten, dass es zu keiner Kreuzkontamination kommt. Benutztes Material ist beispielsweise so zu entsorgen, dass es nicht über geöffnete Röhrchen geführt wird.*

Hinweis: *Nur sekundäre Röhrchen aus Plastik werden für die Lagerung empfohlen.*

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

- Röhrchen, die Ethylendiamintetraacetat (EDTA)- oder Acid-Citrate-Dextrose (ACD)-Antikoagulanzien enthalten, oder
- Plasmapräparationsröhrchen (PPTs)
- Serumröhrchen
- Serumtrennröhrchen (SSTs)

Bei Serum ist vor der Weiterverarbeitung die Koagelbildung abzuwarten.

A. Probenentnahme

Vollblut kann bei 2 °C bis 30 °C gelagert werden und ist innerhalb von 6 Stunden nach der Probenentnahme zu zentrifugieren. Plasma oder Serum unter Einhaltung der Herstelleranweisungen für das jeweils verwendete Röhrchen vom Erythrozytenpellet trennen. Plasma oder Serum kann in einem primären Röhrchen auf dem Panther System getestet oder zuvor in ein sekundäres Röhrchen wie das Aptima Probenaliquotröhrchen (Specimen Aliquot Tube) überführt werden. Um 500 µl Reaktionsvolumen zu erhalten, beträgt das Serum- oder Plasmamindestvolumen für primäre Entnahmeröhrchen bis zu 1200 µl; für sekundäre Röhrchen beträgt das Mindestvolumen 700 µl. In der folgenden Tabelle sind die Anforderungen an das Totvolumen für jeden primären und sekundären Röhrchentyp angegeben.

Röhrchen (Größe und Typ)	Totvolumen auf dem Panther-System
Aptima Probenaliquotröhrchen (Sample Aliquot Tube; SAT)	0,2 ml
12 x 75 mm	0,5 ml
13 x 100 mm	0,5 ml
13 x 100 mm mit Gel	0,3 ml
16 x 100 mm mit Gel	0,7 ml

Wird der Test nicht sofort durchgeführt, können Plasma und Serum gemäß den nachstehenden Spezifikationen gelagert werden. In ein sekundäres Röhrchen überführtes Plasma oder Serum kann bei -20 °C eingefroren werden. Die Proben sollten höchstens dreimal eingefroren und wieder aufgetaut werden. Patientenproben nicht in EDTA-, ACD- oder primären Serumentnahmeröhrchen einfrieren.

B. Bedingungen für die Lagerung von Patientenproben

1. EDTA- und ACD-Plasmaproben

   Vollblut kann bei 2 °C bis 30 °C gelagert werden und ist innerhalb von 6 Stunden nach der Probenentnahme zu zentrifugieren. Anschließend kann Plasma unter einer der folgenden Bedingungen längere Zeit gelagert werden:

   - Im primären Entnahmeröhrchen oder sekundären Röhrchen bis zu 24 Stunden lang bei 2 °C bis 25 °C,
   - Im primären Entnahmeröhrchen oder sekundären Röhrchen bis zu 5 Tage lang bei 2 °C bis 8 °C oder
   - Im sekundären Röhrchen bis zu 60 Tage lang bei -20 °C.

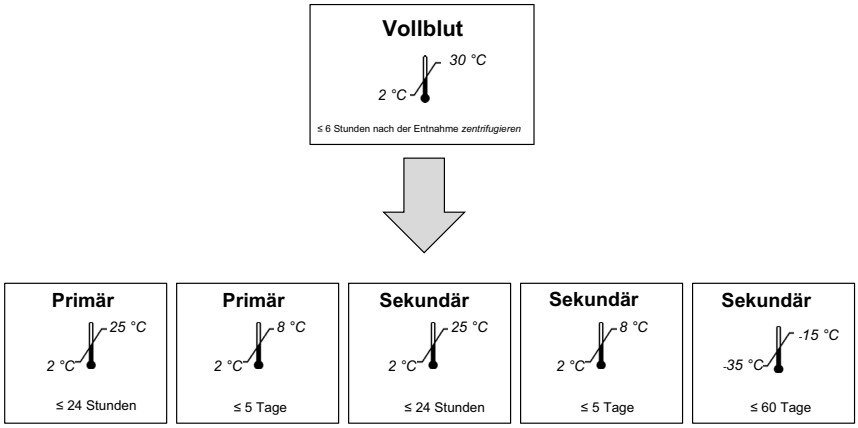


Abbildung 1. Bedingungen für die Lagerung von EDTA/ACD-Röhrchen

2. PPT-Patientenproben

   Vollblut kann bei 2 °C bis 30 °C gelagert werden und ist innerhalb von 6 Stunden nach der Probenentnahme zu zentrifugieren. Anschließend kann Plasma unter einer der folgenden Bedingungen längere Zeit gelagert werden:

   - Im primären Entnahmeröhrchen oder sekundären Röhrchen bis zu 24 Stunden lang bei 2 °C bis 25 °C,
   - Im primären Entnahmeröhrchen oder sekundären Röhrchen bis zu 5 Tage lang bei 2 °C bis 8 °C oder
   - Im primären Entnahmeröhrchen oder sekundären Röhrchen bis zu 60 Tage lang bei -20 °C.

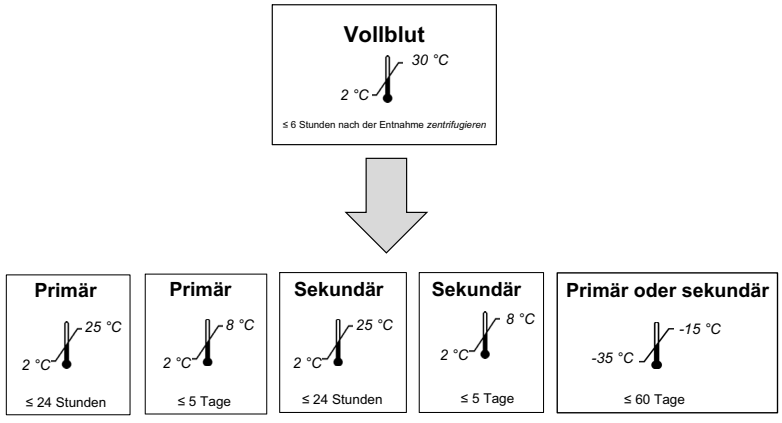


Abbildung 2. Bedingungen für die Lagerung von PPTs

3. Patientenproben in Serumröhrchen

   Vollblut kann bei 2 °C bis 30 °C gelagert werden und ist innerhalb von 6 Stunden nach der Probenentnahme zu zentrifugieren. Anschließend kann Serum unter einer der folgenden Bedingungen längere Zeit gelagert werden:

   - Im primären Entnahmeröhrchen oder sekundären Röhrchen bis zu 24 Stunden lang bei 2 °C bis 30 °C,
   - Im primären Entnahmeröhrchen oder sekundären Röhrchen bis zu 5 Tage lang bei 2 °C bis 8 °C oder
   - Im sekundären Röhrchen bis zu 60 Tage lang bei -20 °C.

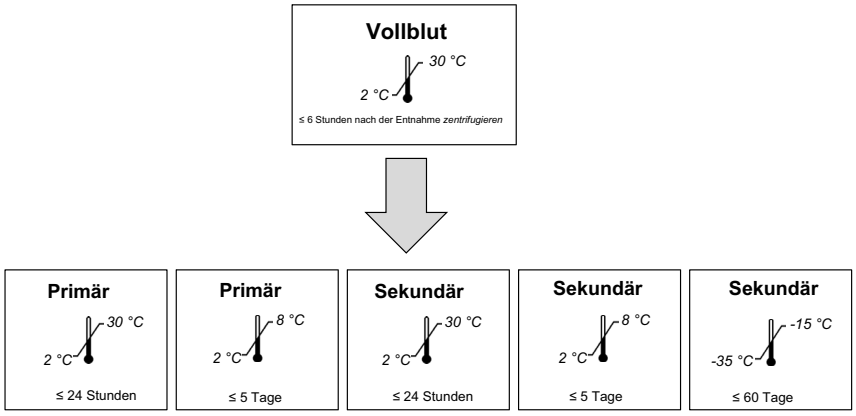


Abbildung 3. Bedingungen für die Lagerung von Serumröhrchen

4. SST-Patientenproben

   Vollblut kann bei 2 °C bis 30 °C gelagert werden und ist innerhalb von 6 Stunden nach der Probenentnahme zu zentrifugieren. Anschließend kann Serum unter einer der folgenden Bedingungen längere Zeit gelagert werden:

   - Im primären Entnahmeröhrchen oder sekundären Röhrchen bis zu 24 Stunden lang bei 2 °C bis 30 °C,
   - Im primären Entnahmeröhrchen oder sekundären Röhrchen bis zu 5 Tage lang bei 2 °C bis 8 °C oder
   - Im primären Entnahmeröhrchen oder sekundären Röhrchen bis zu 60 Tage lang bei -20 °C.

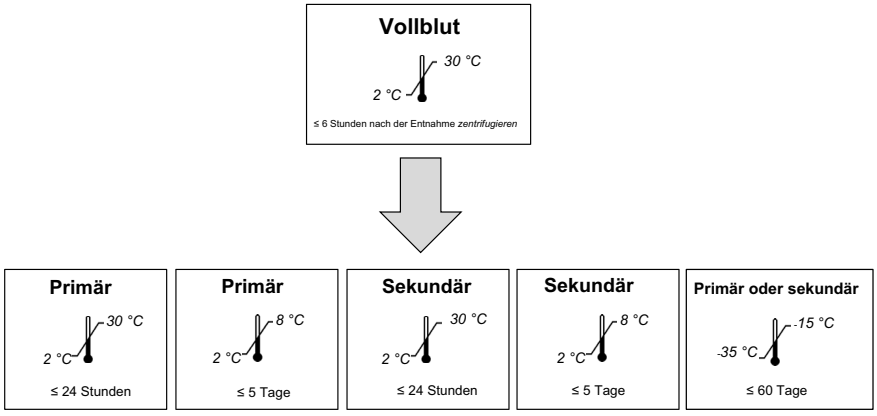


Abbildung 4. Bedingungen für die Lagerung von SSTs

C. Langzeitlagerung im gefrorenen Zustand

Plasma- oder Serumproben können in SATs bis zu 60 Tage lang bei -65 °C bis -70 °C gelagert werden.

D. Verdünnung von Plasma- und Serumproben

Plasma- oder Serumproben können zum Test auf dem Panther System im SAT oder einem sekundären Röhrchen verdünnt werden. Für weitere Informationen siehe *Testverfahren mit dem Panther System*, Schritt E.5.

⚠ *Von einem Ergebnis „Nicht nachgewiesen“ ausgehend sollte keine diagnostische Auswertung für Serum- oder Plasmaproben erfolgen, die verdünnt wurden. Eine neue, unverdünnte Probe nehmen und erneut testen.*

Hinweis: *Wenn eine Patientenprobe verdünnt wird, muss sie sofort nach der Verdünnung getestet werden. Eine verdünnte Patientenprobe nicht einfrieren.*

Proben im Panther System

Proben können bis zu 8 Stunden lang unverschlossen auf dem Panther System stehen gelassen werden. Solange die Gesamtverweildauer auf dem System vor dem Pipettieren der Probe durch das Panther System 8 Stunden nicht übersteigt, können die Proben wieder aus dem Panther System genommen und getestet werden.

Transport von Patientenproben

Die unter *Probenentnahme und -lagerung* beschriebenen Lagerbedingungen für Proben müssen eingehalten werden.

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

Panther System

Nachstehend sind die Reagenzien für den Aptima HCV Quant Dx Assay für das Panther System gelistet. Die Symbole zur Identifikation der Reagenzien sind neben den Reagenzbezeichnungen angegeben.

Im Lieferumfang enthaltene Reagenzien und Materialien

Aptima HCV Quant Dx Assay-Kit, 100 Tests Kat.- Nr. PRD-03506
(1 Assay-Box, 1 Kalibrator-Kit und 1 Kit mit Kontrollen)
Zusätzliche Kalibratoren und Kontrollen können separat bestellt werden. Siehe die nachstehenden entsprechenden Bestellnummern.

Aptima HCV Quant Dx Assay-Box
(Lagerung bei 2 °C bis 8 °C nach Empfang)

Symbol	Komponente	Menge
A	**qHCV-Amplifikationsreagenz** *Nicht-infektiöse Nukleinsäuren, getrocknet, in Pufferlösung.*	1 Fläschchen
E	**qHCV-Enzymreagenz** *Reverse Transkriptase und RNA-Polymerase, getrocknet, in HEPES-Pufferlösung.*	1 Fläschchen
PRO	**qHCV Promotorreagenz** *Nicht-infektiöse Nukleinsäuren, getrocknet, in Pufferlösung.*	1 Fläschchen
AR	**qHCV-Amplifikationsrekonstitutionslösung** *Wässrige Lösung mit Glyzerol und Konservierungsmitteln.*	1 x 7,2 ml
ER	**qHCV-Enzymrekonstitutionslösung** *HEPES-gepufferte Lösung mit oberflächenaktiver Substanz und Glyzerol.*	1 x 5,8 ml
PROR	**qHCV-Promotorekonstitutionslösung** *Wässrige Lösung mit Glyzerol und Konservierungsmitteln.*	1 x 4,5 ml
TCR	**qHCV Target-Capture-Reagenz** *Nukleinsäuren in einer gepufferten Salzlösung mit nicht-infektiösen Nukleinsäuren in der Festphase und einem internen Kalibrator.*	1 x 72,0 ml
	Rekonstitutionsverbindungsstücke	3
	Barcode-Blatt für Hauptcharge	1 Blatt

Kit mit Aptima HCV Quant Dx Calibrator (Kat.- Nr. PRD-03507)
(Lagerung bei -15 °C bis -35 °C nach Empfang)

Symbol	Komponente	Menge
PCAL	**qHCV Positivkalibrator** *Transkript in gepufferter Lösung.*	5 x 2,5 ml
	Barcode-Etikett des Kalibrators	—

Kit mit Aptima HCV Quant Dx Controls (Kat. Nr. PRD-03508)
(Lagerung bei -15 °C bis -35 °C nach Empfang)

Symbol	Komponente	Menge
NC	**qHCV Negativkontrolle** *HCV-negatives defibriniertes Humanplasma mit Gentamicin und 0,2 % Natriumazid als Konservierungsmittel.*	5 x 0,8 ml
LPC	**qHCV Schwach positive Kontrolle** *Nicht-infektiöse HCV-Armored RNA in defibriniertem Humanplasma mit Gentamicin und 0,2 % Natriumazid als Konservierungsmittel.*	5 x 0,8 ml
HPC	**qHCV Stark positive Kontrolle** *Nicht-infektiöse HCV-Armored RNA in defibriniertem Humanplasma mit Gentamicin und 0,2 % Natriumazid als Konservierungsmittel.*	5 x 0,8 ml
	Barcode-Etikett der Kontrolle	—

Erforderliche, jedoch nicht im Lieferumfang enthaltene Materialien

Hinweis: *Die von Hologic erhältlichen Materialien sind mit der Katalognummer aufgeführt, sofern nicht anders angegeben.*

Material	**Kat.- Nr.**
Panther™ System	303095
Panther Fusion™ System	PRD-04172
Panther™ System Continuous Fluid und Waste (Panther Plus)	PRD-06067
Kit mit Aptima® HCV Quant Dx-Kontrollen	PRD-03508
Kit mit Aptima® HCV Quant Dx Calibrator	PRD-03507
Panther Durchlaufkit für Echtzeitassays (nur für Echtzeitassays)	PRD-03455 (5000 Tests)
Aptima® Assay-Flüssigkeitskit (auch als Universalflüssigkeitskit bezeichnet) *enthält Aptima® Waschlösung, Aptima® Puffer für Deaktivierungsflüssigkeit und Aptima® Ölreagenz*	303014 (1000 Tests)
Multi-Röhrchen-Einheiten (MTU)	104772-02
Panther™ Entsorgungsbeutel-Kit	902731
Panther™ Abfallabdeckung	504405
oder Panther™ System-Durchlaufkit *(wenn Nicht-Echtzeit-TMA-Assays parallel zu Echtzeit-TMA-Assays durchgeführt werden) enthält MTUs, Abfallbeutel, Abfallbehälterabdeckungen, Auto-Detektions- und Assay-Flüssigkeiten*	303096 (5000 Tests)
Spitzen, 1000 µl, gefiltert, zur Flüssigkeitsstandmessung, leitfähig und Einwegmaterial *Nicht alle Produkte sind in allen Regionen verfügbar. Wenden Sie sich an Ihren Vertreter, um regionsspezifische Informationen zu erhalten.*	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Chlorbleiche, 5 % bis 8,25 % (0,7 M bis 1,16 M) Natriumhypochloritlösung	—
Ungepuderte Einweghandschuhe	—
Ersatzkappen, undurchlässig	103036A
Ersatzkappen für Reagenzien *Rekonstitutionsflaschen für Amplification, Enzyme und Promoter Reagent* *TCR-Flasche*	 CL0041 (100 Kappen) CL0040 (100 Kappen)
Labortischunterlagen mit Kunststoffrückseite	—
Fusselfreie Tücher	—
Pipette	—
Spitzen	—
Optionen für primäre Entnahmeröhrchen: *13 mm x 100 mm* *13 mm x 75 mm* *16 mm x 100 mm*	 — — —
Zentrifuge	—
Vortexmischer	—

Optionale Materialien

Material	Kat.- Nr.
Optionen für sekundäre Röhrchen:	
12 mm x 75 mm	—
13 mm x 100 mm	—
16 mm x 100 mm	—
Aptima Probenaliquotröhrchen (Specimen Aliquot Tubes, SATs) (100 St.)	FAB-18184
Kappe für Transportröhrchen (100 St.) *Kappe für SAT*	504415
Aptima® Probenverdünner	PRD-03003
Aptima® Probenverdünner-Kit *enthält Probenverdünner, 100 SATs und 100 Kappen*	PRD-03478
Transferpipetten	—
Handelsübliche Panels	—
Wattestäbchen	—
Wippschüttler für Röhrchen	PRD-03488

Testverfahren mit dem Panther System

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

A. Vorbereitung des Arbeitsbereichs

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

B. Vorbereitung von Kalibrator und Kontrollen

Den Kalibrator und die Kontrollen vor der Verarbeitung wie folgt eine Temperatur von 15 °C bis 30 °C annehmen lassen:

1. Den Kalibrator und die Kontrollen aus der Lagerung (-15 °C bis -35 °C) nehmen und auf eine Temperatur von 15 °C bis 30 °C bringen. Jedes Röhrchen während des gesamten Auftauprozesses behutsam umdrehen, um den Inhalt gründlich zu mischen. Es ist sicherzustellen, dass der Röhrcheninhalt vor dem Gebrauch vollständig aufgetaut ist.

   Option. Die Röhrchen mit dem Kalibrator und den Kontrollen können auf einer geeigneten Schwenkvorrichtung platziert werden, um ihren Inhalt gründlich zu mischen. Es ist sicherzustellen, dass der Röhrcheninhalt vor dem Gebrauch vollständig aufgetaut ist.

   Hinweis: *Beim Umdrehen des Kalibrators und der Kontrollen übermäßige Schaumbildung vermeiden. Schaum beeinträchtigt die Füllstandsmessung im Panther System.*

2. Wenn der Röhrcheninhalt aufgetaut ist, das Röhrchen außen mit einem sauberen, trockenen Einwegtuch abtrocknen.

3. Zur Verhinderung einer Kontamination die Röhrchen nicht zu diesem Zeitpunkt öffnen.

C. Reagenzrekonstitution/Vorbereitung eines neuen Kits

Hinweis: *Die Reagenzrekonstitution sollte vor dem Arbeiten mit dem Panther System durchgeführt werden.*

1. Für die Vorbereitung von Target Capture-Reagenz (TCR) wie folgt vorgehen:
   a. Das TCR aus der Lagerung (2 °C bis 8 °C) nehmen. Die Chargennummer auf der TCR-Flasche überprüfen, um sicherzustellen, dass sie mit der Chargennummer auf dem Hauptchargen-Barcodeblatt übereinstimmt.
   b. Die TCR-Flasche sofort kräftig 10 Mal schütteln. Die TCR-Flasche mindestens 45 Minuten bei 15 °C bis 30 °C erwärmen lassen. Während dieser Zeit sollte das TCR-Fläschchen mindestens alle 10 Minuten geschwenkt und umgedreht werden.

      Option. Das TCR-Fläschchen kann auf einer geeigneten Schwenkvorrichtung folgenderweise vorbereitet werden: Das TCR aus der Lagerung (2 °C bis 8 °C) nehmen und sofort kräftig 10 Mal schütteln. Die TCR-Flasche auf einer geeigneten Schwenkvorrichtung platzieren und mindestens 45 Minuten bei 15 °C bis 30 °C erwärmen lassen.
   c. Vor dem Gebrauch ist sicherzustellen, dass alle Präzipitate gelöst und die Magnetpartikel suspendiert sind.
2. Zum Rekonstituieren von Amplification, Enzyme und Promoter Reagents wie folgt vorgehen:
   a. Die gefriergetrockneten Reagenzien und die entsprechenden Rekonstitutionslösungen aus der Lagerung (2 °C bis 8 °C) nehmen. Jede Rekonstitutionslösung mit ihrem lyophilisierten Reagenz paaren.
   b. Es ist sicherzustellen, dass das Etikett der Rekonstitutionslösung und das des gefriergetrockneten Reagenzes dieselbe Farbe aufweisen. Die Chargennummern auf dem Hauptchargen-Barcodeblatt (Barcode-Liste) prüfen, um sicherzustellen, dass die richtigen Reagenzien miteinander gepaart wurden.
      i. Das Fläschchen mit dem gefriergetrockneten Reagenz durch Entfernen der Metallversiegelung und des Gummistopfens öffnen.
      ii. Das gekerbte Ende des Rekonstitutionsverbindungsstücks (schwarz) fest in das Fläschchen einführen (Abbildung 5, Schritt 1).
      iii. Die Flasche mit der entsprechenden Rekonstitutionslösung öffnen und die Kappe auf eine saubere, abgedeckte Arbeitsfläche legen.
      iv. Die Flasche mit der Rekonstitutionslösung auf eine stabile Fläche stellen (z. B. den Labortisch). Anschließend das Fläschchen mit dem gefriergetrockneten Reagenz über dem Fläschchen mit der Rekonstitutionslösung umdrehen und das Verbindungsstück an dem Fläschchen mit Rekonstitutionslösung befestigen (Abbildung 5, Schritt 2).
      v. Die zusammengefügten Flaschen (Reagenzienflasche verbunden mit Lösungsmittelfläschchen) langsam umdrehen, damit die Lösung in das Glasfläschchen laufen kann (Abbildung 5, Schritt 3).
      vi. Die zusammengefügten Flaschen mindestens 10 Sekunden lang schwenken (Abbildung 5, Schritt 4).
      vii. Mindestens 30 Minuten warten, damit das gefriergetrocknete Reagenz in Lösung gehen kann.
      viii. Nachdem das gefriergetrocknete Reagenz in Lösung gegangen ist, die zusammengefügten Flaschen mindestens 10 Sekunden lang schwenken und

anschließend die Lösung gründlich mischen, indem das Glasfläschchen leicht nach vorne und hinten gekippt wird.

c. Die zusammengefügten Flaschen dann wieder langsam umdrehen, damit die Lösung wieder komplett zurück in die Flasche mit der Rekonstitutionslösung fließen kann (Abbildung 5, Schritt 5).

d. Rekonstitutionsverbindungsstück und Glasfläschchen vorsichtig entfernen (Abbildung 5, Schritt 6).

e. Die Flasche wieder verschließen. Die Initialen des Anwenders und das Rekonstitutionsdatum auf das Etikett schreiben (Abbildung 5, Schritt 7).

f. Rekonstitutionsverbindungsstück und Glasfläschchen entsorgen (Abbildung 5, Schritt 8).

Warnung: *Bei der Rekonstitution von Reagenzien übermäßige Schaumbildung vermeiden. Schaum beeinträchtigt die Füllstandsmessung im Panther System.*

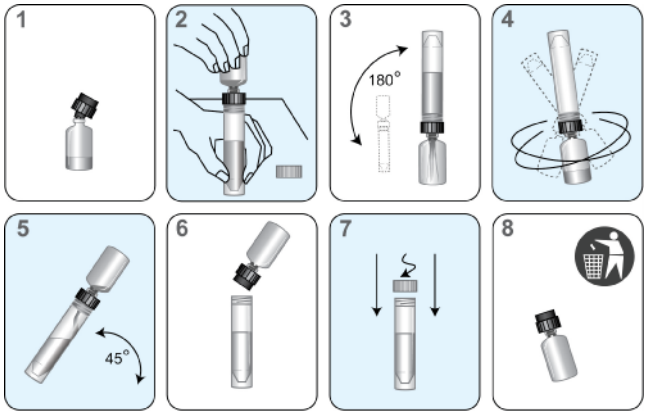


Abbildung 5. Rekonstitution von Reagenzien

D. Reagenzienvorbereitung für bereits angesetzte Reagenzien

1. Die bereits angesetzten Reagenzien aus der Lagerung (2 °C bis 8 °C) nehmen.
2. Bereits vorbereitete Amplifikations-, Enzym-, Promotor- und TC-Reagenzien müssen vor Beginn des Assays auf eine Temperatur von 15 °C bis 30 °C gebracht werden.
3. Bei bereits vorbereiteten TCR vor dem Laden auf das System den Schritt C.1 oben durchführen.
4. Vor dem Laden auf das System müssen Amplification, Enzyme und Promoter Reagents zum gründlichen Mischen geschwenkt und umgedreht werden. Beim Umdrehen von Reagenzien übermäßige Schaumbildung vermeiden.

   Option: Die bereits angesetzten Reagenzien können mit Hilfe eines Röhrchenschüttlers gemäß den folgenden Anweisungen homogenisiert werden: Die Reagenzien aus der Lagerung (2–8 °C) entnehmen. Die Reagenzien auf einen Röhrchenschüttler stellen und bei 15–30°C mindestens 30 Minuten erwärmen lassen.
5. Reagenzflaschen nicht nachfüllen. Das Panther System erkennt Flaschen, die nachgefüllt wurden, und nimmt sie nicht an.

E. Probenhandhabung

1. Es ist sicherzustellen, dass verarbeitete Proben in primären Röhrchen oder unverdünnte Proben in sekundären Röhrchen gemäß *Probenentnahme und -lagerung* ordnungsgemäß gelagert wurden.
2. Es ist sicherzustellen, dass gefrorene Patientenproben ganz aufgetaut sind. Mischen Sie die aufgetauten Patientenproben gründlich 3 bis 5 Sekunden auf dem Vortexer.

3. Die Patientenproben vor der Verarbeitung auf eine Temperatur von 15 °C bis 30 °C bringen. Siehe *Proben im Panther System* für zusätzliche Informationen zu im System gelagerten Proben.
4. Es ist sicherzustellen, dass alle primären Entnahmeröhrchen bis zu 1200 µl Probe oder alle SAT mindestens 700 µl Probe enthalten. In der unter *Probenentnahme* angeführten Tabelle sind die Anforderungen an das Totvolumen für jeden primären und sekundären Röhrchentyp zu finden. Falls eine Verdünnung der Patientenprobe erforderlich ist, siehe Schritt E.5 unten für zusätzliche Informationen.
5. Eine Plasma- oder Serumprobe 1:3 in einem SAT bzw. 1:100 in einem Sekundärröhrchen verdünnen.

   Für den Test auf dem Panther System kann eine Patientenprobe in einem sekundären Röhrchen verdünnt werden.

⚠ *Eine diagnostische Auswertung sollte nicht ausgehend von einem Ergebnis „Nicht nachgewiesen“ oder für Serum- oder Plasmaproben erfolgen, die verdünnt wurden. Eine neue, unverdünnte Probe nehmen und erneut testen.*

Hinweis: *Wenn eine Patientenprobe verdünnt wird, muss sie sofort nach der Verdünnung getestet werden.*

a. Verdünnung von kleinvolumigen Proben

   Das Probenvolumen kann mit dem Aptima Probenverdünner auf das erforderliche Mindestvolumen (700 µl) erhöht werden. Patientenproben mit mindestens 240 µl können wie folgt mit zwei Teilen Probenverdünner (1:3) verdünnt werden:

   i. 240 µl Patientenprobe in das SAT geben.

   ii. 480 µl Aptima Probenverdünner hinzugeben.

   iii. Das Röhrchen verschließen.

   iv. Vorsichtig 5 Mal umdrehen, um den Inhalt zu mischen.

   Patientenproben, die im Verhältnis 1:3 verdünnt worden sind, können mit der 1:3-Option auf dem Panther System getestet werden (weitere Informationen sind im *Panther/Panther Fusion System Operator’s Manual* [Bedienungsanleitung für das Panther/Panther Fusion System] zu finden). Die Software gibt automatisch das Ergebnis für die unverdünnte Probe ab, indem sie den Verdünnungsfaktor anwendet. Solche Patientenproben werden als verdünnte Patientenproben gekennzeichnet.

b. Verdünnung hochtitriger Proben

   Liegt das Ergebnis einer Patientenprobe über der oberen Quantifizierungsgrenze (ULoQ), kann die Probe wie folgt mit 99 Teilen Aptima Probenverdünner (1:100) verdünnt werden:

   i. 30 µl Probe in das SAT oder ein sekundäres Röhrchen geben.

   ii. 2970 µl Aptima Probenverdünner hinzugeben.

   iii. Das Röhrchen verschließen.

   iv. Vorsichtig 5 Mal umdrehen, um den Inhalt zu mischen.

   Patientenproben, die 1:100 verdünnt worden sind, können mit der 1:100-Option auf dem Panther System getestet werden (weitere Informationen finden Sie im *Panther/Panther Fusion System Operator’s Manual* [Bedienungsanleitung für das Panther System]). Die Software gibt automatisch das Ergebnis für die unverdünnte Probe ab, indem sie den Verdünnungsfaktor anwendet. Solche Patientenproben werden als verdünnte Patientenproben gekennzeichnet.

Hinweis: *Bei verdünnten Proben, deren Konzentration im unverdünnten Zustand über der oberen Quantifizierungsgrenze liegt, werden die Ergebnisse in wissenschaftlicher Notation angegeben.*

6. Unmittelbar vor dem Einsetzen der Proben in einen Probenständer jede Probe 10 Minuten bei 1000–3000 × *g* zentrifugieren. Die Kappen nicht entfernen. Luftblasen im Röhrchen beeinträchtigen die Füllstandsmessung durch das Panther System.

   Für Informationen zum Beladen des Probenständers und zum Entfernen der Kappen siehe unten unter *Vorbereitung des Systems*, Schritt F.2.

F. Vorbereitung des Systems

1. Das System entsprechend den Anweisungen im *Panther/Panther Fusion System Operator's Manual (Bedienungsanleitung für das Panther/Panther Fusion System)* und den *Verfahrenshinweise einrichten.* Darauf achten, dass Reagenzienständer und TCR-Adapter geeigneter Größe verwendet werden.
2. Die Proben in den Probenständer laden. Für jedes Probenröhrchen (Patientenproben und ggf. Kalibrator und Kontrollen) die folgenden Schritte durchführen:
   a. Die Kappe eines Probenröhrchens lösen, aber noch nicht abnehmen.

      Hinweis: *Besonders darauf achten, eine Kontamination durch Verbreitung von Aerosolen zu vermeiden. Die Kappen der Proben vorsichtig lösen.*

   b. Das Probenröhrchen in den Probenständer laden.

   c. Die Schritte 2.a und 2.b für jede verbleibende Probe wiederholen.

   d. Nach dem Laden der Proben in den Probenständer die Kappe von jedem Probenröhrchen in einem Probenständer abnehmen und entsorgen. Zur Vermeidung von Kontamination die Kappen nicht über einen Probenständer oder ein Probenröhrchen führen.

   e. Ggf. eine neue Einweg-Transferpipette verwenden, um etwaige Luftblasen oder Schaum zu entfernen.

   f. Wenn die letzte Kappe entfernt wurde, den Probenständer in ein Probenfach laden.

      Hinweis: *Bei gleichzeitiger Durchführung anderer Assays und Probenarten den Probenhalter sichern, bevor der Probenständer in ein Probenfach geladen wird.*

   g. Die Schritte 2.a bis 2.f für den nächsten Probenständer wiederholen.

Verfahrenshinweise

A. Kalibrator und Kontrollen

1. Der qHCV Positivkalibrator, die Röhrchen mit der schwach positiven, der stark positiven und der negativen qHCV-Kontrolle können in jede Position im Probenständer und in jede Probenfach-Bahn auf dem Panther System geladen werden. Die Pipettierung der Proben beginnt, wenn eine der folgenden beiden Bedingungen erfüllt ist:
   a. Der Kalibrator und die Kontrollen werden derzeit vom System verarbeitet.

   b. Gültige Ergebnisse für die Kalibratoren und Kontrollen werden auf dem System registriert.
2. Sobald der Kalibrator und die Röhrchen mit den Kontrollen pipettiert worden sind und mit dem Aptima HCV Quant Dx Assayreagenzien-Kit verarbeitet werden, können bis zu 24 Stunden lang Patientenproben mit dem zugehörigen rekonstituierten Kit getestet werden, **es sei denn:**
   a. Die Kalibrator- oder Kontrollenergebnisse sind ungültig.

   b. Das zugehörige Assayreagenzien-Kit wird aus dem System genommen.

c. die Haltbarkeit des zugehörigen Assayreagenzienkits überschritten ist.

3. Das Kalibrator- und alle Kontrollenröhrchen können einmal verwendet werden. Wenn versucht wird, mehr als einmal aus dem Röhrchen zu pipettieren, kann es zu Verarbeitungsfehlern kommen.

B. Handschuhpuder

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

Qualitätskontrolle

Ein Lauf- oder Patientenprobenergebnis kann von einem Anwender für ungültig erklärt werden, wenn während der Durchführung des Assays technische, anwender- oder gerätebezogene Probleme aufgetreten sind und dokumentiert wurden. In diesem Fall müssen die Proben erneut getestet werden.

Assay-Kalibrierung

Zur Erzeugung gültiger Ergebnisse muss eine Assay-Kalibrierung durchgeführt worden sein. Ein einzelner Positivkalibrator wird jedes Mal, wenn ein Reagenzien-Kit auf das Panther System geladen wird, dreimal analysiert. Sobald festgelegt, ist die Kalibrierung bis zu 24 Stunden gültig. Der Anwender wird von der Software auf dem Panther System darauf aufmerksam gemacht, wenn eine Kalibrierung erforderlich ist. Der Anwender scannt einen Kalibrierungskoeffizienten, der auf dem Barcode-Blatt für die Hauptcharge angegeben ist, das jedem Reagenzien-Kit beiliegt.

Während der Verarbeitung werden die Annahmekriterien für den Kalibrator von der Software auf dem Panther System automatisch verifiziert. Wenn weniger als zwei Kalibratorreplikate gültig sind, erklärt die Software den Lauf automatisch für ungültig. Proben eines für ungültig erklärten Laufs sind mit einem frisch vorbereiteten Kalibrator und frisch vorbereiteten Kontrollen erneut zu testen.

Negativ- und Positivkontrollen

Zur Erzeugung gültiger Ergebnisse muss ein Satz von Assaykontrollen getestet werden. Ein Replikat der Negativkontrolle, der schwach positiven Kontrolle und der stark positiven Kontrollen muss jedes Mal, wenn ein Reagenzien-Kit auf das Panther System geladen wird, getestet werden. Sobald festgelegt, sind die Kontrollen bis zu 24 Stunden gültig. Der Anwender wird von der Software auf dem Panther System darauf aufmerksam gemacht, wenn Kontrollen erforderlich sind.

Während der Verarbeitung werden Kriterien für die Annahme der Kontrollen von der Software auf dem Panther System automatisch verifiziert. Zur Erzeugung gültiger Ergebnisse muss die Negativkontrolle ein Ergebnis „Nicht nachgewiesen“ liefern und die Ergebnisse der Positivkontrollen müssen innerhalb vordefinierter Parameter liegen (LPC-Nominalziel: 2,36 $\log_{10}$ IE/ml, HPC-Nominalziel: 5,36 $\log_{10}$ IE/ml). Wenn das Ergebnis für eine der Kontrollen ungültig ist, erklärt die Software den Lauf automatisch für ungültig. Proben eines für ungültig erklärten Laufs sind mit einem frisch vorbereiteten Kalibrator und frisch vorbereiteten Kontrollen erneut zu testen.

Interner Kalibrator/Interne Kontrolle

Jede Probe enthält einen internen Kalibrator/eine interne Kontrolle (IC). Während der Verarbeitung werden IC-Annahmekriterien von der Software auf dem Panther System automatisch verifiziert. Wenn ein IC-Ergebnis ungültig ist, wird das Probenergebnis für ungültig erklärt. Jede Probe mit ungültigem IC-Ergebnis muss erneut getestet werden, um ein gültiges Ergebnis zu erhalten.

Die Panther System Software verifiziert alle Prozesse genau, wenn gemäß den Anweisungen in dieser Packungsbeilage und in der *Panther/Panther Fusion System Operator's Manual* (Bedienungsanleitung für das Panther System) verfahren wird.

Interpretation der Ergebnisse

Das Panther System bestimmt die Konzentration der HCV-RNA in Patientenproben und Kontrollen automatisch, indem es die Ergebnisse mit einer Kalibrationskurve vergleicht. HCV-RNA-Konzentrationen werden in IE/ml und $\log_{10}$ IE/ml angegeben. Die Ergebnisauswertung wird in Tabelle 1 bereitgestellt. Wenn Patientenproben mit 1:3 oder 1:100 verdünnt worden sind, berechnet das Panther System automatisch die HCV-RNA-Konzentration für die unverdünnte Patientenprobe, indem die verdünnte Konzentration mit dem Verdünnungsfaktor multipliziert wird. Verdünnte Patientenproben werden in den Ergebnissen entsprechend gekennzeichnet.

Hinweis: *Bei verdünnten Patientenproben können Ergebnisse wie „Nicht nachgewiesen“ oder „<10 nachgewiesen“ erhalten werden, indem eine Patientenprobe mit einer Konzentration knapp über, aber nahe beim LoD (Limit of Detection, Nachweisgrenze) bzw. LLoQ (Lower Limit of Quantitation, untere Quantifizierungsgrenze) verdünnt wird. Es wird empfohlen, eine andere unverdünnte Patientenprobe zu entnehmen und zu testen, wenn kein quantitatives Ergebnis erhalten wird.*

Das Panther System liefert kein qualitatives Ergebnis (d. h. „Reaktiv“ oder „Nicht-reaktiv“) für die diagnostische Anwendung. Der Anwender muss die angegebene HCV-RNA-Konzentration selbst zu einem qualitativen Ergebnis interpretieren (Tabelle 1). Patientenproben mit einem Ergebnis „Nicht nachgewiesen“ sind nicht-reaktiv auf HCV-RNA. Patientenproben mit einem Ergebnis „<10 nachgewiesen“, mit einem Ergebnis innerhalb des linearen Bereichs und einem Ergebnis von >100.000.000 (obere Quantifizierungsgrenze) bedeuten, dass HCV-RNA nachgewiesen wurde und dass diese Patientenproben auf HCV-RNA reaktiv sind.

Tabelle 1: Ergebnisinterpretation

Angegebenes Aptima HCV Quant Dx Assay-Ergebnis		Auswertung der HCV-RNA-Konzentration	Diagnostische qualitative Auswertung des Anwenders[a]
IE/ml	$\log_{10}$ Wert[b]		
Nicht nachgewiesen	Nicht nachgewiesen	Keine HCV-RNA nachgewiesen.	Nicht reaktiv auf HCV-RNA
< 10 nachgewiesen	< 1,00	Es wird HCV-RNA nachgewiesen, aber in einer Menge unter der LLoQ.	Reaktiv auf HCV-RNA
10 bis 100.000.000	1,00 bis 8,00	Die HCV-RNA-Konzentration liegt im linearen Bereich von 10 bis 100.000.000 IE/ml	Reaktiv auf HCV-RNA
> 100.000.000	> 8,00	Die HCV-RNA-Konzentration liegt über der oberen Quantifizierungsgrenze (Upper Limit of Quantitation, ULoQ).	Reaktiv auf HCV-RNA
Ungültig[c]	Ungültig[c]	Bei der Bestimmung ist ein Fehler aufgetreten. Die Patientenprobe sollte noch einmal getestet werden.	Ungültig

[a] Eine diagnostische Auswertung kann ausgehend von unverdünnten Serum- oder Plasmaproben erfolgen.
[b] Wert ist auf zwei Dezimalstellen gekürzt.
[c] Ungültige Ergebnisse sind in blauer Schrift angezeigt.

Die Annahmekriterien für jede der Aptima HCV Quant Dx Assaykontrollen sind in Tabelle 2 aufgeführt.

Hinweis: *Der unten aufgeführte Wiederfindungsbereich hängt vom zugewiesenen Wert der jeweiligen Charge ab. Die zugewiesene Konzentration ist dem beigelegten Barcode-Blatt der Kontrolle zu entnehmen, das jeder Kontrollpackung beiliegt.*

Tabelle 2: Annahmekriterien für den Wiederfindungsbereich der Kontrollen des Aptima HCV Quant Dx Assay

Komponente	Bereich für gültige Läufe
Negativkontrolle	n. z.
Niedrige Positivkontrolle	+/- 0,5 $\log_{10}$ IE/ml
Hohe Positivkontrolle	+/- 0,5 $\log_{10}$ IE/ml

Einschränkungen

A. Dieser Assay darf nur von Mitarbeitern durchgeführt werden, die im Verfahren unterwiesen wurden. Eine Nichtbefolgung der Anweisungen in dieser Packungsbeilage kann fehlerhafte Ergebnisse zur Folge haben.

B. Zuverlässige Ergebnisse hängen von der korrekten Entnahme, dem Transport, der Lagerung und der Verarbeitung der Patientenproben ab.

C. Es besteht die seltene Möglichkeit, dass Mutationen in den hoch konservierten Regionen des Virusgenoms, in denen die Primer und/oder Sonden im Aptima HCV Quant Dx Assay binden, den Assay stören und daher das Virus nicht nachgewiesen werden kann.

Analytische Leistung

Nachweisgrenze (Limit of Detection, LoD) mit dem 2. internationalen WHO-Standard

Die Nachweisgrenze (LoD) des Assays ist definiert als die HCV-RNA-Konzentration, die gemäß CLSI EP17-A2 mit einer Wahrscheinlichkeit vom mindestens 95 % festgestellt wird.[18]

Die LoD wurde durch Testung von Panels des 2. internationalen WHO-Standards für Hepatitis C Virus RNA (NIBSC 96/798, Genotyp 1), verdünnt in HCV-negativem menschlichem EDTA-Plasma und Serum, bestimmt. Es wurden mindestens 36 Replikate jeder Verdünnung mit jeder der drei Reagenzchargen getestet, was mindestens 108 Replikate pro Verdünnung ergab. Zur Aufstellung der vorhergesagten Nachweisgrenzen wurde eine Probit-Analyse durchgeführt. Bei den LoD-Werten handelt es sich um die Ergebnisse der Reagenzchargen mit der höchsten vorhergesagten Nachweisgrenze. Die 95%ige LoD für den Aptima HCV Quant Dx Assay bei Verwendung des 2. internationalen WHO-Standards beträgt 4,3 IE/ml für Plasma und 3,9 IE/ml für Serum.

Nachweisgrenze bei HCV-Genotypen

Die LoD wurde durch Testung der Verdünnungen von HCV-positiven klinischen Patientenproben für die Genotypen 1, 2, 3, 4, 5 und 6 in HCV-negativem Humanplasma und Serum bestimmt. Konzentrationen wurden durch einen zugelassenen Assay bestimmt. Es wurden mindestens 20 Replikate jeder Panelprobe mit jeder der drei Reagenzchargen getestet, was mindestens 60 Replikate pro Panelprobe ergibt. Zur Aufstellung der vorhergesagten 95%igen Nachweisgrenzen wurde eine Probit-Analyse durchgeführt. Bei den in Tabelle 3 dargestellten LoD-Werten handelt es sich um die Ergebnisse der Reagenzchargen mit der höchsten vorhergesagten Nachweisgrenze.

Tabelle 3: Nachweisgrenze bei HCV-Genotypen bei Verwendung klinischer Patientenproben

Genotyp	Vorhergesagte Nachweisgrenze	Konzentration (IE/ml)	
		Plasma	Serum
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

Linearer Bereich

Der lineare Bereich wurde durch Testung von Panels, bestehend aus in HCV-negativem Humanplasma und Serum verdünnter HCV 1a-Armored RNA (aRNA), gemäß CLSI EP06-A bestimmt.[19] Die Konzentration der Panels lag im Bereich von 1,0 log_{10}IE/ml bis 8,2 log_{10} IE/ml. Der Aptima HCV Quant Dx Assay zeigte über den gesamten Testbereich Linearität, mit einer oberen Quantifizierungsgrenze (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) von 8,0 log_{10} IE/ml, wie in Abbildung 6 dargestellt.

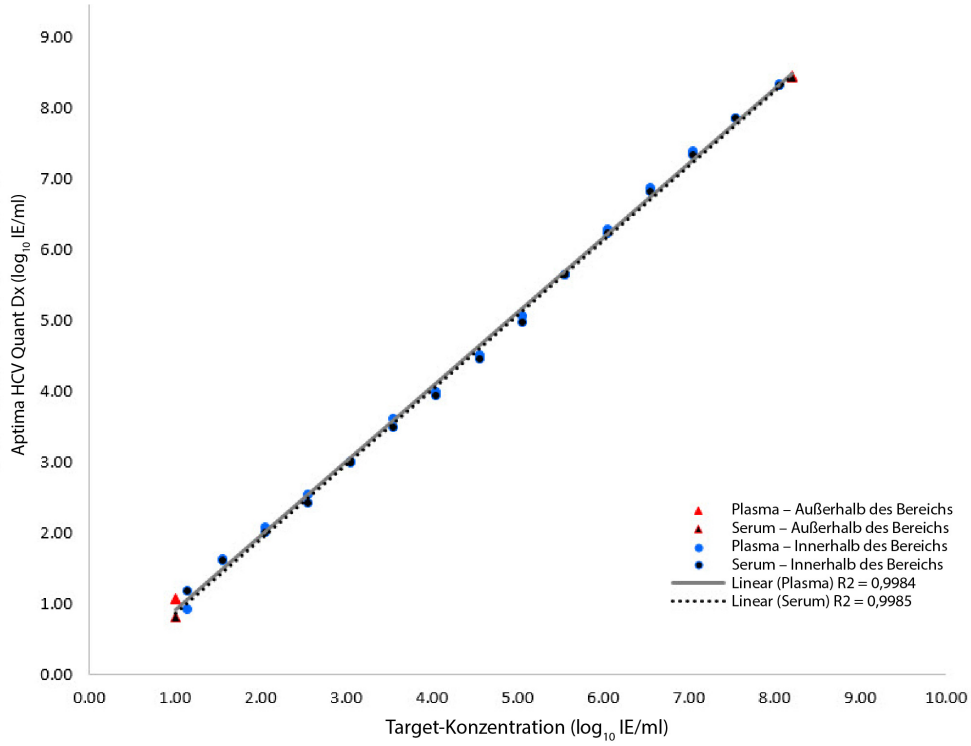


Abbildung 6. Linearität in Plasma und Serum

Linearität bei HCV-Genotypen

Die Linearität und der lineare Bereich von HCV-Genotypen 1 (1a für Plasma und 1b für Serum) bis 6 wurde durch Testung von verdünnten einzelnen klinisch positiven Proben bestimmt, eine für jeden HCV-Genotypen für den unteren Bereich des Assays kombiniert mit aRNA (HCV 1a) für den höheren Bereich des Assays (über 100.000 IE/ml). Verdünnungen in negativem Humanplasma und Serum wurden für alle Genotypen getestet. Linearität wurde für alle sechs Genotypen im getesteten Bereich nachgewiesen, wie in Abbildung 7 für Plasma und Abbildung 8 für Serum dargestellt.

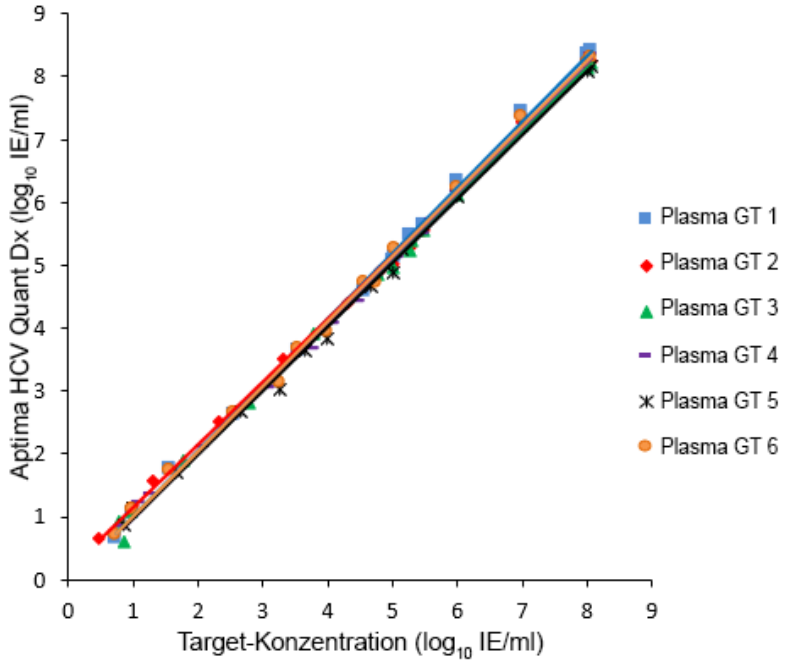


Abbildung 7. Linearer Bereich und Linearität (Plasma)

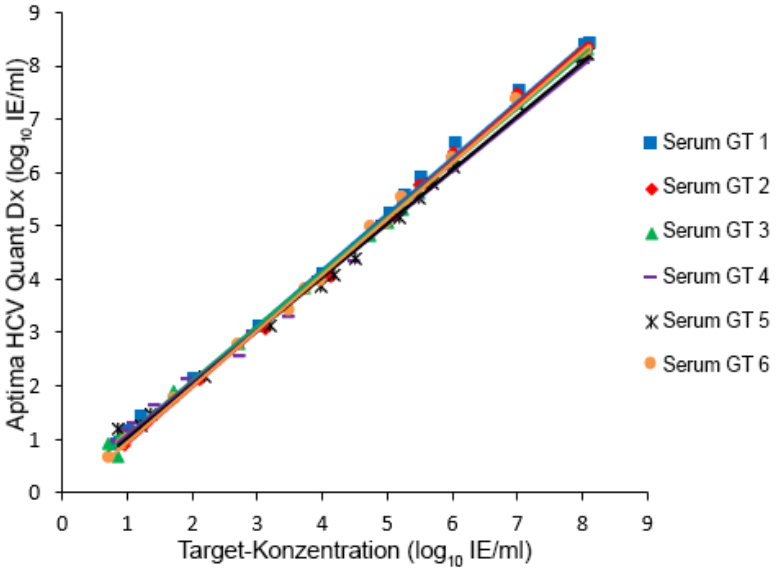


Abbildung 8. Linearer Bereich und Linearität (Serum)

Untere Quantifizierungsgrenze mit dem 2. internationalen WHO-Standard

Die untere Quantifizierungsgrenze (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) ist definiert als die niedrigste Konzentration, bei der HCV-RNA innerhalb eines Gesamtfehlers zuverlässig gemäß CLSI EP17-A2 quantifiziert werden kann.[18] Der TE wurde mit zwei Methoden ermittelt: Total Analytical Error (TAE - Gesamtanalysefehler) = |Bias| + 2 SD, und Total Error (TE - Gesamtfehler) = SQRT(2) x 2 SD. Zur Sicherstellung der Genauigkeit und Präzision der Messungen wurde der Gesamtfehler des Aptima HCV Quant Dx Assays auf 1$\log_{10}$ IE/ml festgesetzt (d. h. an der LLoQ ist der Unterschied zwischen zwei Messungen von mehr als 1 $\log_{10}$ IE/ml statistisch signifikant).

Die LLoQ wurde durch Testung von Panels des 2. internationalen WHO-Standards für Hepatitis-C-Virus-RNA (NIBSC 96/798, Genotyp 1), verdünnt in HCV-negativem Humanplasma und Serum, bestimmt. Es wurden 36 Replikate jeder Verdünnung mit jeder der drei Reagenzchargen getestet, was mindestens 108 Replikate pro Verdünnung ergab. Die Ergebnisse der Reagenzcharge mit der höchsten Konzentration größer oder gleich der LoD, welche die Anforderungen an TE und TAE erfüllen, sind in Tabelle 4 für Plasma und Tabelle 5 für Serum dargestellt. Die LLoQ für den 2. internationalen WHO-Standard beträgt 7 IE/ml (0,82 $\log_{10}$ IE/ml) für Plasma und 9 IE/ml (0,93 $\log_{10}$ IE/ml) für Serum, wie in Tabelle 6 zusammengefasst. Die LLoQ wurde für alle Genotypen bestimmt (siehe *Bestimmung der unteren Quantifizierungsgrenze (LLoQ) bei HCV-Genotypen*). Diese Genotypdaten stellen als Gesamt-LLoQ für den Assay einen Wert von 10 IE/ml fest.

Tabelle 4: LLoQ bei Verwendung des 2. internationalen WHO-Standards für in Plasma verdünnte HCV

Reagenzcharge	Aptima HCV Quant Dx (IE/ml)	Aptima HCV Quant Dx ($\log_{10}$ IE/ml)	SD ($\log_{10}$ IE/ml)	Abweichung ($\log_{10}$ IE/ml)	Berechneter TE ($\log_{10}$ IE/ml)	Berechneter TAE ($\log_{10}$ IE/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

SD=Standardabweichung

Tabelle 5: LLoQ bei Verwendung des 2. internationalen WHO-Standards für in Serum verdünntes HCV

Reagenzcharge	Aptima HCV Quant Dx (IE/ml)	Aptima HCV Quant Dx ($\log_{10}$ IE/ml)	SD ($\log_{10}$ IE/ml)	Abweichung ($\log_{10}$ IE/ml)	Berechneter TE ($\log_{10}$ IE/ml)	Berechneter TAE ($\log_{10}$ IE/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

SD=Standardabweichung

Tabelle 6: Zusammenfassung der LLoQ mit dem 2. internationalen WHO-Standard für HCV

Reagenzcharge	LLoQ Plasma		LLoQ Serum	
	IE/ml	log_{10} IE/ml	IE/ml	log_{10} IE/ml
1	5	0,73	8	0,93
2	7	0,82	8	0,89
3	6	0,76	5	0,71

Bestimmung der unteren Quantifizierungsgrenze (LLoQ) bei HCV-Genotypen

Die LLoQ wurde durch Testung der Verdünnungen von HCV-positiven klinischen Patientenproben für die Genotypen 1, 2, 3, 4, 5 und 6 in HCV-negativem Humanplasma und Serum bestimmt. Die Bestimmung der Konzentration von klinischen Patientenproben wurde über einen Vergleichsassay bestimmt. Es wurden 36 Replikate jeder Panelprobe mit jeder der drei Reagenzchargen getestet, was mindestens 108 Replikate pro Panelprobe ergibt. Die Ergebnisse der Reagenzcharge mit der höchsten Konzentration größer oder gleich der LoD, welche die Anforderungen an TE und TAE erfüllen, berechnet gemäß CLSI EP 17-A2,[18] sind in Tabelle 7 für Plasma und Tabelle 8 für Serum dargestellt. Unten in Tabelle 7 bzw. Tabelle 8 ist jeweils nur ein Ergebnis angegeben, das größer bzw. kleiner als die LLoQ ist, da diese Ergebnisse die erwartete LLoQ am stärksten widerspiegeln. Die LLoQ für die Genotypen 1 bis 6 in Plasma und Serum sind in Tabelle 9 zusammengefasst. Genotyp 6 wies die höchste LLoQ für Serum bei 10 IE/ml auf. Hierdurch wurde die Gesamt-LLoQ für den Assay auf 10 IE/ml festgelegt.

Tabelle 7: Bestimmung der LLoQ bei Genotypen in Plasma

Genotyp	Aptima HCV Quant Dx[a] (IE/ml)	Aptima HCV Quant Dx[a] (log_{10} IE/ml)	SD (log_{10} IE/ml)	Abweichung (log_{10} IE/ml)	Berechneter TE (log_{10} IE/ml)	Berechneter TAE (log_{10} IE/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

SD=Standardabweichung

[a] Es wurden Läufe mit zusätzlichen Werten ausgeführt, aber diese Daten sind in der Tabelle nicht angegeben.

Tabelle 8: Bestimmung der LLoQ bei Genotypen in Serum

Genotyp	Aptima HCV Quant Dx[a] (IE/ml)	Aptima HCV Quant Dx[a] (log_{10} IE/ml)	SD (log_{10} IE/ml)	Abweichung (log_{10} IE/ml)	Berechneter TE (log_{10} IE/ml)	Berechneter TAE (log_{10} IE/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

SD=Standardabweichung

[a] Es wurden Läufe mit zusätzlichen Werten ausgeführt, aber diese Daten sind in der Tabelle nicht angegeben.

Tabelle 9: Zusammenfassung der LLoQ bei Genotypen in Plasma und Serum

HCV-Genotyp	LLoQ Plasma		LLoQ Serum	
	IE/ml	log_{10} IE/ml	IE/ml	log_{10} IE/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

Rückführbarkeit auf den WHO-Standard

Für die Etablierung der Rückführbarkeit auf den WHO-Standard wurde während der gesamten Produktentwicklung und Produktfertigung eine Reihe sekundärer Standards mit bekannten Konzentrationen verwendet. Die für den HCV-WHO-Standard getesteten Konzentrationen lagen zwischen 4,00 und 2,30 log_{10} IE/ml, die sekundären Standards variierten zwischen Konzentrationen von 1,50 bis 8,46 log_{10} IE/ml. Die Aptima HCV Quant Dx Assaykontrollen und Kalibratoren wurden ebenfalls mit den sekundären Standards und dem WHO-Standard getestet. Alle Panels zeigten ähnliche Ergebnisse und waren linear im gesamten linearen Bereich des Assays verteilt, wie in Abbildung 9 dargestellt.

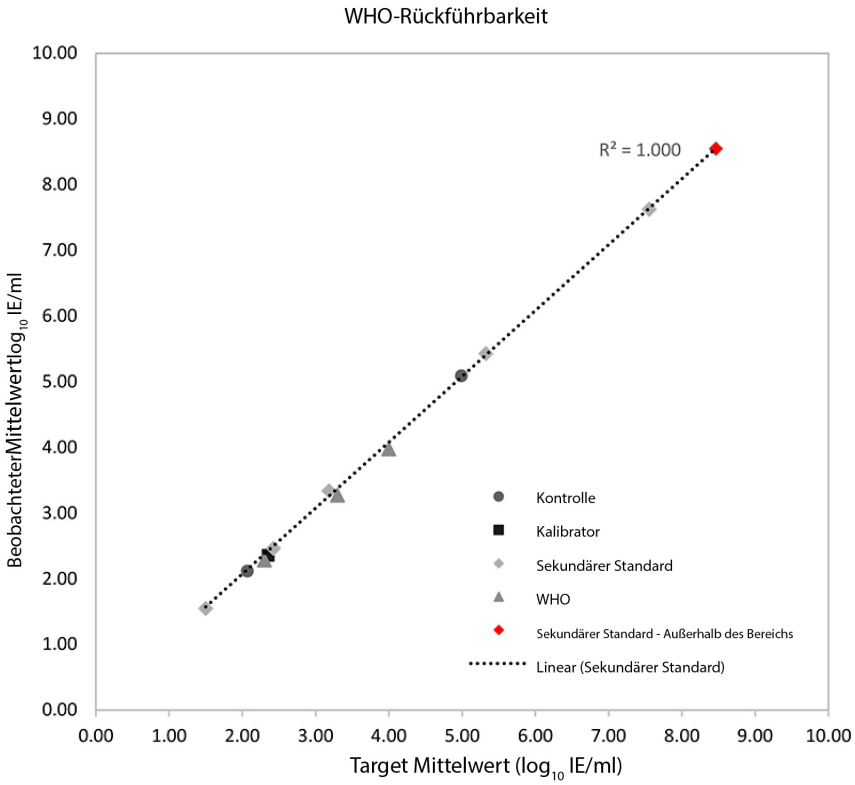


Abbildung 9. Rückführbarkeit zwischen den Target-Konzentrationen des 2. HCV-WHO-Standards und der beobachteten Konzentration vom Aptima HCV Quant Dx Assay

Präzision

Das Aptima HCV Quant Dx-Präzisionspanel wurde erstellt, indem HCV-positives klinisches Plasma und HCV 1a-aRNA in HCV-negatives klinisches Plasma verdünnt wurde (die zwei höchsten Panelproben waren aRNA). Sieben positive Panelproben umfassten den Bereich des Assays (1,86 log_{10} IE/ml bis 7,68 log_{10} IE/ml) und wurden von einem Anwender in drei Replikaten pro Durchlauf unter Verwendung einer Nullserie von Reagenzien auf einem Panther System über 21 Testtage mit zwei Durchläufen pro Tag getestet.

Tabelle 10 zeigt die Präzision der Assay-Ergebnisse (in log_{10} IE/ml) zwischen Durchläufen, innerhalb von Durchläufen und gesamt. Die Gesamtvariabilität betrug ≤ 0,14 bei allen Panelproben, hauptsächlich aufgrund der Variabilität innerhalb der Durchläufe (d. h. Zufallsfehlern).

Tabelle 10: Präzision des Aptima HCV Quant Dx Assays

N	Mittlere Konzentration (IE/ml)	Mittlere Konzentration (log_{10} IE/ml)	Zwischen Tagen SD	Zwischen Läufen SD	Innerhalb eines Laufs SD	Gesamt SD
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	1.950	3,29	0,00	0,07	0,05	0,08
126	8.128	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

SD=Standardabweichung

[a] Anzahl gültiger Ergebnisse innerhalb des linearen Bereichs des Assays.

Hinweis: Die Variabilität von einigen Faktoren kann numerisch negativ sein. Das kann auftreten, wenn die durch diese Faktoren bedingte Variabilität sehr klein ist. In diesem Fall wird SD als 0,00 angezeigt.

Substanzen mit möglicher beeinträchtigender Wirkung

Es wurde die Anfälligkeit des Aptima HCV Quant Dx Assays gegenüber Interferenzen durch erhöhte Konzentrationen endogener Stoffe und von Wirkstoffen, die HCV-Infizierten häufig verordnet werden, evaluiert. Es wurden HCV-negative Plasmaproben und Proben verwendet, die bis zu einer Konzentration von etwa 15 IE/ml (1,2 log_{10} IE/ml) oder 1995 IE/ml (3,3 log_{10} IE/ml) von HCV-RNA mit HCV versetzt worden waren.

Bei Vorhandensein von Albumin (90 mg/ml), Hämoglobin (5 mg/ml), Triglyzeriden (30 mg/ml) oder unkonjugiertem Bilirubin (0,2 mg/ml) wurde keine Interferenz der Assay-Leistung festgestellt.

Klinische Plasmaproben von Patienten mit erhöhten Konzentrationen definierter Stoffe oder von Patienten mit den in Tabelle 11 gelisteten Krankheiten wurden mit dem Aptima HCV Quant Dx Assay getestet. Dabei wurden zehn Proben für jeden Stoff verwendet. Es wurde keine Interferenz der Assay-Leistung festgestellt.

Tabelle 11: Getestete Typen klinischer Patientenproben

	Typen klinischer Patientenproben
1	Rheumafaktor (RF)
2	Antinukleäre Antikörper (ANA)
3	Anti-Jo-1-Antikörper (JO-1)
4	Systemischer Lupus erythematodes (SLE)
5	Rheumatoide Arthritis (RA)
6	Multiple Sklerose (MS)
7	Hyperglobulinämie
8	Erhöhte Alaninaminotransferase (ALT)
9	Aspartat-Aminotransferase (AST) erhöht
10	Alkoholbedingte Zirrhose (AC)
11	Multiples Myelom (MM)
12	Lipämisch (erhöhte Lipide)
13	Ikterisch (erhöhtes Bilirubin)
14	Hämolysiert (erhöhtes Hämoglobin)
15	Erhöhtes Proteinalbumin
16	HBV-Antikörper
17	HIV-1-Antikörper
18	HIV-2-Antikörper

Bei Vorhandensein der in Tabelle 12 gelisteten exogenen Stoffe in Konzentrationen, die mindestens dem Dreifachen von C_{max} (Humanplasma) entsprechen, wurde keine Interferenz der Assay-Leistung festgestellt.

Tabelle 12: Exogene Stoffe

Exogener Stoff-Pool	Getestete exogene Stoffe
1	Telaprevir, Clarithromycin, Interferon alpha-2a, Dolutegravir, Azithromycin
2	Simeprevir, Sofosbuvir
3	Efavirenz, Boceprevir, pegyliertes Interferon alpha-2b, Emtricitabin, Raltegravir, Amoxicillin
4	Abacavirsulfat, Ribavirin, Dasabuvir, Rilpivirin, Rifampin/Rifampicin
5	Lopinavir, Tenofovir, Lamivudin, Valganciclovir
6	Heparin, EDTA, Natriumcitrat

Leistung mit HCV-negativen Patientenproben

Die Spezifität wurde mithilfe von 198 frischen und 538 gefrorenen HCV-negativen klinischen Proben bestimmt. Insgesamt wurden 370 Plasma- und 366 Serumproben unter Verwendung zugelassener Assays als HCV-negativ bestätigt. Die Spezifität wurde als Prozentsatz der HCV-negativen Proben mit einem Ergebnis „nicht nachgewiesen“ berechnet. HCV-RNA wurde in keiner der 736 Proben nachgewiesen. Die Spezifität lag bei 100 % (736/736, 95 % KI: 99,6 -100 %).

Tabelle 13: Leistung in klinischen, HCV-negativen Plasma- und Serumproben

	Frisches Plasma	Gefrorenes Plasma	Plasma Gesamt	Frisch Serum	Gefrorenes Serum	Serum Gesamt	Kombiniert
Gültige Replikate (n)	100	270	370	98	268	366	736
Nicht nachgewiesen	100	270	370	98	268	366	736
Spezifität (95 %-KI)	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)

KI=Konfidenzintervall

Analytische Spezifität

Die potenzielle Kreuzreaktivität auf die in Tabelle 14 gelisteten Pathogene wurde in HCV-negativem Humanplasma bei Vorhandensein oder Abwesenheit von HCV mit etwa 15 IE/ml (1,2 $\log_{10}$ IE/ml) oder 1995 IE/ml (3,3 $\log_{10}$ IE/ml) beurteilt. Es wurde keine Kreuzreaktivität festgestellt. Bei Vorhandensein der Erreger wurde keine Interferenz festgestellt.

Tabelle 14: Zur Ermittlung der Analysespezifität getestete Erreger

Erreger	Konzentration	
Hepatitis-A-Virus	100.000	Kopien/ml
Hepatitis-B-Virus (HBV)	100.000	IE/ml[a]
Hepatitis-G-Virus	1.470	Genom/ml
HIV-1	100.000	Kopien/ml
HIV-2	100.000	PBE/ml[b]
Herpes-simplex-Virus Typ 1 (HSV-1)	100.000	PBE/ml
Herpes-simplex-Virus Typ 2 (HSV-2)	100.000	PBE/ml
Humanes Herpesvirus 6B	100.000	Kopien/ml
Humanes Herpesvirus 8	2.667	TCID50 E/ml[c]
Humanes T-lymphotropes Virus Typ 1 (HTLV-1)	100.000	vp/ml[d]
Humanes T-lymphotropes Virus Typ 2 (HTLV-2)	100.000	vp/ml
Parvovirus B19	100.000	IE/ml
West-Nil-Virus	100.000	PBE/ml
Dengue-Virus 1	100.000	PBE/ml
Dengue-Virus 2	100.000	PBE/ml
Dengue-Virus 3	100.000	PBE/ml
Dengue-Virus 4	100.000	PBE/ml
Cytomegalievirus	100.000	PBE/ml
Epstein-Barr-Virus	100.000	Kopien/ml
Rötelnvirus	100.000	PBE/ml
Humanes Papillomvirus	100.000	Zellen/ml
Adenovirus Typ 5	100.000	TCID50 E/ml
Influenza A-Virus	100.000	TCID50 E/ml
Japanische-Enzephalitis-Virus	N. z.	N. z.
St. Louis-Enzephalitis-Virus	N. z.	N. z.
Murray-Valley-Enzephalitis-Virus	2.643	LD50/ml[e]
Gelbfiebervirus	100.000	Zellen/ml

Erreger	Konzentration	
Corynebacterium diphtheriae	1.000.000	KBE/ml[f]
Streptococcus pneumoniae	1.000.000	KBE/ml
Staphylococcus aureus	1.000.000	KBE/ml
Propionibacterium acnes	1.000.000	KBE/ml
Staphylococcus epidermidis	1.000.000	KBE/ml
Candida albicans	1.000.000	KBE/ml
Neisseria gonorrhoeae	1.000.000	KBE/ml
Chlamydia trachomatis	1.000.000	IFU/ml[g]
Trichomonas vaginalis	1.000.000	Zellen/ml

[a]IE/ml = Internationale Einheiten pro ml
[b]PBE/ml = Plaque-bildende Einheiten pro ml
[c]TCID50 E/ml = Gewebekultur-Infektionsdosiseinheiten pro ml
[d]vp/ml = Viruspartikel pro ml
[e]LD50/ml = Lethale Dosis pro ml
[f]KBE/ml = Kolonie-bildende Einheiten pro ml
[g]IFU/ml = Einschlusskörper-bildende Einheiten pro ml

Klinische Proben mit anderen Viren als HCV

Die in Tabelle 15 aufgeführten Erreger wurden anhand von natürlich infizierten klinischen Proben bewertet. Diese wurden bei Vorhandensein oder Abwesenheit von HCV-Virus mit etwa 15 IE/ml (1,2 log_{10}IE/ml) oder 1995 IE/ml (3,3 log_{10} IE/ml) beurteilt. Es wurde keine Kreuzreaktivität festgestellt. Es wurde keine Interferenz festgestellt.

Tabelle 15: Auf analytische Spezifität getestete klinische Proben

Mikroorganismus	Matrix	N (Spender)
HBV	Serum	5
HBV	Plasma	5
Dengue-Virus	Plasma	10
Hepatitis-A-Virus	Plasma	10
HTLV-1	Plasma	10
HTLV-2	Plasma	10
HIV-1	Plasma	10
West-Nil-Virus	Plasma	10

Matrix-Äquivalenz

E wurden 176 Proben-Sets aus zusammengehörenden Blutentnahmeröhrchen (Serumröhrchen, SST, PPT, ACD, K2 Edetinsäure, K3 Edetinsäure) hinsichtlich der Matrix-Äquivalenz beurteilt. Von diesen Proben-Sets waren 68 Sets natürlich infiziert HCV-positiv und 108 Sets waren HCV-negativ. 26 der 68 positiven Sets wurden mit 13 negativen Proben aus zusammengehörenden Blutentnahmeröhrchen 1:10, 1:100 und 1:1000 oder 1:100, 1:10.000 und 1:100.000 weiter verdünnt, mit Konzentrationen im gesamten dynamischen Bereich des Assays (146 positive Replikate pro Entnahmeröhrchen). Die Korrelation wurde unter Verwendung des Serumentnahmeröhrchens als Komparator gemessen.

Tabelle 16: Studie zur Matrix-Äquivalenz

Blutentnahmeröhrchen	Deming-Regression	95 % KI der Steigung		95% KI des Achsenabschnitts		R^2	Mittelwertdifferenz (log_{10})
		Untere Grenze	Obere Grenze	Untere Grenze	Obere Grenze		
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

Probenverdünnung mit Aptima Probenverdünner (1:3)

Für die Beurteilung der Nachweisgenauigkeit von HCV-RNA in mit dem Aptima Probenverdünner verdünnten Plasma- oder Serumproben wurden Proben von 1,67 log_{10} IE/ml bis 6,34 log_{10} IE/ml, im Verhältnis 1:3 mit Aptima Probenverdünner verdünnt (240 µl der Probe in Kombination mit 480 µl Aptima Probenverdünner). Jede Probe wurde unverdünnt und verdünnt (1:3) in dreifacher Ausführung getestet. Die Tests wurden unter Verwendung von einer Charge Assayreagenzien auf einem Panther System mit zwei Chargen des Aptima Probenverdünners durchgeführt. Der Unterschied zwischen den unverdünnten und verdünnten Testergebnissen wurde für jede Probe berechnet, wie in Tabelle 17 für Plasma und Tabelle 18 für Serum dargestellt.

Tabelle 17: Verdünnung der Plasmaproben im Verhältnis 1:3 – Zusammenfassung des Matrix-Vergleichs von log_{10} IE/ml

Plasma-Matrix Mittlere angegebene Konzentration (log_{10} IE/ml) n = 3	Verdünner Mittlere angegebene Konzentration (log_{10} IE/ml) n = 6	Differenz Verdünner aus Plasma-Matrix (log_{10} IE/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]Ergebnis aus zwei Replikaten. Ein Ergebnis „Nachgewiesen“, aber nicht quantifiziert.
[b]Ergebnis aus vier Replikaten. Zwei Ergebnisse „Nachgewiesen“, aber nicht quantifiziert.

Tabelle 18: Verdünnung der Serumproben im Verhältnis 1:3 – Zusammenfassung des Matrix-Vergleichs von log_{10} IE/ml

Serum-Matrix Mittlere angegebene Konzentration (log_{10} IE/ml) n = 3	Verdünner Mittlere angegebene Konzentration (log_{10} IE/ml) n = 6	Differenz Verdünner aus Serum-Matrix (log_{10} IE/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]Ergebnis aus zwei Replikaten. Ein Ergebnis „Nachgewiesen“, aber nicht quantifiziert.

Probenverdünnung mit Aptima Probenverdünner (1:100)

Für die Beurteilung der Nachweisgenauigkeit von HCV-RNA in mit dem Aptima Probenverdünner verdünnten Plasma- oder Serumproben wurden fünf natürlich infizierte Plasmaproben und fünf natürlich infizierte Serumproben zusammen mit jeweils 10 HCV-negativen Plasma- und -Serumproben, versetzt mit HCV-aRNA, die auf Werte oberhalb der ULoQ, 8 log_{10} IE/ml bei 8,30 log_{10} IE/ml abzielt, dreifach getestet. Direkt vor dem Test wurde eine Verdünnung im Verhältnis 1:100 mit einem Probenteil und 99 Aptima Probenverdünnerteilen durchgeführt. Die Tests wurden unter Verwendung von einer Charge Assayreagenzien auf einem Panther System mit zwei Chargen des Aptima Probenverdünners durchgeführt. Der Unterschied zwischen den unverdünnten und verdünnten Testergebnissen wurde für jede Probe berechnet, wie in Tabelle 19 für Plasma und Tabelle 20 für Serum dargestellt.

Tabelle 19: Verdünnung der Plasmaproben im Verhältnis 1:100 – Zusammenfassung des Matrix-Vergleichs von log_{10} IE/ml

Matrix	Verdünnung	Plasma-Matrix Mittlere angegebene Konzentration (log_{10} IE/ml) n = 3	Verdünner Mittlere angegebene Konzentration (log_{10} IE/ml) n = 6	Differenz
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]Versetzte Patientenprobe

Tabelle 20: Verdünnung der Serumproben im Verhältnis 1:100 – Zusammenfassung des Matrix-Vergleichs von log_{10} IE/ml

Matrix	Verdünnung	Serum-Matrix Mittlere angegebene Konzentration (log_{10} IE/ml) n = 3	Verdünner Mittlere angegebene Konzentration (log_{10} IE/ml) n = 6	Differenz
Serum	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]Versetzte Patientenprobe
[b]Ergebnis von zwei aus drei getesteten Replikaten. Ein abweichendes Replikat entfernt.

Bestätigung der LLoQ in mit Probenverdünner verdünnten klinischen Proben

Die LLoQ des Aptima HCV Quant Assays wurde anhand klinischer Proben des HCV-Genotyps 1 bestätigt, die mit Aptima Probenverdünner verdünnt waren. Die Proben wurden in HCV-negativem Humanplasma und Serum bei 21, 30 und 45 IE/ml vorbereitet. Jedes Panel wurde direkt vor dem Test im Verhältnis 1:3 mit Aptima Probenverdünner verdünnt, um Endkonzentrationen von ungefähr 7, 10 und 15 IE/ml zu erhalten. Insgesamt wurden an drei Tagen 36 Replikate jeder Panelprobe mit einer Reagenzcharge getestet. Es wurde eine LLoQ von ≤ 10 IE/ml für mit Aptima Probenverdünner verdünntem HCV-Plasma und -Serum bestätigt, wie in Tabelle 21 dargestellt.

Tabelle 21: Bestätigung der LLoQ – Klinische Proben in Aptima Probenverdünner

Matrix	Target-Konzentration (IE/ml)	Target-Konzentration (log_{10} IE/ml)	% Nachgewiesen	Aptima HCV Quant Dx (IE/ml)	Aptima HCV Quant Dx (log_{10} IE/ml)	SD (log_{10} IE/ml)	Abweichung (log_{10} IE/ml)	Berechneter TE (log_{10} IE/ml)	Berechneter TAE (log_{10} IE/ml)
Plasma	7	0,85	100 %	9	0,94	0,25	0,10	0,71	0,60
Serum	7	0,85	100 %	9	0,96	0,21	0,12	0,60	0,54

Präzision verdünnter Proben

Das Aptima HCV Quant Dx-Präzisionspanel wurde erstellt, indem HCV-positives klinisches Plasma und HCV-aRNA in HCV-negatives klinisches Plasma verdünnt wurde. Diese wurden in Aptima Probenverdünner weiter verdünnt. Positive Proben wurden mit Aptima Probenverdünner verdünnt. Diese wurden von einem Anwender in drei Replikaten pro Durchlauf unter Verwendung einer Nullserie von Reagenzien auf einem Panther System über 21 Testtage mit zwei Durchläufen pro Tag getestet.

Tabelle 22 zeigt die Präzision der Assay-Ergebnisse (in $\log_{10}$ IE/ml) zwischen Durchläufen, innerhalb von Durchläufen, zwischen Tagen und gesamt. Die Gesamtvariabilität betrug ≤0,15 bei allen Panelproben, hauptsächlich aufgrund der Variabilität innerhalb der Durchläufe (d. h. Zufallsfehlern).

Tabelle 22: Präzision der mit Aptima Probenverdünner verdünnten Panels

Verdünnung	N	Mittlere Konzentration ($\log_{10}$ IE/ml)	Standardabweichung			
			Zwischen Tagen	Zwischen Läufen	Innerhalb eines Laufs	Gesamt
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]Anzahl gültiger Ergebnisse innerhalb des linearen Bereichs des Assays

Hinweis: *Die Variabilität von einigen Faktoren kann numerisch negativ sein. Das kann auftreten, wenn die durch diese Faktoren bedingte Variabilität sehr klein ist. In diesem Fall gilt SD und VK gleich 0.*

Verschleppung

Um festzustellen, ob das Panther System das Risiko falsch-positiver Ergebnisse infolge einer verschleppungsbedingten Kontamination minimiert, wurde eine Studie durchgeführt, bei der versetzte Panels auf drei Panther Systemen getestet wurden. Die Beurteilung der Verschleppung erfolgte anhand von hochtitrigen, mit aRNA versetzten Proben (7 $\log_{10}$ IE/ml), die im Schachbrettmuster zwischen HCV-negativen Proben verteilt waren. Zur Testung wurden fünfzehn Läufe durchgeführt. Die Gesamtverschleppungsrate betrug 0,14 % (1/704)

Serokonversionspanel

Es wurden 11 HCV-Serokonversionspanelsets aus insgesamt 72 Proben getestet. Die Ergebnisse des Aptima HCV Quant Dx Assays wurden mit den HCV-Antikörper-Testergebnissen verglichen. Die Anzahl der Tage bis zum ersten reaktiven Ergebnis ist in Tabelle 23 gelistet. Der Aptima HCV Quant Dx Assay wies HCV durchschnittlich 20 Tage vor jedem anderen Antikörpertest nach.

Tabelle 23: Zusammenfassung der Daten mit dem Serokonversionspanel

Panel-ID	Anzahl der getesteten Panelproben	Anzahl der reaktiven Panelproben			Tage bis zum ersten reaktiven Ergebnis			Differenz bzgl. der Tage bis zum ersten reaktiven Ergebnis (ausgehend vom Datum der Blutentnahme)	
		Aptima HCV Quant Dx	HCV-Antikörper-Test1	HCV-Antikörper-Test2	Aptima HCV Quant Dx	HCV-Antikörper-Test1	HCV-Antikörper-Test2	Tage früher als mit dem HCV-Antikörper-Test1	Tage früher als mit dem HCV-Antikörper-Test2
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
Gesamt	72	66	35	32			Mittelwert	19,36	20,73
							Median	14	18

Test1 auf HCV-Antikörper wurde mit dem Abbott Prism HCV Assay durchgeführt.

Test2 auf HCV-Antikörper wurden mit dem Ortho Enhanced SAVE-Assay durchgeführt, mit folgenden Ausnahmen:

Die Panels 6227 und 6229 wurden mit dem Assay Ortho ELISA Anti-HCV 3.0 getestet.

[a] Die erste Blutprobe wurde aufgrund einer Nichtverfügbarkeit der Probe vom Anbieter nicht getestet.

[b] Alle Blutproben in diesem Panel waren im HCV-Antikörper-Test nicht-reaktiv. Als Basis für die „Tage bis zum ersten reaktiven Ergebnis“ wurde der letzte Blutentnahmetag verwendet.

[a] Die zweite Blutprobe wurde aufgrund einer Nichtverfügbarkeit der Probe vom Anbieter nicht getestet

Reproduzierbarkeitsstudie

Die Reproduzierbarkeit wurde an drei externen Standorten in den USA auf dem Panther System beurteilt. Zwei Anwender führten den Test an jedem Standort durch. Jeder Anwender führte drei Tage lang zwei Durchläufe pro Tag unter Verwendung von drei Reagenzchargen im Testverlauf durch. Für jeden Lauf gab es 3 Replikate jeder Panelprobe. Insgesamt wurden 108 Replikate jeder Panelprobe getestet.

Die Reproduzierbarkeit wurde unter Verwendung von Panelproben getestet, die mit HCV-negativem Plasma vorbereitet wurden. Die positiven Panelproben waren positiv für HCV Genotyp 1, Genotyp 2 oder Genotyp 3. Die HCV-RNA-Konzentrationen erstreckten sich über den linearen Bereich des Assays.

Tabelle 24 zeigt die Reproduzierbarkeit und Präzision von Assay-Ergebnissen für jede positive Panelprobe zwischen Standorten, zwischen Anwendern, zwischen Chargen, zwischen Tagen, zwischen Durchläufen und insgesamt, und den Anteil von Replikaten mit Ergebnissen außerhalb des meldepflichtigen Bereichs des Aptima HCV Quant Dx Assays.

Der Variationskoeffizient wurde mithilfe der folgenden Gleichung berechnet, bei der σ^2 die Probenvarianz der Daten nach der $\log_{10}$-Transformation ist.

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

Für die HCV-negative Panelprobe wurden 108 Replikate getestet und in allen 108 Replikaten wurde keine HCV-RNA nachgewiesen (Negative Übereinstimmung = 100 %, 95 % KI: 96,6 % bis 100 %). Die Übereinstimmungswerte lagen für alle HCV-positiven Panelproben bei 100 %.

Tabelle 24: Reproduzierbarkeit der HCV-RNA-Werte des Aptima HCV Quant Dx Assay in positiven Panelproben auf dem Panther System

GT	N	Beobachteter Mittelwert IE/ml	Beobachteter Mittelwert Log_{10} IE/ml	Zwischen Standorten SD (%CV)	Zwischen Chargen SD (%CV)	Zwischen Anwendern/Tagen[a] SD (%CV)	Zwischen Läufen SD (%CV)	Innerhalb eines Laufes SD (%CV)	Gesamt SD (%CV)	Unter LLoQ n (%)	Über 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	Beobachteter Mittelwert IE/ml	Beobachteter Mittelwert Log_{10} IE/ml	Zwischen Standorten SD (%CV)	Zwischen Chargen SD (%CV)	Zwischen Anwendern/Tagen[a] SD (%CV)	Zwischen Läufen SD (%CV)	Innerhalb eines Laufes SD (%CV)	Gesamt SD (%CV)	Unter LLoQ n (%)	Über 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)

%VK=log-normaler Variationskoeffizient, GT=Genotyp, SD = Standardabweichung (log_{10} IE/ml)

Hinweis: Die Variabilität von einigen Faktoren kann möglicherweise zahlenmäßig negativ sein. Dies kann auftreten, wenn die Variabilität aufgrund solcher Faktoren sehr gering ist. In diesen Fällen gelten SD und VK gleich 0.

[a] „Zwischen Anwendern" kann mit „Zwischen Tagen" verwechselt werden; daher sind die Schätzwerte für „Zwischen Anwendern" und „Zwischen Tagen" unter „Zwischen Anwendern/Tagen" kombiniert.

Klinische Leistungsdaten

Methodenkorrelation

Die Leistungsdaten des Aptima HCV Quant Dx Assays wurden mit denen eines Vergleichsassays mit CE-Kennzeichnung verglichen, indem unverdünnte klinische Proben von HCV-infizierten Patienten auf drei Panther Systemen mit vier Reagenzchargen getestet wurden. Insgesamt wurden für die lineare Regression 1058 Plasma- und Serumproben (872 Plasmaproben, 186 Serumproben) bei allen HCV-Genotypen im linearen, für beide Assays üblichen Bereich verwendet, wie in Abbildung 10 gezeigt.

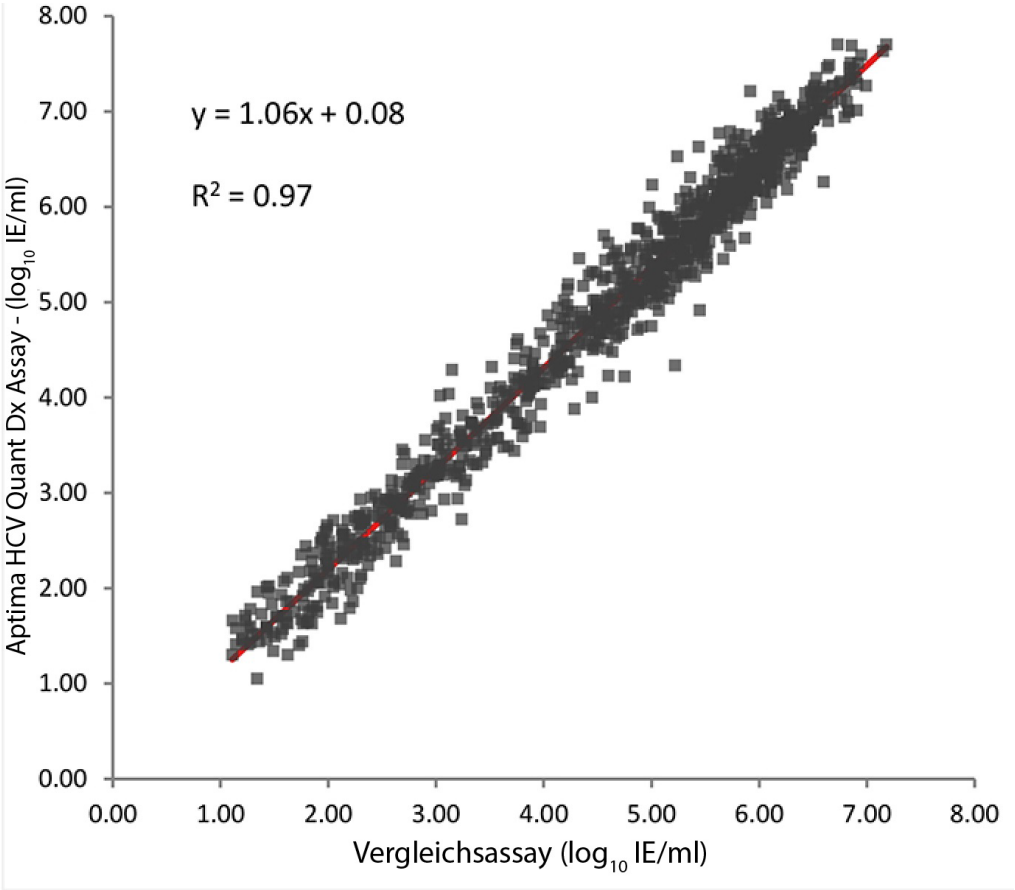


Abbildung 10. Korrelation zwischen dem Aptima HCV Quant Dx Assay und einem Vergleichsassay

Studie zum klinischen Nutzen

Die Studie wurde entworfen, um den klinischen Nutzen nachzuweisen, indem die Leistungsmerkmale für das Erzielen eines anhaltenden virologischen Ansprechens (Sustained Virological Response, SVR) oder nicht-anhaltenden virologischen Ansprechens (Nonsustained Virological Response, NSVR) zu festgelegten, klinisch relevanten Zeitpunkten während der 8-, 12- oder 24-wöchigen antiviralen Behandlung geschätzt wurden. Die Studie beurteile außerdem die Auswirkung von Kovariaten (d. h. Alter, Geschlecht, ethnische Herkunft, HCV-RNA-Wert bei Baseline, Vorliegen oder Abwesenheit einer Zirrhose) auf das SVR.

Patientenproben wurden prospektiv von Probanden des Genotyps 1, 2 und 3 mit chronischer HCV-Infektion entnommen, die mit einer Therapie mit 8-, 12- oder 24-wöchigen, auf Sofosbuvir basierenden Behandlungen mittels von der FDA zugelassenen Arzneimitteln begannen, die in Übereinstimmung mit von der FDA zugelassenen Etikettierungen und/oder HCV-Behandlungsleitlinien der AASLD/IDSA verschrieben wurden.[20,21] Probanden mit oder ohne HCV-Behandlung und Probanden ohne Zirrhose oder mit kompensierter Zirrhose waren geeignet, wie für jedes Behandlungsschema anwendbar.

Die Ermittlung der HCV-RNA-Viruslast wurde bei Baseline, in Woche 1, Woche 2, Woche 4, Woche 8, Woche 12 und Woche 24 mit dem Aptima HCV Quant Dx Assay durchgeführt. Die Ergebnisse der Nachbeobachtung am Ende der Behandlung (EOT) und 4 Wochen sowie 12 Wochen nach der Behandlung wurden mit dem Aptima HCV Quant Dx Assay und zwei zugelassenen quantitativen HCV-RNA-Assays ermittelt. Das SVR wurde definiert als ein HCV-RNA-Wert < LLoQ, wie durch einen zugelassenen quantitativen Assay für die Probe in Woche 12 nach der Behandlung festgelegt

Von den 352 Probanden, die an 35 Prüfzentren in den USA aufgenommen wurden, hatten 274 Probanden einen schlüssigen SVR-Status und waren geeignet für die Auswertung. 56 Probanden hatten einen nicht auswertbaren SVR-Status und wurden nicht in die Auswertung eingeschlossen. 22 weitere Probanden hatten einen schlüssigen SVR-Status, aber waren nicht geeignet für die Auswertung, da Ergebnisse vor der Behandlung/bei Baseline fehlten, alle Ergebnisse während der Behandlung <LLoQ waren oder nicht nachgewiesen wurden, oder weil Genotypen nicht mit einem zugelassenen Assay bestimmt wurden. In dieser Studie erzielten 90,5 % (248/274) der Probanden ein SVR und 9,5 % (26/274) erzielten ein NSVR (siehe Tabelle 31 bis Tabelle 33 für die Anzahl nach Genotyp und DRA). Die höchste Viruslast bei Baseline lag bei 7,58 $\log_{10}$ IE/ml, wie mit dem Aptima HCV Quant Dx Assay bestimmt. Alle beurteilbaren Probanden schlossen die Behandlung ohne Fehler während der Behandlung (z. B. kein Ansprechen) ab. Insgesamt wurden 2449 Proben, die jedem Probanden zu verschiedenen Zeitpunkten entnommen wurden, an drei Prüfzentren in den USA getestet.

Tabelle 25 zeigt die Demografie und die klinischen Merkmale der 274 beurteilbaren Probanden.

Tabelle 25: Demografie und klinische Merkmale

Merkmale		
Gesamt	N	274
Geschlecht	Weiblich, n (%)	112 (40,9)
	Männlich, n (%)	162 (59,1)
Alter (Jahre)	n	274
	Mittelwert	55,1
	Median	56,0
	SD	10,40
	Minimum	23
	Maximum	83
	21 - 49, n (%)	61 (22,3)
	50 - 70, n (%)	203 (74,1)
	>70, n (%)	10 (3,6)
Ethnie	n	274
	Hispanisch oder lateinamerikanisch, n (%)	65 (23,7)
	Nicht hispanisch oder lateinamerikanisch, n (%)	202 (73,7)
	Unbekannt, n (%)	6 (2,2)
	Verweigert, n (%)	1 (0,4)
Ethnische Herkunft[a]	n	274
	Weiß, n (%)	223 (81,4)
	Schwarz oder afroamerikanisch, n (%)	43 (15,7)
	Asiatisch, n (%)	1 (0,4)
	Amerikanische Ureinwohner/Indigene Völker Alaskas, n (%)	3 (1,1)
	Hawaiianische Ureinwohner/Pazifische Insulaner, n (%)	0 (0,0)
	Sonstiges, n (%)	3 (1,1)
	Unbekannt, n (%)	1 (0,4)
	Verweigert, n (%)	0 (0,0)
Genotyp	n	274
	Genotyp 1, n (%)	158 (57,7)
	Genotyp 2, n (%)	66 (24,1)
	Genotyp 3, n (%)	50 (18,2)
HCV-Behandlungsstatus	n	274
	Unbehandelt, n (%)	232 (84,7)
	Behandelt, n (%)	42 (15,3)
	Rückfall, n (%)	32 (76,2)
	Null-Responder, n (%)	1 (2,4)
	Non-Responder, n (%)	2 (4,8)
	Partial-Responder, n (%)	3 (7,1)
	Durchbruch, n (%)	1 (2,4)
	Erholung, n (%)	0 (0,0)
	Ansprechen auf die Behandlung unbekannt, n (%)	3 (7,1)
	Fehlt, n (%)	0 (0,0)
Zirrhotischer Zustand	n	274
	Zirrhotischer, n (%)	98 (35,8)
	Nicht zirrhotisch, n (%)	176 (64,2)

[a] Probanden können mehrere ethnische Herkünfte angeben

Tabelle 26 zeigt die endgültigen Zuweisungen der Medikamentenschemata für die 274 beurteilbaren Probanden.

Tabelle 26: Zusammenfassung der endgültigen Zuweisungen der Medikamentenschemata der Probanden nach Genotyp

Zuweisung der Medikamentenschemata	HCV-Genotyp n (%)		
	1	**2**	**3**
Sofosbuvir und Peginterferon und Ribavirin für 12 Wochen	25 (15,8)	-	3 (6,0)
Sofosbuvir und Simeprevir und/oder Ribavirin für 12 Wochen	63 (39,9)	-	-
Sofosbuvir und Simeprevir und/oder Ribavirin für 24 Wochen	4 (2,5)	-	-
Sofosbuvir und Ribavirin für 12 Wochen	-	66 (100)	-
Sofosbuvir und Ribavirin für 24 Wochen	6 (3,8)	-	47 (94,0)
Ledipasvir und Sofosbuvir für 8 Wochen	14 (8,9)	-	-
Ledipasvir und Sofosbuvir für 12 Wochen	39 (24,7)	-	-
Ledipasvir und Sofosbuvir für 24 Wochen	7 (4,4)	-	-
Geeignete Probanden insgesamt	158	66	50

In Tabelle 27 wird die Verbindung von Baseline-Kovariaten (Alter, ethnische Herkunft, Geschlecht, HCV-Viruslast bei Baseline [binäre Variable] und zirrhotischer Zustand) und SVR unter Anwendung des Quotenverhältnisses (Odds Ratio, OR) mit univariater (nicht angepasster) logistischer Regressionsanalyse bewertet. Die Ergebnisse für die 274 beurteilbaren Probanden wurden nach HCV-Genotyp bewertet. Für die Genotypen 1 und 2 war das Erzielen eines SVR (OR=0,16 [95%iger Wald-KI: 0,04 bis 0,63], P=0,009 bzw. OR=0,13 [95%iger Wald-KI: 0,02 bis 0,70], P=0,017) bei zirrhotischen Probanden weniger wahrscheinlich als bei nicht zirrhotischen Probanden. Die 95 %-KI-Werte für andere Kovariate für Genotyp 1 und 2 und alle Kovariate für Genotyp 3 umfassten den Wert 1 und waren nicht statistisch signifikant.

Tabelle 27: Bewertung von Baseline-Prädiktoren des SVR bei Baseline

GT	Kategorie	N	Gruppierung	N(%)	Prozent Erzielen SVR	Quotenverhältnis (Wald 95%-KI) Verwendung einer univariaten LR-Analyse	P-Wert
1	Alter	158	≥ 40 Jahre	146 (92,4)	91,8	0 [0 – ∞)	Nicht berechenbar
			< 40 Jahre	12 (7,6)	100		
	Geschlecht	158	Männlich	92 (58,2)	90,2	0,44 (0,11 - 1,69)	0,231
			Weiblich	66 (41,8)	95,5		
	Ethnische Herkunft	158	Weiß	116 (73,4)	94,0	2,10 (0,63 - 7,03)	0,227
			Nicht weiß	42 (26,6)	88,1		
	HCV-RNA-Viruslast bei Baseline[a]	156	> 740.000 IE/ml	111 (71,2)	92,8	1,26 (0,36 - 4,40)	0,721
			≤ 740.000 IE/ml	45 (28,8)	91,1		
	Zirrhotischer Zustand	158	Zirrhotisch	57 (36,1)	84,2	0,16 (0,04 - 0,63)	0,009
			Nicht zirrhotisch	101 (63,9)	97,0		
2	Alter	66	≥ 40 Jahre	60 (90,9)	88,3	1,51 (0,15 - 14,91)	0,722
			< 40 Jahre	6 (9,1)	83,3		
	Geschlecht	66	Männlich	36 (54,5)	86,1	0,69 (0,15 - 3,15)	0,631
			Weiblich	30 (45,5)	90,0		
	Ethnische Herkunft	66	Weiß	61 (92,4)	86,9	0 [0 – ∞)	Nicht berechenbar
			Nicht weiß	5 (7,6)	100		
	HCV-RNA-Viruslast bei Baseline	66	> 740.000 IE/ml	44 (66,7)	84,1	0,25 (0,03 - 2,19)	0,211
			≤ 740.000 IE/ml	22 (33,3)	95,5		
	Zirrhotischer Zustand	66	Zirrhotisch	22 (33,3)	72,7	0,13 (0,02 - 0,70)	0,017
			Nicht zirrhotisch	44 (66,7)	95,5		
3	Alter	50	≥ 40 Jahre	44 (88,0)	86,4	0 [0 – ∞)	NC
			< 40 Jahre	6 (12,0)	100		
	Geschlecht	50	Männlich	34 (68,0)	85,3	0,39 (0,04 - 3,62)	0,405
			Weiblich	16 (32,0)	93,8		
	Ethnische Herkunft	50	Weiß	46 (92,0)	87,0	0 [0 – ∞)	Nicht berechenbar
			Nicht weiß	4 (8,0)	100		
	HCV-RNA-Viruslast bei Baseline[a]	49	> 740.000 IE/ml	30 (61,2)	83,3	0,28 (0,03 - 2,59)	0,261
			≤ 740.000 IE/ml	19 (38,8)	94,7		
	Zirrhotischer Zustand	50	Zirrhotisch	19 (38,0)	78,9	0,26 (0,04 - 1,58)	0,143
			Nicht zirrhotisch	31 (62,0)	93,5		

KI=Konfidenzintervall, GT=Genotyp, LR=Logistische Regression

[a]Die HCV-RNA-Viruslastkovariate bei Baseline umfasst keine Probanden, die vor Start der Behandlung keine quantitative HCV-RNA-Viruslast bereitgestellt haben.

Ansprechen auf die antivirale Therapie

Die Leistungsmerkmale des Assays wurden für Personen etabliert, die mit bestimmten DAA-Schemata behandelt wurden. Es sind keine Informationen zum prädiktiven Wert des Assays verfügbar, wenn andere DAA-Kombinationstherapien angewendet werden.

Definitionen:

Woche 1 Viruslast (VL) = HCV-RNA < LLoQ = 10 IE/ml in Woche 1 der antiviralen Therapie

Woche 2 VL = HCV-RNA < LLoQ = 10 IE/ml in Woche 2 der antiviralen Therapie

Woche 4 VL = HCV-RNA < LLoQ = 10 IE/ml in Woche 4 der antiviralen Therapie

Woche 8 VL = HCV-RNA < LLoQ = 10 IE/ml in Woche 8 der antiviralen Therapie

Woche 8 VL (EOT): HCV-RNA < LLoQ in Woche 8 der antiviralen Therapie

Woche 12 VL = HCV-RNA < LLoQ = 10 IE/ml in Woche 12 der antiviralen Therapie

Woche 12 VL (EOT): HCV-RNA < LLoQ in Woche 12 der antiviralen Therapie

Woche 24 VL (EOT): HCV-RNA < LLoQ in Woche 24 der antiviralen Therapie

Anhaltendes virologisches Ansprechen (SVR)12: HCV RNA < LLoQ in Woche 12 nach Abschluss der antiviralen Therapie, gemessen mit einem unabhängigen HCV-RNA-Test.

Tabelle 28 und Tabelle 29 zeigen die Häufigkeit eines SVR bzw. eines fehlenden Ansprechens nach Genotyp und Medikamentenschema insgesamt, und für zirrhotische, nicht zirrhotische, unbehandelte und behandelte Probanden. Bei allen Genotypen erzielten die meisten Probanden ein SVR: 92,4 % Genotyp 1, 87,9 % Genotyp 2 und 88,0 % Genotyp 3. Die SVR-Raten waren allgemein bei allen Genotypen bei nicht zirrhotischen Probanden höher als bei zirrhotischen Probanden. Ähnlich verhielt es sich zwischen unbehandelten und behandelten Probanden.

Tabelle 28: Häufigkeit des SVR nach Genotyp und Medikamentenschema

GT	DRA	Probanden mit SVR n (%)				
		Gesamt	Zirrhotisch	Nicht zirrhotisch	Behandlung-unbehandelt	Behandlung-behandelt
1	Ledipasvir und Sofosbuvir für 8 Wochen	13/14 (92,9)	n. z.	13/14 (92,9)	13/14 (92,9)	n. z.
	Ledipasvir und Sofosbuvir für 12 Wochen	39/39 (100)	9/9 (100)	30/30 (100)	34/34 (100)	5/5 (100)
	Ledipasvir und Sofosbuvir für 24 Wochen	6/7 (85,7)	6/7 (85,7)	n. z.	n. z.	6/7 (85,7)
	Sofosbuvir und Peginterferon und Ribavirin für 12 Wochen	24/25 96,0)	7/7 (100)	17/18 (94,4)	22/23 (95,7)	2/2 (100)
	Sofosbuvir und Ribavirin für 24 Wochen	6/6 (100)	1/1 (100)	5/5 (100)	5/5 (100)	1/1 (100)
	Sofosbuvir und Simeprevir und/oder Ribavirin für 12 Wochen	54/63 (85,7)	21/29 (72,4)	33/34 (97,1)	45/54 (83,3)	9/9 (100)
	Sofosbuvir und Simeprevir und/oder Ribavirin für 24 Wochen	4/4 (100)	4/4 (100)	n. z.	2/2 (100)	2/2 (100)
2	Sofosbuvir und Ribavirin für 12 Wochen	58/66 (87,9)	16/22 (72,7)	42/44 (95,5)	53/60 (88,3)	5/6 (83,3)
3	Sofosbuvir und Peginterferon und Ribavirin für 12 Wochen	3/3 (100)	3/3 (100)	n. z.	1/1 (100)	2/2 (100)
	Sofosbuvir und Ribavirin für 24 Wochen	41/47 (87,2)	12/16 (75,0)	29/31 (93,5)	35/39 (89,7)	6/8 (75,0)

DRA=Zuweisung der Medikamentenschemata (Drug Regimen Assignment), GT=Genotyp, n. z.=Medikamentenschema ist für diese Patientengruppe nicht zutreffend

Tabelle 29: Häufigkeit des fehlenden SVR nach Genotyp und Medikamentenschema

GT	DRA	Probanden ohne SVR n (%)				
		Gesamt	Zirrhotisch	Nicht zirrhotisch	Behandlung-unbehandelt	Behandlung-behandelt
1	Ledipasvir und Sofosbuvir für 8 Wochen	1/14 (7,1)	n. z.	1/14 (7,1)	1/14 (7,1)	n. z.
	Ledipasvir und Sofosbuvir für 12 Wochen	0/39 (0,0)	0/9 (0,0)	0/30 (0,0)	0/34 (0,0)	0/5 (0,0)
	Ledipasvir und Sofosbuvir für 24 Wochen	1/7 (14,3)	1/7 (14,3)	n. z.	n. z.	1/7 (14,3)
	Sofosbuvir und Peginterferon und Ribavirin für 12 Wochen	1/25 (4,0)	0/7 (0,0)	1/18 (5,6)	1/23 (4,3)	0/2 (0,0)
	Sofosbuvir und Ribavirin für 24 Wochen	0/6 (0,0)	0/1 (0,0)	0/5 (0,0)	0/5 (0,0)	0/1 (0,0)
	Sofosbuvir und Simeprevir und/oder Ribavirin für 12 Wochen	9/63 (14,3)	8/29 (27,6)	1/34 (2,9)	9/54 (16,7)	0/9 (0,0)
	Sofosbuvir und Simeprevir und/oder Ribavirin für 24 Wochen	0/4 (0,0)	0/4 (0,0)	n. z.	0/2 (0,0)	0/2 (0,0)
2	Sofosbuvir und Ribavirin für 12 Wochen	8/66 (12,1)	6/22 (27,3)	2/44 (4,5)	7/60 (11,7)	1/6 (16,7)
3	Sofosbuvir und Peginterferon und Ribavirin für 12 Wochen	0/3 (0,0)	0/3 (0,0)	n. z.	0/1 (0,0)	0/2 (0,0)
	Sofosbuvir und Ribavirin für 24 Wochen	6/47 (12,8)	4/16 (25,0)	2/31 (6,5)	4/39 (10,3)	2/8 (25,0)

DRA=Zuweisung der Medikamentenschemata (Drug Regimen Assignment), GT=Genotyp, n. z.=Medikamentenschema ist für diese Patientengruppe nicht zutreffend

Tabelle 30 zeigt den Prozentsatz an Probanden mit virologischem Ansprechen (definiert als Aptima HCV Quant Dx Assay-Ergebnisse < LLoQ) für jeden Genotyp und die Zuweisung der Medikamentenschemata bei jedem Besuch während der Behandlung und nach der Behandlung. Bei allen Genotypen erzielten die meisten Probanden ein SVR in Woche 4 und bis Woche 8 erreichten alle Probanden ein SVR.

Tabelle 30: Wahrscheinlichkeit des Erzielens eines SVR in den Wochen während der Behandlung und nach der Behandlung

GT	DRA	N	Mit SVR % (n)	Ohne SVR % (n)	Prozentsatz an Probanden mit virologischem Ansprechen bis Besuch[a] n (%)						
					Wochen					EOT	PT04
					1	2	4	8	12		
1	LDV + SOF (8 Wochen)	14	92,9 (13/14)	7,1 (1/14)	42,9 (6/14)	76,9 (10/13)	100 (14/14)	n. z.	n. z.	100 (14/14)	90 (9/10)
	LDV + SOF (12 Wochen)	39	100 (39/39)	0,0 (0/39)	11,1 (4/36)	52,6 % (20/38)	92,1 (35/38)	100 (36/36)	n. z.	100 (39/39)	100 (33/33)
	LDV + SOF (24 Wochen)	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 Wochen)	25	96,0 (24/25)	4,0 (1/25)	40,0 (10/25)	80,0 (20/25)	100 (25/25)	100 (25/25)	n. z.	100 (25/25)	100 (25/25)
	SOF+RBV (24 Wochen)	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 Wochen)	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. z.	96,6 (57/59)	90,0 (54/60)
	SOF+SIM+RBV (24 Wochen)	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 Wochen)	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. z.	98,5 (64/65)	93,5 (58/62)
3	SOF+PEG+RBV (12 Wochen)	3	100 (3/3)	0,0 (0/3)	33,3 (1/3)	100 (2/2)	100 (3/3)	100 (2/2)	n. z.	100 (3/3)	100 (3/3)
	SOF+RBV (24 Wochen)	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= Zuweisung der Medikamentenschemata, EOT= Behandlungsende, n. z.=nicht zutreffend, weil der Besuch dem EOT für eine gegebene Behandlung entspricht oder hinter dem oder Behandlungsfenster liegt, PT04=Woche 4 nach der Behandlung

[a]Das virale Ansprechen während und nach der Behandlung ist definiert als < 10 IE/ml.

Hinweis: Das EOT ist nicht in die Behandlungswoche eingeschlossen.

Von den Probanden mit Genotyp 1 zeigten 95,5 % (150/157) der beurteilten Probanden ein virales Ansprechen bis Woche 4 während der Behandlung. Die 7 Probanden mit Genotyp 1, die bis Woche 4 kein Ansprechen erzielt hatten (3 Probanden wurden mit LDV + SOF [12 Wochen] behandelt, 2 Probanden wurden mit LDV + SOF [24 Wochen] behandelt, 1 Proband wurde je mit SOF + RBV [24 Wochen] oder SOF + SIM ± RBV [12 Wochen] behandelt) erzielten bis Woche 8 ein virales Ansprechen während der Behandlung. Zwei (2) mit SOF + SIM ± RBV (12 Wochen) behandelte Probanden hatten am Ende der Behandlung einen Rückfall, und 6 (1 mit LDF + SOF [8 Wochen] behandelter Proband, 1 mit LDF + SOF [24 Wochen behandelter Proband] und 4 mit SOF + SIM ± RBV [12 Wochen] behandelte Probanden) hatten in Woche 4 nach der Behandlung einen Rückfall.

Von den Probanden mit Genotyp 2 zeigten 95,4 % (62/65) der beurteilten Probanden ein virales Ansprechen bis Woche 4 während der Behandlung. Die drei Probanden mit Genotyp 2, die bis Woche 4 kein Ansprechen erzielt hatten, erzielten das virale Ansprechen während der Behandlung bis Woche 8. Ein (1) mit SOF + RBV (12 Wochen) behandelter Proband hatte bis zum Behandlungsende einen Rückfall und 4 Probanden mit demselben Medikamentenschema hatten einen Rückfall bis Woche 4 nach der Behandlung.

Von den Probanden mit Genotyp 3 zeigten 100 % (49/49) der beurteilten Probanden ein virales Ansprechen bis Woche 4 während der Behandlung. Keine (0) Probanden hatten am Ende der Behandlung einen Rückfall und 5 Probanden, die mit SOF + RBV (24 Wochen) behandelt wurden, hatten in Woche 4 nach der Behandlung einen Rückfall.

Basierend auf den Ergebnissen dieser Studie kann der Aptima HCV Quant Dx Assay als Hilfsmittel in der Behandlung von Patienten mit HCV-Infektion verwendet werden, die sich einer auf Sofosbuvir basierenden antiviralen Therapie unterziehen, und kann zur Bestimmung eines SVR oder fehlenden Ansprechens verwendet werden. Die Ergebnisse des Assays können verwendet werden, um die HCV-RNA-Werte in Humanplasma bei Baseline und während der Behandlung zu messen.

Studie zum diagnostischen Nutzen

Die Sensitivität wurde bei 338 HCV-Antikörper-positiven Probanden aus einer Population mit hohem Risiko beurteilt. Tabelle 31 zeigt die Demografie und klinischen Merkmale der Probanden.

Tabelle 31: Demografie und klinische Merkmale von HCV-Antikörper-positiven Probanden

Merkmale		
Gesamt	*N*	338
Geschlecht	Weiblich, n (%)	80 (23,7)
	Männlich, n (%)	258 (76,3)
Alter (Jahre)	Mittelwert	48,2
	Median	51,0
	SD	11,01
	<21, n (%)	2 (0,6)
	21 - 49, n (%)	152 (45,0)
	50 - 70, n (%)	182 (53,8)
	>70, n (%)	2 (0,6)
Ethnische Herkunft[a]	Weiß, n (%)	86 (25,4)
	Schwarz, n (%)	118 (34,9)
	Asiatisch, n (%)	1 (0,3)
	Hispanisch, n (%)	123 (36,4)
	Verschiedene Ethnien, n (%)	4 (1,2)
	Sonstiges, n (%)	10 (3,0)
	Unbekannt, n (%)	0 (0,0)
Risikofaktoren[b]	Injektionsdrogenkonsum, n (%)	294 (87,0)
	Empfänger von Gerinnungsfaktoren, die vor 1990 hergestellt wurden, n (%)	0 (0,0)
	Diagnostizierte/behandelte Hepatitis, n (%)	172 (50,9)
	Diagnostiziertes/behandeltes HIV, n (%)	13 (3,8)
	Inkarzeration in der Krankengeschichte, n (%)	311 (92,0)
	Erhalt einer Blut- oder Blutkomponententransfusion, n (%)	39 (11,5)
	Erhalt einer Transplantation, n (%)	0 (0,0)
	Hämodialyse, n (%)	3 (0,9)
	Dauerhaft hohe ALT-Werte, n (%)	2 (0,6)
	Geboren zwischen 1945 und 1965, n (%)	192 (56,8)
HCV-Infektionsstatus	HCV-RNA positiv, n (%)	259 (76,6)
	HCV-RNA negativ, n (%)	79 (23,4)

ALT=Alaninaminotransferase, HIV= Humanes Immundefizienz-Virus
[a]Es können mehrere ethnische Herkünfte angegeben werden.
[b]Es können mehrere Risikofaktoren angegeben werden.

Die Patientenproben wurden mit einem zugelassenen qualitativen HCV-RNA-Test, einem zugelassenen HCV-Antikörpertest und dem Aptima HCV Quant Dx Assay getestet. Die Studie umfasste 338 HCV-Antikörper-reaktive Probanden. Gemäß den aktuellen AASLD-Richtlinien sollte ein von der FDA zugelassener NAAT mit einer Nachweisgrenze von 25 IE/ml oder niedriger[20] verwendet werden, um einen positiven HCV-Infektionsstatus nach einem reaktiven HCV-Antikörpertestergebnis zu bestätigen. Die Übereinstimmung zwischen dem Patienteninfektionsstatus und den Ergebnissen des Aptima HCV Quant Dx Assays wurde mit einem Grenzwert von 25 IE/ml bestimmt. Patientenproben < 25 IE/ml galten als „nicht nachgewiesen“ und Patientenproben mit Ergebnissen ≥ 25 IE/ml galten als „nachgewiesen“. Siehe Tabelle 32.

Die Ergebnisse des Aptima HCV Quant Dx Assays wurden basierend auf zugelassenen HCV-Antikörpertestergebnissen und zugelassenen Ergebnissen qualitativer RNA-Tests mit einem Patienteninfektionsstatus vergleichen. Der Patienteninfektionsstatus galt als HCV-positiv, wenn sowohl der zugelassene HCV-Antikörpertest als auch die Ergebnisse des zugelassenen qualitativen Tests reaktive Ergebnisse aufwiesen. Der Patienteninfektionsstatus galt als HCV-negativ, wenn das Ergebnis des zugelassenen HCV-Antikörpertests nicht-reaktiv war.

Von den 338 Probanden mit HCV-Antikörper-reaktiven Ergebnissen wurden 256 vom Aptima HCV Quant Dx Assay nachgewiesen (% positive Übereinstimmung = 98,8 %). Von den drei Probanden, deren HCV-RNA unterhalb von 25 IE/ml oder gar nicht nachgewiesen wurde, war das Ergebnis bei zwei Probanden nachgewiesen, aber nicht quantifiziert (HCV-RNA < 10 IE/ml) und ein Proband hatte ein quantitatives HCV-RNA-Ergebnis von 12 IE/ml.

Tabelle 32: Übereinstimmung zwischen Ergebnissen des Aptima HCV Quant Dx Assays und dem Patienteninfektionsstatus unter Anwendung eines Grenzwerts von 25 IE/ml

Aptima HCV Quant Dx Testergebnis	**Patienteninfektionsstatus**		**Gesamt**
	HCV-positiv	**HCV-negativ**	
HCV-RNA quantifiziert bei oder oberhalb von 25 IE/ml	256	0	256
HCV-RNA quantifiziert oder nachgewiesen unterhalb von 25 IE/ml oder nicht nachgewiesen	3[a]	79	82
Gesamt	259	79	338
% positive Übereinstimmung (95 %-Score-KI)	98,8 (96,7-99,6)	n. z.	n. z.
% negative Übereinstimmung (95 %-Score-KI)	n. z.	100 (95,4-100)	n. z.

KI = Konfidenzintervall, Nicht zutr. = nicht zutreffend

[a] Der Aptima HCV Quant Dx Assay hat HCV-RNA (<10 IE/ml) bei zwei Probanden nachgewiesen, aber nicht quantifiziert, und beim dritten Probanden wurde HCV-RNA bei 12 IE/ml quantifiziert.

Diese Studie zeigt den klinischen Nutzen des Aptima HCV Quant Dx Assays für die korrekte Diagnose von Probanden mit anhaltend aktiver HCV-RNA-Infektion sowie für die Unterscheidung dieser Probanden von Probanden mit inaktiven Infektionen in einer Population mit vorheriger Exposition gegenüber HCV (HCV-Antikörper-positive Serologie).

Kreuzreaktivität bei Probanden mit nicht-HCV-bedingter Lebererkrankung

Es wurden Serum- und Plasmaproben (n=214) von Personen mit anderen Lebererkrankungen entnommen (bei denen die aktive HCV-Infektion nicht als zugrundeliegende Ursache angegeben war). Die Proben wurden mit einem zugelassenen anti-HCV-Test- und einem zugelassenen qualitativen HCV-RNA-Test getestet, um zu bestätigen, dass die Proben HCV-negativ waren. 17 HCV-positive Proben (mit anti-HCV-positiven Ergebnissen und/oder reaktiven qualitativen HCV-RNA-Testergebnissen) und die ungeeignete Proben wurden ausgeschlossen. Die Tests mit dem Aptima HCV Quant Dx Assay wurden intern mit drei Reagenzien-Kit-Chargen durchgeführt. Tabelle 33 zeigt die Demografie und den Status der Lebererkrankung für die 194 beurteilbaren Probanden

Tabelle 33: Demografische Merkmale und Status der Lebererkrankung der Probanden

Merkmale		Alle
Gesamt	N	194
Geschlecht	n	193
	Weiblich, n (%)	116 (60,1)
	Männlich, n (%)	77 (39,9)
Alter (Jahre)	n	194
	Mittelwert	55,2
	Median	56,0
	SD	12,19
	Minimum	25
	Maximum	82
	21 - 49, n (%)	60 (30,9)
	50 - 70, n (%)	114 (58,8)
	>70, n (%)	20 (10,3)
Ethnie	n	194
	Hispanisch oder lateinamerikanisch, n (%)	9 (4,6)
	Nicht hispanisch oder lateinamerikanisch, n (%)	147 (75,8)
	Unbekannt, n (%)	38 (19,6)
	Verweigert, n (%)	0 (0,0)
Ethnische Herkunft[a]	n	194
	Weiß, n (%)	122 (62,9)
	Schwarz oder afroamerikanisch, n (%)	20 (10,3)
	Asiatisch, n (%)	17 (8,8)
	Amerikanische Ureinwohner/Indigene Völker Alaskas, n (%)	0 (0,0)
	Hawaiianische Ureinwohner/Pazifische Insulaner, n (%)	1 (0,5)
	Sonstiges, n (%)	34 (17,5)
	Unbekannt, n (%)	2 (1,0)
	Verweigert, n (%)	0 (0,0)
Lebererkrankung[b]	n	194
	Autoimmunhepatitis, n (%)	31 (16,0)
	Alkoholtoxischer Leberschaden, n (%)	51 (26,3)
	Chronisches HBV, n (%)	34 (17,5)
	Primär biliäre Zirrhose, n (%)	37 (19,1)
	NASH, n (%)	39 (20,1)
	Mehrere angegebene Lebererkrankungen, n (%)	2 (1,0)

HBV = Hepatitis-B-Virus, NASH= nichtalkoholische Steatohepatitis

[a] Probanden können mehrere ethnische Herkünfte angeben.

[b] Für Probanden mit mehreren Lebererkrankungen wurden sowohl eine Autoimmunhepatitis als auch eine primär biliäre Zirrhose angegeben.

Tabelle 34 zeigt die Spezifität des Aptima HCV Quant Dx Assays nach Lebererkrankung und die Verteilung der Ergebnisse des Aptima HCV Quant Dx Assays für alle Viruslastkategorien. Die Spezifität betrug 100 % bei Probanden mit chronischem Hepatitis-B-Virus (HBV), primär biliärer Zirrhose, nichtalkoholischer Steatohepatitis (NASH) und mehreren gemeldeten Lebererkrankungen. Es wurden sehr niedrige HCV-RNA-Werte bei einem Probanden mit Autoimmunhepatitis (< 10 IE/ml) und bei vier Probanden mit alkoholtoxischem Leberschaden (< 10 IE/ml bei 3 Probanden und 16 IE/ml bei einem Probanden) nachgewiesen. Bei einem der fünf Probanden wurde HCV-RNA durch einen zugelassenen quantitativen HCV-Assay nachgewiesen.

Tabelle 34: Spezifität des Aptima HCV Quant Dx Assays und Ergebnisse der Verteilung bei HCV-Antikörper- und RNA-negativen Probanden mit nicht-HCV-bedingten Lebererkrankungen

Lebererkrankung	Spezifität (%) 95 %-KI[a]	Nicht Nachgewiesen	<10 IE/ml	10 bis <25 IE/ml	25 bis 100.000.000 IE/ml	>100.000.000 IE/ml	Gesamt
Autoimmunhepatitis	96,8 (83,8-99,4)	30 (96,8)	1 (3,2)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	31
Alkoholtoxischer Leberschaden	92,2 (81,5-96,9)	47 (92,2)	3 (5,9)[b]	1 (2,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	51
Chronisches HBV	100 (89,8-100)	34 (100)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	34
Primär biliäre Zirrhose	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
Mehrere Lebererkrankungen[c]	100 (34,2-100)	2 (100)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	2
Gesamt	97,4 (94,1-98,9)	189 (97,4)	4 (2,1)	1 (0,5)	0 (0,0)	0 (0,0)	194

HBV = Hepatitis-B-Virus, NASH = Nichtalkoholische Steatohepatitis

[a]Score-KI.

[b]Bei einem Probanden wurde HCV-RNA durch einen von der FDA zugelassenen quantitativen HCV-Assay nachgewiesen.

[c]Probanden waren sowohl an Autoimmunhepatitis als auch an primär biliärer Zirrhose erkrankt.

Literatur

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. 2014 May 5.
4. Lee M-H, Yang, H-I, Yuan Y et al., Epidemiology and natural history of hepatitis C virus infection. World J Gasteroenterology 2014: 20 (28): 9270-9280.
5. Tan SL, editor. Hepatitis-C-Viren: 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. 2014 Jan;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. Published on hcvguidelines.org, abgerufen am 11. Feb.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; aktuell gültige Fassung.
16. **Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health.** Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL); aktuell gültige Fassung.
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. Aktualisiert am 21. März 2014. Abgerufen am 1. März 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.

Kontaktdaten und Änderungsprotokoll



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

Die länderspezifische E-Mail-Adresse und Telefonnummer für den technischen Kundendienst und Kundenservice ist auf www.hologic.com/support zu finden.

Schwerwiegende Vorkommnisse im Zusammenhang mit dem Produkt in der Europäischen Union müssen dem Hersteller und der zuständigen Behörde des Mitgliedstaats, in dem der Anwender und/oder der Patient niedergelassen ist, gemeldet werden.

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

Armored RNA ist eine Marke der Asuragen, Inc.

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

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

©2016-2025 Hologic, Inc. Alle Rechte vorbehalten.

AW-28216-801 Rev. 001

2025-12

Änderungsprotokoll	Datum	Beschreibung
AW-28216-801 Rev. 001	Dezember 2025	• Erstveröffentlichung.