Aptima® HCV Quant Dx Assay

Gebruiksaanwijzing
Voor *in-vitro* diagnostisch gebruik
Alleen voor Amerikaanse export

Algemene informatie 2
Beoogd gebruik 2
Samenvatting en uitleg van de test 2
Uitgangspunten van de procedure 3
Samenvatting van veiligheid en prestaties 4
Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen 4
Eisen voor opslag en verwerking van reagentia 7
Verzamelen en opslaan van specimen 9
Monsters in het Panther Systeem 12
Vervoer van specimens 12
Panther Systeem 13
Geleverde reagentia en materialen 13
Benodigde maar apart geleverde materialen 15
Optionele materialen 16
Testprocedure voor het Panther Systeem 16
Procedurele opmerkingen 20
Kwaliteitscontrole 21
Assaykalibratie 21
Negatieve en positieve controles 21
Interne kalibrator/interne controle 21
Interpretatie van resultaten 22
Beperkingen 23
Analytische prestaties 24
Detectielimiet (LoD) volgens de 2e internationale standaard van de WHO 24
Detectielimiet voor alle HCV-genotypen 24
Lineair bereik 25
Lineariteit voor alle HCV-genotypen 26
Ondergrens van kwantificering op basis van de 2e internationale standaard van de WHO 27
Bepaling van de ondergrens van kwantificering (LLoQ) voor alle HCV-genotypen 28
Traceerbaarheid volgens de WHO-standaard 30
Precisie 30
Potentieel storende stoffen 31
Prestaties met HCV-negatieve specimens 33
Analytische specificiteit 34
Klinische monsters met andere virussen dan HCV 35
Matrix-equivalentie 35
Specimenverdunning met behulp van Aptima-specimenverdunningsmiddel (1:3) 36
Specimenverdunning met behulp van Aptima-specimenverdunningsmiddel (1:100) 37
Bevestiging van de LLoQ in klinische specimens verdund in specimenverdunningsmiddel 38
Precisie van verdunde monsters 39
Vermenging 39
Seroconversiepanel 40
Reproduceerbaarheidsonderzoek 40
Klinische prestaties 42
Correlatie van methoden 42
Klinisch bruikbaarheidsonderzoek 43
Reactie op antivirale therapie 47
Diagnostisch bruikbaarheidsonderzoek 50
Kruisreactiviteit bij proefpersonen met niet-HCV-gerelateerde leverziekte 52
Literatuur 54
Contactgegevens en revisiegeschiedenis 55

Algemene informatie

Beoogd gebruik

De Aptima® HCV Quant Dx-assay is een real-time transcriptie-gemedieerde amplificatietest. Deze assay wordt gebruikt voor zowel detectie als kwantificering van het hepatitis-C-virus (HCV-RNA) in vers en bevroren menselijk serum en plasma bij mensen met een HCV-infectie.

Plasma kan worden geprepareerd in ethyleendiaminetetra-azijnzuur (EDTA), zuur-citraat-dextrose-oplossing (ACD) en plasmapreparatiebuizen (PPT). Serum kan worden geprepareerd in serumbuizen en in serumseparatorbuizen (SST). Specimens worden getest met behulp van het Panther™-systeem voor geautomatiseerde verwerking, amplificatie, detectie en kwantificatie van specimens. Specimens met HCV-genotypen 1 tot en met 6 zijn gevalideerd voor detectie en kwantificering in de assay.

De Aptima HCV Quant Dx-assay is geïndiceerd voor gebruik als hulpmiddel bij de diagnose van een HCV-infectie. De assay kan worden gebruikt ter bevestiging van een actieve HCV-infectie bij patiënten met een positieve uitslag voor HCV-antistoffen. Detectie van HCV-RNA geeft aan dat het virus zich vermenigvuldigt en is daarom een bewijs van actieve infectie.

De Aptima HCV Quant Dx-assay is geïndiceerd voor gebruik als hulpmiddel bij de behandeling van met HCV geïnfecteerde patiënten die met antivirale medicijnen tegen HCV worden behandeld. Met de assay worden HCV-RNA-niveaus gemeten aan het begin, tijdens en na de behandeling om de aanhoudende virologische respons (SVR) te bepalen. De resultaten van de Aptima HCV Quant Dx-assay moeten binnen de context van alle relevante klinische en laboratoriumuitslagen worden geïnterpreteerd.

De Aptima HCV Quant Dx-assay is niet bestemd voor gebruik als screeningtest op aanwezigheid van HCV in bloed of bloedproducten.

Samenvatting en uitleg van de test

HCV is een door bloed overgedragen ziekteverwekker en vormt een wereldwijde belasting voor de volksgezondheid met tot 170 miljoen mensen die wereldwijd besmet zijn en 350.000 jaarlijkse sterfgevallen als gevolg van HCV-gerelateerde aandoeningen, waaronder cirrose en leverkanker.[1,2] Overdracht van HCV vindt plaats door blootstelling aan bloed, bloedproducten of activiteiten met potentieel voor percutane blootstelling.[3,4] Genetisch bevat HCV een RNA-genoom met een positieve streng van ongeveer 9.500 nucleotiden die coderen voor structurele eiwitten (kern-, E1- en E2-glycoproteïnen, p7-ionkanaaleiwit) en niet-structurele eiwitten (NS2, NS3, NS4A/B, NS5A/B). De laatstgenoemde zijn belangrijke, virale, replicatieve eiwitten en doelwitten van direct werkende antivirale middelen.[4,5] Twee onvertaalde regio's (UTR) van het genoom, 5' UTR en 3' UTR, functioneren respectievelijk in genoomvertaling en replicatie/verpakkingsrollen.[5] De 5' UTR is de meest geconserveerde genomische regio van de zes belangrijkste HCV-genotypen.[6]

Klinisch is er een hoge prevalentie van asymptomatische HCV-infectie en chronische HCV-infectie komt voor bij tot 75% van de patiënten.[2] HCV-laboratoriumtestalgoritmen vereisen de diagnose van actieve HCV-infecties bij antilichaampositieve personen door detectie van HCV-RNA in plasma of serum om een passende koppeling met zorg mogelijk te maken.[7,8,9]

Kwantificering van HCV-RNA (virale lading) heeft een belangrijke rol gespeeld bij het definiëren en de bewaking van een succesvolle HCV-behandeling. Aanhoudende virologische respons (SVR), gedefinieerd als niet-gedetecteerd HCV-RNA na succesvolle therapie, is een belangrijke marker voor een HCV-genezing.[10,11] Bij op interferon gebaseerde therapie, vroege virologische respons (EVR), gedefinieerd als een afname van 2 log of meer in de HCV-virale belasting na 12 weken behandeling, en een snelle virologische respons (RVR), gedefinieerd als niet-

detecteerbare niveaus van HCV-RNA na 4 weken behandeling, bleken positieve voorspellers te zijn voor SVR.[10,12,13] Deze markers van virale kinetiek worden gebruikt in responsgestuurde benaderingen die behandelopties afstemmen op het stoppen of verlengen van de therapie om SVR te bereiken.[14] Bovendien toonden vervolgonderzoeken op lange termijn de duurzaamheid van SVR aan na succesvolle behandeling en voorkomt virale uitroeiing progressie van leverziekte.[10]

In het tijdperk van direct-acting antivirals (DAA's) heeft kwantificering van HCV-RNA (virale belasting) een cruciale rol gespeeld bij het definiëren en volgen van een succesvolle HCV-behandeling. Aanhoudende virologische respons (SVR) wordt gedefinieerd als niet-detecteerbaar HCV-RNA (met een assay met een detectielimiet van <25 IE/ml) na therapie.[10,11] Recente richtlijnen van de AASLD stellen voor om HCV-RNA niet alleen bij baseline te testen, maar ook periodiek tijdens de behandeling (d.w.z. 4 weken) en 12 weken na voltooiing van de behandeling.[10,12,13]

Uitgangspunten van de procedure

De Aptima HCV Quant Dx-assay is een nucleïnezuuramplificatietest die gebruikmaakt van real-time transcriptie-gemedieerde amplificatietechnologie (TMA) om HCV-RNA te detecteren en te kwantificeren ter ondersteuning van de diagnose of om de baseline virale belasting vast te stellen, en om de reacties tijdens en na de behandeling te meten. De assay is gericht op een geconserveerd gebied van het HCV-genoom, ter detectie en kwantificering van genotypen 1, 2, 3, 4, 5 en 6. De assay is gestandaardiseerd volgens de 2e internationale standaard van de WHO voor het hepatitis C-virus (NIBSC-code 96/798).[12]

De Aptima HCV Quant Dx-assay bestaat uit drie hoofdstappen die worden uitgevoerd in één buis op het Panther-systeem: targetcapture, targetamplificatie door TMA en detectie van de amplificatieproducten (amplicon) met de sondes met fluorescerende labels.

Tijdens targetcapture wordt viraal RNA uit de specimens geïsoleerd. Het specimen wordt behandeld met een detergens om de virusenvelop oplosbaar te maken, de eiwitten te denatureren en viraal genomisch RNA af te geven. Capture-oligonucleotiden hybridiseren met uiterst geconserveerde gebieden HCV-RNA (indien aanwezig) in het testspecimen. De gehybridiseerde target wordt dan gevangen op magnetische microdeeltjes die in een magnetisch veld van het specimen worden gescheiden. Tijdens de wasstappen worden vreemde componenten uit de reageerbuis verwijderd.

Targetamplificatie treedt op via TMA, een via transcriptie gemedieerde nucleïnezuuramplificatiemethode waarbij twee enzymen, Moloneyvirus (MMLV)-reverse-transcriptase en T7 RNA-polymerase, worden gebruikt. De reverse-transcriptase wordt gebruikt voor het maken van een DNA-kopie (met een promotorsequentie voor T7 RNA-polymerase) van de targetsequentie. Via T7 RNA-polymerase worden meerdere kopieën van RNA-amplicon aangemaakt op basis van het DNA-kopiesjabloon. De Aptima HCV Quant Dx-assay maakt gebruik van de TMA-methode om een deel van het 5’ UTR van het HCV-genoom te amplificeren. Amplificatie van dit specifieke gebied wordt bereikt met behulp van specifieke primers die zijn bestemd voor amplificatie van HCV-genotypen 1, 2, 3, 4, 5 en 6.

Detectie wordt gerealiseerd met behulp van fluorescerende sondes van enkelstrengs nucleïnezuur tijdens amplificatie van de target die zorgen voor realtime hybridisatie specifiek aan het amplicon. Elke toorts is uitgerust met een fluorofoor en een uitdover. Wanneer geen hybridisatie met het amplicon plaatsvindt, bevindt de uitdover zich in de buurt van de fluorofoor en onderdrukt het fluorescentie. Wanneer de fluorescerende sonde bindt aan het amplicon, raakt de uitdover verder verwijderd van het fluorochroom en zendt die een signaal uit op een bepaalde golflengte als gevolg van excitatie door een lichtbron. Hoe meer hybridisatie tussen fluorescerende sondes en amplicon plaatsvindt, des te sterker het fluorescerende signaal. De tijd tot de afgifte van een fluorescerend signaal loopt gelijk aan die van de beginconcentratie

van HCV. Elke reactie heeft een interne kalibrator/interne controle (IC) die controleert op variaties in de verwerking, amplificatie en detectie van het specimen. De concentratie van een monster wordt vastgesteld door de Panther-systeemsoftware met behulp van de HCV- en IC-signalen voor elke reactie en door deze te vergelijken met de kalibratiegegevens.

Samenvatting van veiligheid en prestaties

De SSP (Summary of Safety and Performance [Samenvatting van veiligheid en prestaties]) is beschikbaar in de Europese database voor medische hulpmiddelen (Eudamed), waar deze is gekoppeld aan de unieke identificatiecode voor medische hulpmiddelen (Basic UDI-DI). Raadpleeg de Basic Unique Device Identifier (BUDI [Uniek basisapparaatkenmerk]) om de SSP voor Aptima HCV Quant Dx-assay te vinden: 54200455DIAGAPTHCVAJ.

Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen

A. Voor *in-vitro*diagnostiek.

B. Voor professioneel gebruik.

C. Om het risico op ongeldige resultaten te verkleinen, dient u de volledige bijsluiter en de *Gebruikershandleiding van het Panther*/*Panther Fusion™-systeem* voor procedurele informatie aandachtig te lezen voordat u de assay op het Panther-systeem uitvoert.

D. Raadpleeg de *gebruikershandleiding van het Panther-/Panther Fusion-systeem* voor aanvullende specifieke waarschuwingen, voorzorgsmaatregelen en procedures om besmetting van het Panther-systeem te beheersen.

Met betrekking tot het laboratorium

E. LET OP: De controles bij deze assay bevatten menselijk plasma. Het plasma is niet-reactief voor hepatitis B-oppervlakte-antigeen (HBsAg), antilichamen tegen HCV, antilichamen tegen HIV-1 en HIV-2 en HIV-antigeen wanneer het wordt getest met door de Amerikaanse Food and Drug Administration goedgekeurde procedures. Daarnaast is het plasma niet-reactief voor HCV-RNA en HIV-1-RNA wanneer getest met gelicentieerde nucleïnezuurtests met gepoolde monsters. Alle materialen van menselijk bloed dienen te worden beschouwd als potentieel besmettelijk en moeten worden gehanteerd met universele voorzorgsmaatregelen.[14,15,16]

F. Alleen personeel dat adequaat is opgeleid in het gebruik van de Aptima HCV Quant Dx-assay en in het omgaan met potentieel besmettelijk materiaal, mag deze procedure uitvoeren. Als er materiaal is gemorst, desinfecteer dan onmiddellijk volgens de toepasselijke procedures binnen de instelling.

G. Gebruik alleen de meegeleverde of aangegeven wegwerpartikelen voor in het laboratorium.

H. Pas de gebruikelijke voorzorgsmaatregelen voor laboratoria toe. Niet met de mond pipetteren. Eet, drink en rook niet in de aangegeven werkgebieden. Draag poederloze wegwerphandschoenen, oogbescherming en laboratoriumjassen tijdens het verwerken van specimens en kitreagentia. Was de handen grondig na het verwerken van specimens en kitreagentia.

I. Werkoppervlakken, pipetten en overige apparatuur moeten regelmatig worden ontsmet met 2,5% tot 3,5% (0,35 M tot 0,5 M) natriumhypochlorietoplossing.

J. Gooi alle materialen die in contact zijn gekomen met specimens en reagentia weg volgens de lokale, provinciale en federale voorschriften.[14,15,16,17] Reinig en desinfecteer alle werkoppervlakken grondig.

K. De controles bevatten natriumazide als conserveringsmiddel. Gebruik geen metalen buizen om reagentia over te dragen. Als oplossingen met natriumazideverbindingen via de gootsteen worden afgevoerd, moeten ze worden verdund en doorgespoeld met ruime hoeveelheden stromend water. Deze voorzorgsmaatregelen worden aanbevolen om te voorkomen dat afzettingen zich ophopen in metalen buizen waarin explosieve situaties kunnen ontstaan.

L. Goede standaardpraktijken voor laboratoria voor moleculaire diagnostiek omvatten controle van de laboratoriumomgeving. De volgende procedure wordt voorgesteld ter bewaking van een laboratoriumomgeving:

1. Pak een wattenstaafje en voeg het bij de Aptima Specimen Aliquot Tube (SAT).
2. Plak het juiste etiket op elke SAT.
3. Vul elke SAT met 1 ml Aptima-specimenverdunningsmiddel.
4. Bevochtig een staafje lichtjes met nucleasevrij gedeïoniseerd water om oppervlaktemonsters af te nemen.
5. Neem een monster af door met het staafje verticaal van boven naar beneden over het betreffende oppervlak te gaan. Draai het staafje ongeveer een halve slag terwijl u het monster afneemt.
6. Plaats het afgenomen monster onmiddellijk in de buis en roer het wattenstaafje voorzichtig met wervelende bewegingen door de verdunner om potentieel afgenomen materiaal te onttrekken. Druk het staafje tegen de binnenkant van de transportbuis om zo veel mogelijk vloeistof te onttrekken. Gooi het staafje weg en doe een dop op de buis.
7. Herhaal de stappen voor de overige monsters.
8. Test het specimen met een moleculaire assay.

Met betrekking tot het specimen

M. De specimens kunnen besmettelijk zijn. Gebruik universele voorzorgsmaatregelen[14,15,16] bij het uitvoeren van deze test. De juiste behandel- en verwijderingsmethoden moeten worden vastgesteld volgens de lokale regelgeving.[17] Alleen personeel dat adequaat is opgeleid in het gebruik van de Aptima HCV Quant Dx-assay en in het omgaan met besmettelijk materiaal mag deze procedure uitvoeren.

N. Zorg dat de specimens worden verzonden onder de juiste opslagomstandigheden om hun integriteit te waarborgen. De stabiliteit van de specimens in andere dan de aanbevolen verzendingsomstandigheden is niet geëvalueerd.

O. Voorkom kruisbesmetting tijdens de stappen waarin de specimens worden verwerkt. Wees vooral voorzichtig als u de doppen van de specimens losmaakt of verwijdert om besmetting via verspreiding van aerosolen te voorkomen. Specimens kunnen uitermate veel organismen bevatten. Zorg ervoor dat specimens niet met elkaar in contact komen en voer gebruikt materiaal niet over open buizen af. Vervang uw handschoenen als deze met een specimen in contact komen.

Met betrekking tot de assay

P. Gebruik de reagenskit, de kalibrator of de controles niet na de vervaldatum.

Q. Verwissel, meng of combineer geen assayreagentia uit kits met verschillende partijnummers. De assayvloeistoffen kunnen afkomstig zijn van verschillende partijnummers. De controles en de kalibrator kunnen afkomstig zijn van verschillende partijnummers.

R. Voorkom microbiële en nuclease besmetting van de reagentia.

S. Doe een dop op alle assayreagentia bij gespecificeerde temperaturen en sla ze op. Gebruik van verkeerd opgeslagen reagentia kan de uitslag van de assay negatief beïnvloeden. Zie *Eisen voor opslag en verwerking van reagentia* en *Testprocedure voor het Panther Systeem* voor meer informatie.

T. Combineer geen assayreagentia of vloeistoffen zonder specifieke aanwijzingen. Flessen voor reagentia of vloeistoffen mogen niet helemaal worden gevuld. Het Panther-systeem verifieert het peil van de reagentia.

U. Enkele reagentia in deze kit zijn voorzien van risico- en veiligheidssymbolen.

Opmerking: *Gevarencommunicatie volgt de classificaties in veiligheidsinformatiebladen (SDS) van de EU. Informatie over gevarencommunicatie specifiek voor uw regio vindt u in de regiospecifieke SDS in de Safety Data Sheet Library (bibliotheek met veiligheidsinformatiebladen) op www.hologicsds.com. Raadpleeg voor meer informatie over de symbolen de symboollegenda op www.hologic.com/package-inserts.*

Europese gevareninformatie	
—	**Amplificatiereagens** *MAGNESIUMCHLORIDE 60-65%* — H412 – Schadelijk voor in het water levende organismen, met langdurige gevolgen. P273 – Voorkom lozing in het milieu. P501 – Werp de inhoud/houder weg via een goedgekeurd afvalverwerkingsbedrijf.
—	**Promotorreagens** *MAGNESIUMCHLORIDE 60-65%* — H412 – Schadelijk voor in het water levende organismen, met langdurige gevolgen. P273 – Voorkom lozing in het milieu. P501 – Werp de inhoud/houder weg via een goedgekeurd afvalverwerkingsbedrijf.
—	**Enzymreagens** *Triton X-100 1-5%* *HEPES 1-5%* — H412 – Schadelijk voor in het water levende organismen, met langdurige gevolgen. P273 – Voorkom lozing in het milieu. P501 – Werp de inhoud/houder weg via een goedgekeurd afvalverwerkingsbedrijf.
	**HCV VL Kit Controles** *NATRIUMAZIDE < 1%* — **GEVAAR** H300 – Dodelijk bij inslikken. H410 – Zeer giftig voor in het water levende organismen, met langdurige gevolgen. P264 – Na het werken met dit product gezicht, handen en alle blootgestelde huid grondig wassen. P273 – Voorkom lozing in het milieu. P301 + P310 – NA INSLIKKEN: Onmiddellijk een ANTIGIFCENTRUM of een arts raadplegen. P321 – Specifieke behandeling vereist (zie aanvullende eerstehulpinstructies op dit etiket). P330 – De mond spoelen. P391 – Gelekte stof opruimen.

—	**HCV VL Kit kalibrators** *HEPES 15-20%* *Laurylsulfaat lithiumzout 5-10%* *Lithiumhydroxide, monohydraat 1-5%* *Succinaatzuur 1-5%* — H412 – Schadelijk voor in het water levende organismen, met langdurige gevolgen. P273 – Voorkom lozing in het milieu. P501 – Werp de inhoud/houder weg via een goedgekeurd afvalverwerkingsbedrijf
—	**Enzymreconstitutieoplossing** *Glycerol 20-25%* *Triton X-100 5-10%* *HEPES 1-5%* — H412 – Schadelijk voor in het water levende organismen, met langdurige gevolgen. P273 – Voorkom lozing in het milieu. P501 – Werp de inhoud/houder weg via een goedgekeurd afvalverwerkingsbedrijf
—	**Target Capture Reagens** *HEPES 15-20%* *Laurylsulfaat lithiumzout 5-10%* *Lithiumhydroxide, monohydraat 1-5%* *Succinaatzuur 1-5%* — H412 – Schadelijk voor in het water levende organismen, met langdurige gevolgen. P273 – Voorkom lozing in het milieu. P501 – Werp de inhoud/houder weg via een goedgekeurd afvalverwerkingsbedrijf

Eisen voor opslag en verwerking van reagentia

A. In de volgende tabel worden de opslagomstandigheden en stabiliteit voor reagentia, controles en kalibrator weergegeven.

Reagens	Ongeopende opslag	Open kit (gereconstitueerd)	
		Opslag	Stabiliteit
qHCV-amplificatiereagens	2°C tot 8°C		
qHCV-amplificatiereconstitutieoplossing	2°C tot 8°C	2°C tot 8°C	30 dagen[a]
qHCV-enzymreagens	2°C tot 8°C		
qHCV-enzymreconstitutieoplossing	2°C tot 8°C	2°C tot 8°C	30 dagen[a]
qHCV-promotorreagens	2°C tot 8°C		
qHCV-promotorreconstitutieoplossing	2°C tot 8°C	2°C tot 8°C	30 dagen[a]
qHCV-target capture reagens	2°C tot 8°C	2°C tot 8°C	30 dagen[a]
qHCV NC CONTROLE - (Negatieve controle)	-15°C tot -35°C	15°C tot 30°C	Wegwerpflacon Binnen 24 uur gebruiken
qHCV LPC CONTROLE + (laag-positieve controle)	-15°C tot -35°C	15°C tot 30°C	Wegwerpflacon Binnen 24 uur gebruiken
qHCV HPC CONTROLE + (Hoog-positieve controle)	-15°C tot -35°C	15°C tot 30°C	Wegwerpflacon Binnen 24 uur gebruiken
qHCV PCAL (positieve kalibrator)	-15°C tot -35°C	15°C tot 30°C	Wegwerpflacon Binnen 24 uur gebruiken

[a] Wanneer reagentia uit het Panther-systeem worden gehaald, moeten ze onmiddellijk opnieuw op de juiste opslagtemperatuur worden gebracht.

B. Voer ongebruikte gereconstitueerde reagentia en target capture reagens (TCR) na 30 dagen af of, indien dat eerder het geval is, na de uiterste houdbaarheidsdatum van de hoofdpartij.

C. Reagentia in het Panther-systeem blijven daarin 72 uur stabiel. Reagentia kunnen maximaal 8 keer in het Panther-systeem worden geplaatst. Het Panther-systeem registreert elke keer dat de reagentia worden geladen.

D. Na ontdooiing van de kalibrator moet de oplossing helder zijn, dus niet troebel en zonder neerslag.



E. Het promotorreagens en het gereconstitueerde promoterreagens zijn lichtgevoelig. Bescherm deze reagentia tegen licht tijdens opslag en voorbereiding voor gebruik.

Verzamelen en opslaan van specimen

Opmerking: *Behandel alle specimens alsof ze potentieel besmettelijke stoffen bevatten. Pas universele voorzorgsmaatregelen toe.*

Opmerking: *Voorkom kruisbesmetting tijdens de stappen waarin de monsters worden verwerkt. Voer gebruikt materiaal bijvoorbeeld niet over open buizen af.*

Opmerking: *Alleen kunststof secundaire buisjes zijn geschikt voor opslag.*

Volbloedspecimens die in de volgende glazen of kunststof buizen zijn afgenomen, kunnen worden gebruikt:

- buizen met de antistollingsmiddelen ethyleendiaminetetra-azijnzuur (EDTA) of zuur-citraat-dextrose (ACD) of
- Plasmavoorbereidingsbuizen (PPT's)
- Serumbuizen
- Serumseparatorbuizen (SST's)

Serum kan pas verder verwerkt worden na stolselvorming.

A. Specimenafname

Volbloed kan worden bewaard bij 2°C tot 30°C en moet binnen 6 uur na specimenafname worden gecentrifugeerd. Scheid het plasma of serum van de gepelleteerde rode bloedcellen volgens de instructies van de fabrikant van de gebruikte buis. Plasma of serum kan in het primaire buisje worden getest op het Panther-systeem of worden overgebracht naar een secundair buisje, zoals de Aptima Specimen Aliquot Tube. De minimale hoeveelheid plasma of serum die nodig is voor een reactievolume van 500 µl is 1200 µl voor primaire afnamebuisjes en minimaal 700 µl voor secundaire buisjes. In de volgende tabel is weergegeven hoeveel dood volume elk type primair en secundair buisje moet bevatten.

Buisje (afmeting en type)	Dood volume bij Panther
Aptima 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 met gel	0,3 ml
16 x 100 mm met gel	0,7 ml

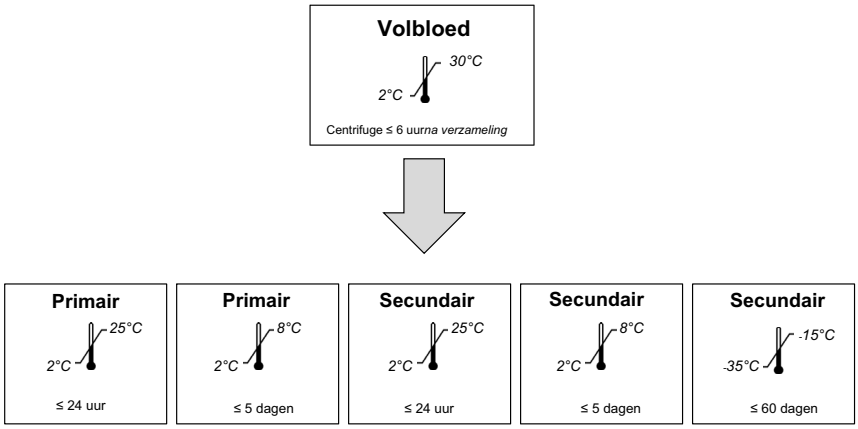
Als ze niet onmiddellijk worden getest, kunnen plasma en serum worden bewaard volgens onderstaande specificaties. Indien overgebracht naar een secundaire buis, kan plasma of serum worden ingevroren bij -20°C. Voorkom dat plasma en serum vaker dan drie keer wordt ingevroren en ontdooid. Bevries de specimens niet in EDTA-, ACD- of primaire serumafnamebuizen.

B. Voorwaarden voor het bewaren van specimens

1. EDTA- en ACD-plasmaspecimens

   Volbloed kan worden bewaard bij 2°C tot 30°C en moet binnen 6 uur na specimenafname worden gecentrifugeerd. Plasma kan vervolgens onder een van de volgende omstandigheden worden bewaard:

   - Maximaal 24 uur bij 2°C tot 25°C in het primaire afnamebuisje of het secundaire buisje,
   - Maximaal 5 dagen bij 2°C tot 8°C in het primaire afnamebuisje of het secundaire buisje, of
   - Maximaal 60 dagen bij -20°C in het secundaire buisje.

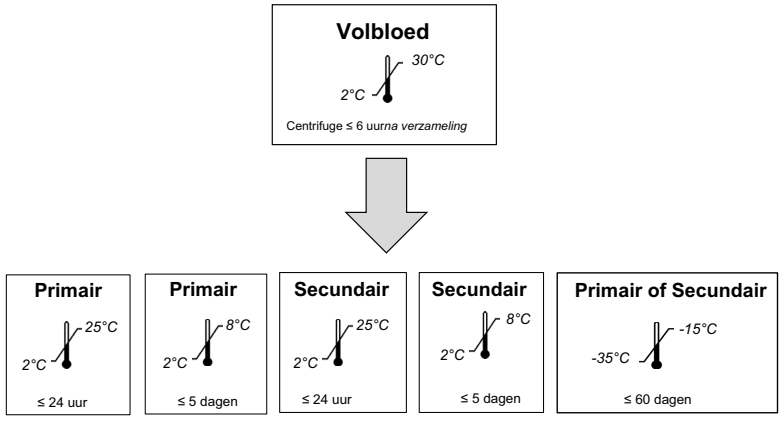


Afbeelding 1. Bewaarcondities voor EDTA-/ACD-buizen

2. PPT-specimens

   Volbloed kan worden bewaard bij 2°C tot 30°C en moet binnen 6 uur na specimenafname worden gecentrifugeerd. Plasma kan vervolgens onder een van de volgende omstandigheden worden bewaard:

   - Maximaal 24 uur bij 2°C tot 25°C in het primaire afnamebuisje of het secundaire buisje,
   - Maximaal 5 dagen bij 2°C tot 8°C in het primaire afnamebuisje of het secundaire buisje, of
   - Maximaal 60 dagen bij -20°C in het primaire afnamebuisje of het secundaire buisje.

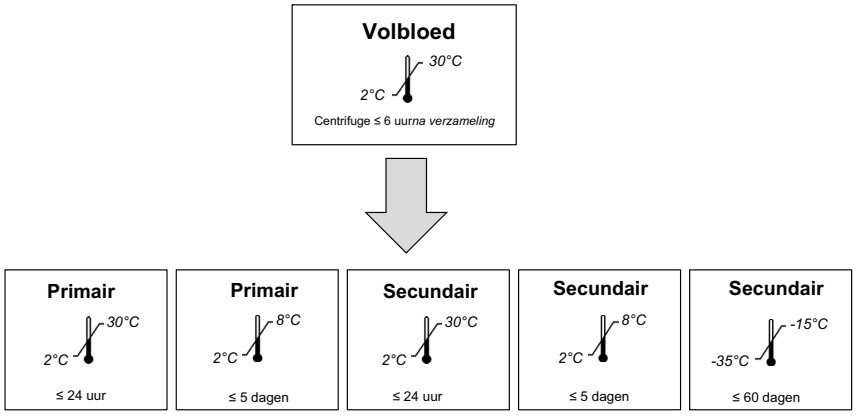


Afbeelding 2. Opslagomstandigheden voor PPT's

3. Serumbuisspecimens

   Volbloed kan worden bewaard bij 2°C tot 30°C en moet binnen 6 uur na specimenafname worden gecentrifugeerd. Serum kan vervolgens onder een van de volgende omstandigheden worden bewaard:

   - Maximaal 24 uur bij 2°C tot 30°C in het primaire afnamebuisje of het secundaire buisje,
   - Maximaal 5 dagen bij 2°C tot 8°C in het primaire afnamebuisje of het secundaire buisje, of
   - Maximaal 60 dagen bij -20°C in het secundaire buisje.

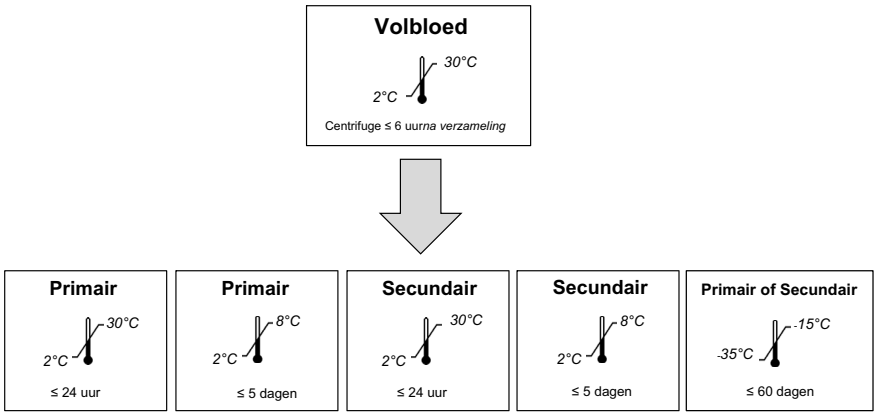


Afbeelding 3. Opslagomstandigheden voor serumbuizen

4. SST-specimens

   Volbloed kan worden bewaard bij 2°C tot 30°C en moet binnen 6 uur na specimenafname worden gecentrifugeerd. Serum kan vervolgens onder een van de volgende omstandigheden worden bewaard:

   - Maximaal 24 uur bij 2°C tot 30°C in het primaire afnamebuisje of het secundaire buisje,
   - Maximaal 5 dagen bij 2°C tot 8°C in het primaire afnamebuisje of het secundaire buisje, of
   - Maximaal 60 dagen bij -20°C in het primaire afnamebuisje of het secundaire buisje.



Afbeelding 4. Opslagomstandigheden voor SST-buizen

C. Langdurig bewaren in de vriezer

Plasma- of serummonsters kunnen maximaal 60 dagen in SAT's bij -65°C tot -70°C worden bewaard.

D. Verdunning van plasma- en serumspecimens

Plasma- en serumspecimens mogen in het SAT of het secundaire buisje worden verdund voor analyse in het Panther-systeem. Zie *Testprocedure voor het Panther Systeem*, stap E.5 hieronder voor meer informatie.

⚠ *Een diagnostische interpretatie mag niet worden gemaakt op basis van een resultaat "Niet gedetecteerd" voor serum- of plasmaspecimens die zijn verdund. Neem een nieuw, onverdund specimen en test opnieuw.*

Opmerking: *Als een specimen wordt verdund, moet het onmiddellijk na verdunning worden getest. Vries een verdund specimen niet in.*

Monsters in het Panther Systeem

Monsters zonder dop mogen maximaal 8 uur in het Panther-systeem achterblijven. Monsters mogen uit het Panther-systeem worden gehaald en getest zolang ze niet langer dan 8 uur in totaal in het systeem hebben gezeten voordat het monster in het Panther-systeem werd gepipetteerd.

Vervoer van specimens

De monsters moeten onder dezelfde omstandigheden worden bewaard als beschreven in *Verzamelen en opslaan van specimen*.

Opmerking: *Specimens moeten worden vervoerd volgens de toepasselijke nationale, internationale en regionale regelgeving voor transport.*

Panther Systeem

Hieronder staan reagentia voor de Aptima HCV Quant Dx-assay voor het Panther-systeem vermeld. Naast de naam van het reagens worden tevens de identificatiesymbolen weergegeven.

Geleverde reagentia en materialen

Aptima HCV Quant Dx Assay-kit, 100 testen Cat. Nr. PRD-03506
(1 assaydoos, 1 kalibratorkit en 1 controlekit)
Extra kalibrators en controles kunnen afzonderlijk worden besteld. Raadpleeg de respectieve catalogusnummers hieronder.

Aptima HCV Quant Dx Assay-doos
(na ontvangst bewaren bij 2°C tot 8°C)

Symbool	Component	Aantal
A	**qHCV-amplificatiereagens** *Niet-besmettelijke nucleïnezuren gedroogd in gebufferde oplossing.*	1 flacon
E	**qHCV-enzymreagens** *Reverse-transcriptase en RNA-polymerase gedroogd in met HEPES gebufferde oplossing.*	1 flacon
PRO	**qHCV-promotorreagens** *Niet-besmettelijke nucleïnezuren gedroogd in gebufferde oplossing.*	1 flacon
AR	**qHCV-amplificatiereconstitutieoplossing** *Oplossing in water met glycerol en conserveringsmiddelen.*	1 x 7,2 ml
ER	**qHCV-enzymreconstitutieoplossing** *Met HEPES gebufferde oplossing met een surfactans en glycerol.*	1 x 5,8 ml
PROR	**qHCV-promotorreconstitutieoplossing** *Oplossing in water met glycerol en conserveringsmiddelen.*	1 x 4,5 ml
TCR	**qHCV-target capture reagens** *Nucleïnezuren in een gebufferde zoutoplossing met vastefase-, niet-besmettelijke nucleïnezuren en een interne kalibrator.*	1 x 72,0 ml
	Reconstitutiekragen-adapters	3
	Streepjescodeblad hoofdpartij	1 blad

Aptima HCV Quant Dx kalibratorkit (Cat. Nr. PRD-03507)
(na ontvangst bewaren bij -15°C tot -35°C)

Symbool	Component	Aantal
PCAL	**qHCV-positieve kalibrator** *Transcript in gebufferde oplossing.*	5 x 2,5 ml
	Streepjescodelabel kalibrator	—

Aptima HCV Quant Dx Controlekit (Cat. Nr. PRD-03508)
(na ontvangst bewaren bij -15°C tot -35°C)

Symbool	Component	Aantal
NC	**qHCV-negatieve controle** *HCV-negatief gedefibrineerd menselijk plasma met gentamicine en 0,2% natriumazide als conserveringsmiddelen.*	5 x 0,8 ml
LPC	**Laag-positieve qHCV-controle** *Niet-besmettelijk HCV Armored RNA in gedefibrineerd menselijk plasma met gentamicine en 0,2% natriumazide als conserveringsmiddelen.*	5 x 0,8 ml
HPC	**Hoog-positieve qHCV-controle** *Niet-besmettelijk HCV Armored RNA in gedefibrineerd menselijk plasma met gentamicine en 0,2% natriumazide als conserveringsmiddelen.*	5 x 0,8 ml
	Streepjescodelabel controles	—

Benodigde maar apart geleverde materialen

Opmerking: *Voor materialen die bij Hologic verkrijgbaar zijn, is het catalogusnummer vermeld, tenzij ze op andere wijze zijn gespecificeerd.*

Materiaal	Cat. Nr.
Panther™ Systeem	303095
Panther Fusion™ Systeem	PRD-04172
Panther™ Systeem, Continue vloeistof en afval (Panther Plus)	PRD-06067
Aptima® HCV Quant Dx Controlekit	PRD-03508
Aptima® HCV Quant Dx kalibratorkit	PRD-03507
Panther-runkit voor realtime assays (uitsluitend voor realtime assays)	PRD-03455 (5.000 testen)
Aptima® Assayvloeistoffenkit (ook bekend als Universele vloeistoffenkit) *bevat Aptima®-wasoplossing, Aptima®-buffer voor deactiveringsvloeistof en Aptima®-oliereagens*	303014 (1.000 testen)
Uit meerdere buisjes bestaande eenheden (MTU's)	104772-02
Panther™ afvalzakpakket	902731
Panther™ afvalbakdeksel	504405
Of runkit voor het Panther™ Systeem *(bij het uitvoeren van niet-realtime TMA-assays parallel aan realtime TMA-assays) bevat MTU's, afvalzakken, afvalbakdeksels, Auto-Detect en assayvloeistoffen*	303096 (5.000 testen)
Tips, 1000 µl, gefilterd, vloeistofgevoelig, geleidend en wegwerpbaar *Sommige producten zijn niet in alle regio's verkrijgbaar. Neem contact op met uw vertegenwoordiger voor specifieke informatie over de verkrijgbaarheid in uw regio.*	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Bleekmiddel, 5% tot 8,25% (0,7 M tot 1,16 M) natriumhypochlorietoplossing	—
Poederloze wegwerphandschoenen	—
Vervangende niet-doorprikbare doppen	103036A
Vervangende doppen voor reagentia *Reconstitutieflessen voor amplificatie-, enzym- en promotorreagens* *TCR-fles*	 CL0041 (100 doppen) CL0040 (100 doppen)
Laboratoriumtafellaken met plastic achterkant	—
Pluisvrije doekjes	—
Pipet	—
Tips	—
Opties primaire afnamebuisjes: *13 mm x 100 mm* *13 mm x 75 mm* *16 mm x 100 mm*	 — — —
Centrifuge	—
Vortexmixer	—

Optionele materialen

Materiaal	Cat. Nr.
Opties secundaire buisjes:	
12 mm x 75 mm	—
13 mm x 100 mm	—
16 mm x 100 mm	—
Aptima-Specimen Aliquot Tubes (SAT's) (100 stuks)	FAB-18184
Dop voor transportbuizen (100 stuks) *dop voor SAT*	504415
Aptima®-specimenverdunningsmiddel	PRD-03003
Aptima®-specimenverdunningskit *bevat specimenverdunningsmiddel, 100 SAT's en 100 doppen*	PRD-03478
Transferpipetten	—
Commercieel verkrijgbare panelen	—
Wattenstaafjes	—
Schudmachine	PRD-03488

Testprocedure voor het Panther Systeem

Opmerking: *Raadpleeg de gebruikershandleiding van het Panther/Panther Fusion Systeem voor meer informatie over procedures.*

A. Voorbereiding van het werkoppervlak

1. Reinig de werkoppervlakken waar reagentia worden bereid. Veeg de werkoppervlakken af met 2,5% tot 3,5% (0,35 M tot 0,5 M) natriumhypochlorietoplossing. Laat de natriumhypochlorietoplossing ten minste 1 minuut intrekken en spoel de werkoppervlakken vervolgens af met gedeïoniseerd (DI) water. De natriumhypochlorietoplossing mag niet opdrogen. Bedek het werkoppervlak met schone, absorberende laboratoriumtafellakens met een plastic achterkant.
2. Reinig een apart deel van het werkoppervlak waar monsters worden bereid. Gebruik de hierboven beschreven procedure (stap A.1).
3. Reinig de pipetten. Gebruik de hierboven beschreven reinigingsprocedure (stap A.1).

B. Voorbereiding kalibrator en controles

Voer de volgende stappen uit om ervoor te zorgen dat de kalibrator en controles zich tussen 15°C en 30°C bevinden vóór verwerking:

1. Verwijder de kalibrator en controles uit de opslag (-15°C tot -35°C) en plaats ze tussen 15°C en 30°C. Draai elke buis meermaals voorzichtig om tijdens het volledige ontdooiingsproces, zodat de inhoud van de buizen grondig wordt vermengd. Controleer vóór gebruik of de inhoud van de buis volledig ontdooid is.

   Optie. Kalibrator- en controlebuisjes mogen op een schudmachine worden geplaatst om de inhoud goed te mengen. Controleer vóór gebruik of de inhoud van de buis volledig ontdooid is.

   Opmerking: *Voorkom overmatige schuimvorming bij het omkeren van de kalibrator en de controles. Schuim verstoort detectie van het vloeistofpeil door het Panther-systeem.*

2. Droog na ontdooiing van de inhoud de buitenkant van de buis af met een schoon, droog wegwerpdoekje.

3. Open de buizen niet om vervuiling te voorkomen.

C. Reagensreconstitutie/bereiding van een nieuwe kit

Opmerking: *Reagentia moeten voorafgaand aan gebruik met het Panther-systeem worden gereconstitueerd.*

1. Ga als volgt te werk om het target capture reagens (TCR) voor te bereiden:
   a. Haal de TCR uit de opslag (2°C tot 8°C). Controleer of het partijnummer op de TCR-fles overeenkomt met het partijnummer op het streepjescodeblad van de hoofdpartij.
   b. Schud de TCR-fles onmiddellijk 10 keer krachtig heen en weer. Laat de TCR-fles bij 15°C tot 30°C ten minste 45 minuten opwarmen. In die tijdsperiode dient u de TCR-fles ten minste om de 10 minuten rond te draaien en om te keren.

      Optie. De TCR-fles kan op een schudmachine worden bereid volgens onderstaande aanwijzingen: Haal de TCR uit de opslag (2°C tot 8°C) en schud de fles onmiddellijk 10 keer krachtig. Zet de TCR-fles op een schudmachine en laat ze bij 15°C tot 30°C ten minste 45 minuten opwarmen.
   c. Controleer vóór gebruik of alle neerslag is opgenomen in de oplossing en de magnetische deeltjes zijn gesuspendeerd.
2. Ga als volgt te werk om amplificatie-, enzym- en promotorreagentia te reconstitueren:
   a. Haal de gevriesdroogde reagentia en bijbehorende reconstitutieoplossingen uit de opslag (2°C tot 8°C). Voeg elke reconstitutieoplossing toe aan het bijbehorende gevriesdroogde reagens.
   b. Controleer of de etiketten op de reconstitutieoplossing en het gevriesdroogde reagens dezelfde kleur hebben. Controleer de partijnummers op het streepjescodeblad van de hoofdpartij om te garanderen dat de juiste reagentia met elkaar worden gecombineerd.
      i. Open het gevriesdroogde reagensflesje door de metalen afdichting te verwijderen en de rubberen stop eraf te halen.
      ii. Steek het ingekeepte uiteinde van de reconstitutiekraag (zwart) goed in het flesje (Afbeelding 5, stap 1).
      iii. Open de bijbehorende fles met reconstitutieoplossing en leg de dop op een schoon, afgedekt werkoppervlak.
      iv. Plaats de fles met reconstitutieoplossing op een stabiele ondergrond (bijvoorbeeld een tafel). Keer vervolgens het flesje met gevriesdroogde reagens boven de fles met reconstitutieoplossing om en bevestig de kraag goed op de fles met reconstitutieoplossing (Afbeelding 5, stap 2).
      v. Keer de aan elkaar bevestigde flessen (reagensflesje aan de fles met oplossing) langzaam om de oplossing in het glazen flesje te laten leeglopen (Afbeelding 5, stap 3).
      vi. Pak de aan elkaar bevestigde flessen op en draai ze gedurende ten minste 10 seconden rond (Afbeelding 5, stap 4).
      vii. Wacht ten minste 30 minuten totdat het gevriesdroogde reagens in de oplossing is opgenomen.
      viii. Draai nadat het gevriesdroogde reagens in de oplossing is opgenomen, de aan elkaar bevestigde flessen ten minste 10 seconden rond en schud de oplossing in het glazen flesje daarna lichtjes heen en weer om de inhoud goed te vermengen.

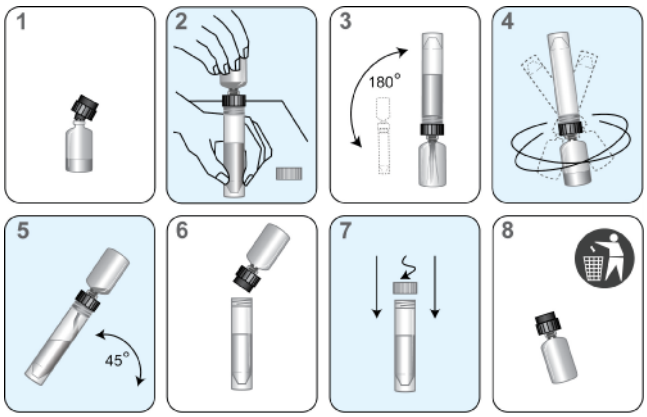
c. Kantel de aan elkaar bevestigde flessen weer langzaam, zodat alle oplossing terugstroomt in de fles met reconstitutieoplossing (Afbeelding 5, stap 5).

d. Verwijder de reconstitutiekraag en het glazen flesje voorzichtig (Afbeelding 5, stap 6).

e. Plaats de dop terug op de fles. Noteer de initialen van de gebruiker en de datum van reconstitutie op het etiket (Afbeelding 5, stap 7).

f. Gooi de reconstitutiekraag en het glazen flesje weg (Afbeelding 5, stap 8).

Waarschuwing: *Voorkom overmatige schuimvorming bij reconstitutie van reagentia. Schuim verstoort detectie van het vloeistofpeil door het Panther-systeem.*



Afbeelding 5. Proces van reconstitutie van reagens

D. Bereiding van reagentia voor eerder bereide reagentia

1. Haal de eerder voorbereide reagentia uit de opslag (2°C tot 8°C).
2. Eerder bereide amplificatie-, enzym-, promotor- en TCR-reagentia moeten op 15°C tot 30°C worden gebracht voorafgaand aan de aanvang van de assay.
3. Voer voor eerder bereid TCR bovenstaande stap C.1 uit voordat u de TCR met het systeem gebruikt.
4. Om de amplificatie-, enzym- en promotorreagentia grondig te mengen voor ze in het systeem worden gebruikt, dient u ze rond te draaien en om te keren. Voorkom overmatige schuimvorming bij het omkeren van reagentia.

   Optie: De eerder voorbereide reagentia kunnen op een schudmachine worden bereid volgens onderstaande aanwijzingen: Haal de reagentia uit de opslag (2 °C tot 8 °C). Zet de reagentia op een schudmachine en laat ze bij 15 °C tot 30 °C ten minste 30 minuten opwarmen.

5. Flessen met reagentia mogen niet helemaal worden gevuld. Het Panther-systeem herkent te volle flessen en verwerkt die niet.

E. Verwerking van specimens

1. Bewaar verwerkte specimens in primaire buisjes of onverdunde specimens in secundaire buisjes op de juiste manier volgens de richtlijnen in *Verzamelen en opslaan van specimen*.
2. Controleer of bevroren specimens goed ontdooid zijn. Vortex de ontdooide specimens gedurende 3 tot 5 seconden om deze grondig te mengen.
3. Zorg dat de specimens zich vóór verwerking tussen 15°C en 30°C bevinden. Raadpleeg *Monsters in het Panther Systeem* voor aanvullende informatie.
4. Controleer of elk primair afnamebuisje ten minste 1200 µl specimenmateriaal bevat en of elke SAT ten minste 700 µl specimenmateriaal bevat. Raadpleeg de tabel op *Specimenafname* om te bepalen hoeveel dood volume elk type primair en secundair

buisje moet bevatten. Als het specimen moet worden verdund, raadpleeg dan stap E.5 hieronder voor meer informatie.

5. Verdun een plasma- of serummonster 1:3 in een SAT-buisje of 1:100 in een secundair buisje.

   Een specimen mag in een secundair buisje worden verdund voor analyse met het Panther-systeem.

⚠ *Een diagnostische interpretatie mag niet worden gemaakt op basis van een resultaat "Niet gedetecteerd" voor serum- of plasmaspecimens die zijn verdund. Neem een nieuw, onverdund specimen en test opnieuw.*

Opmerking: *Als een specimen wordt verdund, moet het onmiddellijk na verdunning worden getest.*

a. Verdunning van laagvolumespecimens

   De hoeveelheid specimens kan worden verhoogd tot de vereiste minimumhoeveelheid (700 µl) met behulp van het Aptima-specimenverdunningsmiddel. Specimens van ten minste 240 µl kunnen als volgt worden verdund met twee delen specimenverdunningsmiddel (1:3):

   i. Doe 240 µl specimen in een SAT.

   ii. Voeg 480 µl Aptima-specimenverdunningsmiddel toe.

   iii. Doe een dop op de buis.

   iv. Draai voor het mengen van de inhoud de buis rustig 5 keer om.

   Specimens die 1:3 zijn verdund, kunnen worden getest met de 1:3-optie van het Panther-systeem (zie de *gebruikershandleiding van het Panther/Panther Fusion Systeem* voor meer informatie). De software rapporteert automatisch het resultaat voor het verdunde specimen door de verdunningsfactor toe te passen. Deze specimens worden gemarkeerd als verdunde specimens.

b. Verdunning van specimen met een hoge titer

   Als het resultaat van een specimen hoger is dan de bovengrens voor kwantificering (ULoQ), mag het als volgt worden verdund met 99 delen Aptima-monsterverdunningsmiddel (1:100):

   i. Breng 30 µl specimenmateriaal over naar een SAT of een secundair buisje.

   ii. Voeg 2970 µl Aptima-specimenverdunningsmiddel toe.

   iii. Doe een dop op de buis.

   iv. Draai voor het mengen van de inhoud de buis rustig 5 keer om.

   Specimens die 1:100 zijn verdund, kunnen worden getest met de optie 1:100 op het Panther-systeem (zie *de gebruikershandleiding van het Panther/Panther Fusion-systeem* voor meer informatie). De software rapporteert automatisch het resultaat voor het verdunde specimen door de verdunningsfactor toe te passen. Deze specimens worden gemarkeerd als verdunde specimens.

   Opmerking: *Voor verdunde specimens met onverdunde concentraties die groter zijn dan de ULoQ, worden de resultaten gerapporteerd met behulp van wetenschappelijke notatie.*

6. Specimens moeten elk voorafgaand aan de analyse 10 minuten gecentrifugeerd worden bij een snelheid van 1000 tot 3.000 *g*. Verwijder de doppen niet. Luchtbellen in de buis verstoren detectie van het vloeistofpeil door het Panther-systeem.

   Zie *Voorbereiding van het systeem*, stap F.2 hieronder voor informatie over het laden van het rek en het verwijderen van de doppen.

F. Voorbereiding van het systeem

1. Stel het systeem in volgens de instructies in de *gebruikershandleiding bij het Panther/ Panther Fusion Systeem* en *Procedurele opmerkingen.* Zorg ervoor dat u reagensrekken en TCR-adapters van het juiste formaat gebruikt.
2. Plaats de monsters in het monsterrek. Voer voor elke monsterbuis (specimen en, wanneer nodig, kalibrator en controles) de volgende stappen uit:
   a. Maak één monsterbuisdop los, maar verwijder de dop nog niet.

      Opmerking: *Wees vooral voorzichtig om besmetting via verspreiding van aerosolen te voorkomen. Draai de doppen op de monsterbuisjes voorzichtig los.*

   b. Plaats de monsterbuis in het monsterrek.

   c. Herhaal stap 2.a en 2.b voor elk resterend monster.

   d. Wanneer de monsters in het monsterrek zijn geplaatst, dient u de dop van elk monsterbuisje in één rek met monsters los te draaien en weg te gooien. Houd een dop niet boven andere monsterrekken of monsterbuisjes om besmetting te voorkomen.

   e. Gebruik zo nodig een nieuwe wegwerptransferpipet om luchtbellen of schuim te verwijderen.

   f. Wanneer de laatste dop eraf is gehaald, plaatst u het monsterrek in een monstervak.

      Opmerking: *Als u tegelijkertijd andere assays met andere typen monsters uitvoert, zet de monsterhouder dan vast voordat u het monsterrek in het monstervak plaatst.*

   g. Herhaal stappen 2.a tot en met 2.f voor het volgende monsterrek.

Procedurele opmerkingen

A. Kalibrator en controles

1. De qHCV-positieve kalibrator, de qHCV-laag-positieve controle-, qHCV-hoog-positieve controle- en qHCV-negatieve-controlebuisjes kunnen in elke positie in het monsterrek en in elke monsterbaybaan op het Panther-systeem worden geplaatst. Specimens worden gepipetteerd wanneer aan een van de volgende twee voorwaarden is voldaan:
   a. De kalibrator en controles worden op het moment verwerkt door het systeem.

   b. Geldige resultaten voor de kalibrator en controles worden in het systeem geregistreerd.
2. Wanneer de kalibrator en controlebuizen zijn gepipetteerd en voor de Aptima HCV Quant Dx-assay-reagenskit worden verwerkt, kunnen specimens tot maximaal 24 uur met de bijbehorende gereconstitueerde kit worden getest **behalve** in de volgende gevallen:
   a. De resultaten voor de kalibrator of controles zijn ongeldig.

   b. De bijbehorende assay-reagenskit is uit het systeem verwijderd.

   c. De bijbehorende assay-reagenskit heeft de stabiliteitsgrenzen overschreden.
3. De kalibrator en elke controlebuis kan maar één keer worden gebruikt. Pogingen om de buis vaker dan een keer te gebruiken kunnen leiden tot verwerkingsfouten.

B. Handschoenpoeder

Net als bij elk reagenssysteem kan overmatig poeder van sommige handschoenen geopende buizen vervuilen. Poederloze handschoenen worden daarom aanbevolen.

Kwaliteitscontrole

Het resultaat van een run of specimen kan door een gebruiker ongeldig worden verklaard als technische, bedienings- of instrumentproblemen zijn waargenomen tijdens de uitvoering van de assay en deze zijn genoteerd. In dit geval moeten specimens opnieuw worden getest.

Assaykalibratie

Voor geldige resultaten moet een assay gekalibreerd zijn. Eén enkele positieve kalibrator wordt in drievoud uitgevoerd telkens wanneer een reagenskit in het Panther-systeem wordt geplaatst. Zodra die is vastgesteld, is de kalibratie maximaal 24 uur geldig. Software op het Panther-systeem waarschuwt de gebruiker wanneer kalibratie nodig is. De gebruiker scant een kalibratiecoëfficiënt van het streepjescodeblad van de hoofdpartij dat met elke reagenskit is meegeleverd.

Bij verwerking worden criteria voor het accepteren van de kalibrator automatisch geverifieerd door de software op het Panther-systeem. Als minder dan twee van de kalibratorreplica's geldig zijn, beschouwt de software de run automatisch als ongeldig. Monsters in een ongeldige run moeten opnieuw worden getest met vers voorbereide kalibrator en controles.

Negatieve en positieve controles

Voor geldige resultaten moet een set assaycontroles worden getest. Eén replica van de negatieve controle, de laag-positieve controle en de hoog-positieve controle moet telkens wanneer een reagenskit in het Panther-systeem wordt geplaatst, worden getest. Zodra die zijn vastgesteld, zijn de controles maximaal 24 uur geldig. Software op het Panther-systeem waarschuwt de gebruiker wanneer controles nodig zijn.

Bij verwerking worden criteria voor het accepteren van controles automatisch geverifieerd door de software op het Panther-systeem. Voor geldige resultaten moet de negatieve controle het resultaat "Niet gedetecteerd" opleveren en de resultaten van de positieve controles moeten binnen de vooraf gedefinieerde parameters vallen (LPC Nominal Target: 2,36 $\log_{10}$ IE/ml, HPC Nominal Target: 5,36 $\log_{10}$ IE/ml). Als een van de controles een ongeldig resultaat heeft, beschouwt de software de run automatisch als ongeldig. Monsters in een ongeldige run moeten opnieuw worden getest met vers voorbereide kalibrator en controles.

Interne kalibrator/interne controle

Elk monster bevat een interne kalibrator/interne controle (IC). Bij verwerking worden IC-acceptatiecriteria automatisch geverifieerd door de Panther-systeemsoftware. Als een IC-resultaat ongeldig is, wordt het monsterresultaat als ongeldig beschouwd. Elk monster met een ongeldig IC-resultaat moet opnieuw worden getest voor een geldig resultaat.

De Panther-systeemsoftware is ontworpen om processen nauwkeurig te verifiëren wanneer procedures worden uitgevoerd volgens de instructies in deze bijsluiter en de *gebruikershandleiding van het Panther/Panther Fusion Systeem*.

Interpretatie van resultaten

Het Panther-systeem stelt automatisch de HCV-RNA-concentratie vast voor specimens en controles door de resultaten te vergelijken met een kalibratiecurve. HCV-RNA-concentraties worden vermeld in IE/ml en log_{10} IE/ml. De interpretatie van de resultaten staat in Tabel 1. Als de verdunning van 1:3 of 1:100 wordt gebruikt voor verdunde specimens, berekent het Panther-systeem automatisch de HCV-RNA-concentratie voor het zuivere specimen door de verdunde concentratie te vermenigvuldigen met de verdunningsfactor en verdunde specimens worden gemarkeerd als verdund.

Opmerking: *Voor verdunde specimens mogen resultaten met de vermelding "Niet gedetecteerd" of "<10 gedetecteerd" worden gegenereerd door verdunning van een specimen met een concentratie hoger dan, maar niet ver verwijderd van, de LoD (detectielimiet) of LLoQ (ondergrens van kwantificering). Aanbevolen wordt nog een verdund specimen af te nemen en te testen als er geen kwantitatief resultaat wordt verkregen.*

Het Panther-systeem levert geen kwalitatief resultaat (d.w.z. "reactief" of "niet-reactief") voor diagnostisch gebruik. De gebruiker moet de gerapporteerde HCV-RNA-concentratie interpreteren naar een kwalitatief resultaat (Tabel 1). Specimens met het resultaat "Niet gedetecteerd" zijn niet-reactief voor HCV-RNA. Specimens met resultaten vermeld als "<10 gedetecteerd" met resultaten vermeld binnen het lineaire bereik, en >100.000.000 (bovenste kwantificeringslimiet) geven aan dat HCV-RNA is gedetecteerd en dat deze specimens reactief zijn voor HCV-RNA.

Tabel 1: Interpretatie van resultaten

Gerapporteerd resultaat Aptima HCV Quant Dx-assay		Interpretatie van HCV-RNA-concentratie	Diagnostische kwalitatieve interpretatie door de gebruiker[a]
IE/ml	Log_{10} Waarde[b]		
Niet gedetecteerd	Niet gedetecteerd	HCV-RNA niet gedetecteerd.	Niet-reactief voor HCV-RNA
<10 gedetecteerd	<1,00	HCV-RNA is gedetecteerd maar in een concentratie lager dan de LLoQ (ondergrens van kwantificering)	Reactief voor HCV-RNA
10 tot 100.000.000	1,00 tot 8,00	De HCV-RNA-concentratie ligt binnen het lineaire bereik van 10 tot 100.000.000 IE/ml	Reactief voor HCV-RNA
> 100.000.000	> 8,00	HCV-RNA-concentratie is hoger dan de ULoQ (bovengrens van kwantificering)	Reactief voor HCV-RNA
Ongeldig[c]	Ongeldig[c]	Er is een fout opgetreden bij het genereren van het resultaat. Specimen moet opnieuw worden getest	Ongeldig

[a] Een diagnostische interpretatie kan worden gemaakt van serum- of plasmaspecimens die niet zijn verdund.
[b] Waarde wordt afgekapt tot op twee decimalen.
[c] Ongeldige resultaten worden weergegeven in een blauw lettertype.

De acceptatiecriteria voor elk van de controles van de Aptima HCV Quant Dx-assay worden beschreven in Tabel 2.

Opmerking: *Het herstelbereik hieronder verandert per toegewezen waarde van elke specifieke lot. De specifieke waarde voor elke controle is vermeld op het blad met de streepjescode in de controledoos.*

Tabel 2: Acceptatiecriteria voor herstelbereik voor de Aptima HCV Quant Dx-assay-controles

Component	Herstelbereik voor geldige runs
Negatieve controle	N.v.t.
Laag-positieve controle	+/- 0,5 log_{10} IE/mL
Hoog-positieve controle	+/- 0,5 log_{10} IE/mL

Beperkingen

A. Alleen personeel dat is getraind in de procedure mag deze assay gebruiken. Het niet naleven van de instructies in deze bijsluiter kan leiden tot foutieve resultaten.

B. Betrouwbare resultaten zijn afhankelijk van een adequate afname, transport, opslag en verwerking van specimens.

C. Hoewel zeldzaam, kunnen mutaties in de sterk geconserveerde gebieden van het virale genoom die worden gedekt door de primers en/of sondes in de Aptima HCV Quant Dx-assay ertoe leiden dat het virus niet wordt gedetecteerd.

Analytische prestaties

Detectielimiet (LoD) volgens de 2e internationale standaard van de WHO

De detectielimiet (LoD) van de test wordt gedefinieerd als de concentratie van HCV-RNA die wordt gedetecteerd met een waarschijnlijkheid van 95% of meer volgens CLSI EP17-A2.[18]

De LoD werd bepaald door testpanels van de 2e internationale standaard van de WHO voor het hepatitis C-virus-RNA (NIBSC 96/798 genotype 1) verdund in HCV-negatief menselijk EDTA-plasma en -serum. Minimaal 36 replica's van elke verdunning werden getest met een van drie reagenspartijen voor minimaal 108 replica's per verdunning. Een waarschijnlijkheidsanalyse werd uitgevoerd voor de voorspelde detectielimieten. De LoD-waarden zijn de resultaten van de reagenspartij met de hoogste voorspelde detectielimiet. De 95% LoD voor de Aptima HCV Quant Dx-assay met behulp van de 2e internationale standaard van de WHO is 4,3 IE/ml voor plasma en 3,9 IE/ml voor serum.

Detectielimiet voor alle HCV-genotypen

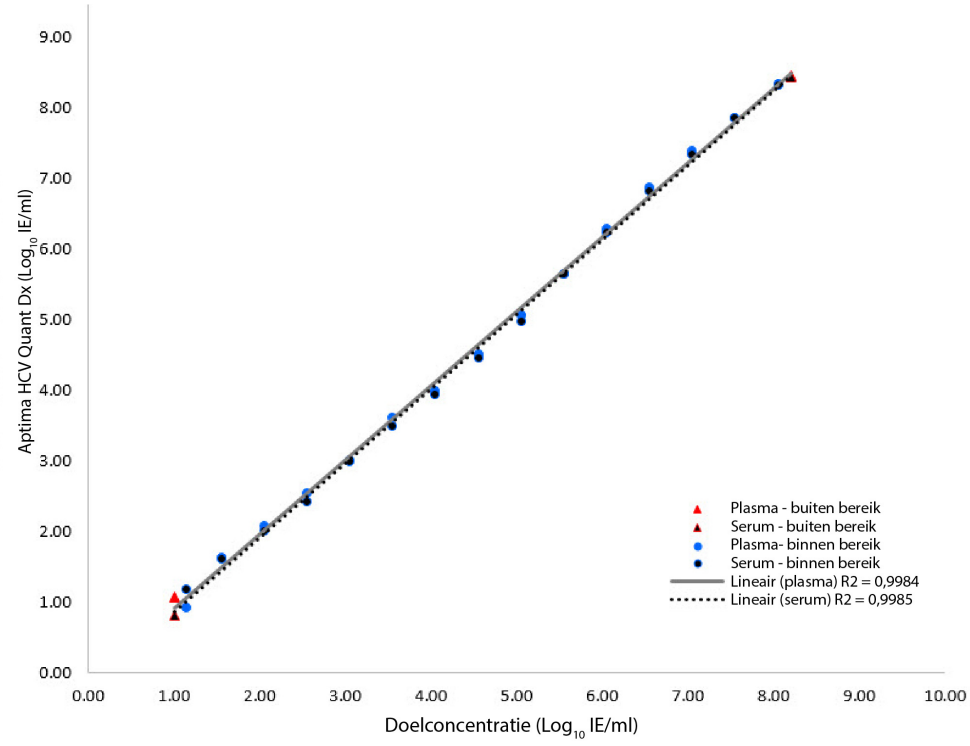
De LoD werd bepaald op grond van testen met verdunde HCV-positieve klinische specimens voor genotypen 1, 2, 3, 4, 5 en 6 in menselijk HCV-negatief plasma en serum. Concentraties werden bepaald met behulp van een goedgekeurde assay. Minimaal 20 replica's van elk panellid werden getest met elke van drie reagenspartijen voor minimaal 60 replica's per panellid. Een waarschijnlijkheidsanalyse werd uitgevoerd voor 95% voorspelde detectielimieten. De LoD-waarden weergegeven in Tabel 3 zijn de resultaten van de reagenspartij met de hoogste voorspelde detectielimiet.

Tabel 3: Detectielimiet voor alle HCV-genotypen met behulp van klinische specimens

Genotype	Voorspelde detectielimiet	Concentratie (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

Lineair bereik

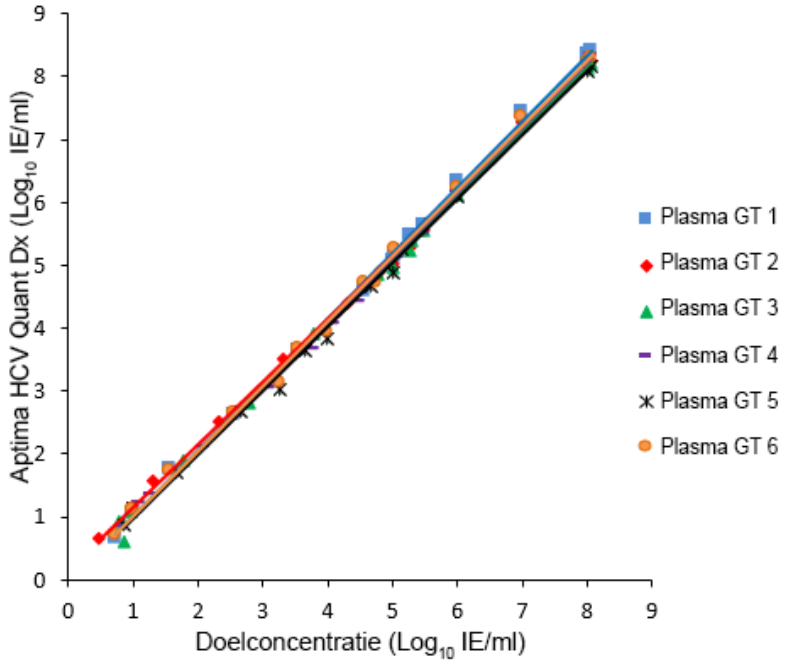
Het lineaire bereik werd vastgesteld door testen van panels van HCV 1a Armored RNA (aRNA) verdund in HCV-negatief menselijk plasma en serum volgens CLSI EP06-A.[19] Panelen varieerden in concentratie van 1,0 log_{10} IE/ml tot 8,2 log_{10} IE/ml. De Aptima HCV Quant Dx-assay vertoonde lineariteit over het geteste bereik, met een bovengrens van kwantificering (ULoQ) van 8,0 log_{10} IE/ml, zoals weergegeven in Afbeelding 6.



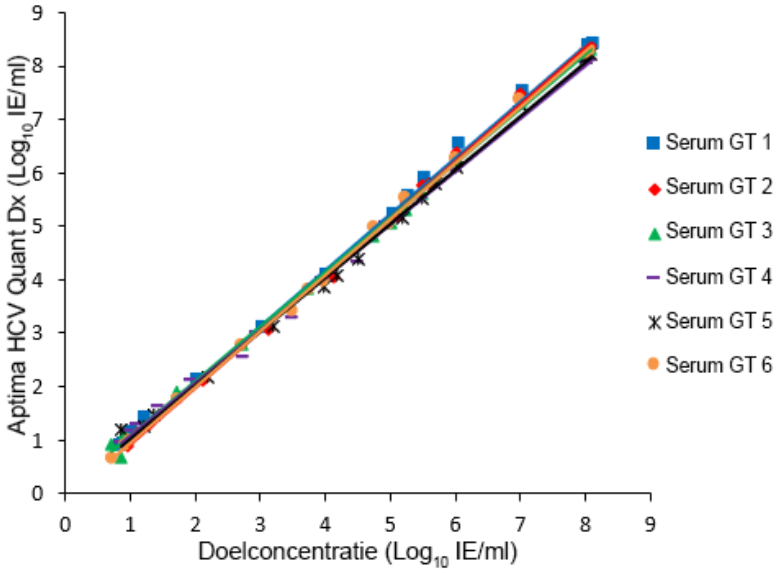
Afbeelding 6. Lineariteit in plasma en serum

Lineariteit voor alle HCV-genotypen

De lineariteit en het lineaire bereik van HCV-genotypes 1 (1a voor plasma en 1b voor serum) tot en met 6 werd vastgesteld door het testen van verdunde individuele klinische positieven, één voor elk HCV-genotype voor het lagere bereik van de assay gecombineerd met aRNA (HCV 1a) voor de hoger bereik van de assay (meer dan 100.000 IE/ml). Verdunningen in zowel negatief menselijk plasma als serum werden getest op alle genotypen. Lineariteit werd aangetoond voor alle zes de genotypen in het geteste bereik, zoals weergegeven in Afbeelding 7 voor plasma en in Afbeelding 8 voor serum.



Afbeelding 7. Lineair bereik en lineariteit (Plasma)



Afbeelding 8. Lineair bereik en lineariteit (Serum)

Ondergrens van kwantificering op basis van de 2e internationale standaard van de WHO

De ondergrens van kwantificering (LLoQ) wordt gedefinieerd als de laagste concentratie waarbij HCV-RNA betrouwbaar wordt gekwantificeerd binnen een totale fout, volgens CLSI EP17-A2.[18] De totale fout werd geschat met behulp van twee methoden: Totale analytische fout (TAE) = |bias| + 2SD, en totale fout (TE) = SQRT(2) x 2SD. Om nauwkeurigheid en precisie van metingen te garanderen, werd de totale fout van de Aptima HCV Quant Dx-assay ingesteld op 1 $\log_{10}$ IE/ml (d.w.z. bij de LLoQ is het verschil tussen twee metingen van meer dan 1 $\log_{10}$ IE/ml statistisch significant).

De LLoQ werd bepaald op grond van testen met panels van de 2e internationale WHO-norm voor hepatitis C-virus-RNA (NIBSC 96/798 genotype 1) verdund in menselijk HCV-negatief plasma en serum. Zesendertig (36) replica's van elke verdunning werden getest met elk van de drie reagenspartijen voor een minimum van 108 replica's per verdunning. De resultaten van de reagenspartij met de hoogste concentratie gelijk aan of hoger dan de LoD die voldeden aan de eisen voor TE en TAE, zijn in Tabel 4 weergegeven voor plasma en in Tabel 5 voor serum. De LLoQ voor de tweede internationale standaard van de WHO is 7 IE/ml (0,82 $\log_{10}$ IE/ml) voor plasma en 9 IE/ml (0,93 $\log_{10}$ IE/ml) voor serum, zoals samengevat in Tabel 6. De LLoQ is opgesteld voor alle genotypen (zie *Bepaling van de ondergrens van kwantificering (LLoQ) voor alle HCV-genotypen*). Deze gegevens over genotypen stelden de totale LLoQ voor de assay op 10 IE/ml.

Tabel 4: LLoQ volgens de 2e internationale standaard van de WHO voor HCV verdund in plasma

Reagenspartij	Aptima HCV Quant Dx (IE/ml)	Aptima HCV Quant Dx ($\log_{10}$ IE/ml)	SD ($\log_{10}$ IE/ml)	Bias ($\log_{10}$ IE/ml)	Berekende TE ($\log_{10}$ IE/ml)	Berekende 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 = standaarddeviatie

Tabel 5: LLoQ volgens de 2e internationale standaard van de WHO voor HCV verdund in serum

Reagenspartij	Aptima HCV Quant Dx (IE/ml)	Aptima HCV Quant Dx ($\log_{10}$ IE/ml)	SD ($\log_{10}$ IE/ml)	Bias ($\log_{10}$ IE/ml)	Berekende TE ($\log_{10}$ IE/ml)	Berekende 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 = standaarddeviatie

Tabel 6: Samenvatting van de LLoQ volgens de 2e internationale standaard van de WHO voor HCV

Reagenspartij	Plasma LLoQ		Serum LLoQ	
	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

Bepaling van de ondergrens van kwantificering (LLoQ) voor alle HCV-genotypen

De LLoQ werd bepaald op grond van testen met verdunde HCV-positieve klinische specimens voor genotypen 1, 2, 3, 4, 5 en 6 in menselijk HCV-negatief plasma en serum. Toewijzing van de concentratie voor klinische specimens werd bepaald met behulp van een vergelijkend assay. Zesendertig (36) replica's van elk panellid werden getest met elk van drie reagenspartijen voor een minimum van 108 replica's per panellid. De resultaten van de reagenspartij met de hoogste concentratie gelijk aan of groter dan de LoD en die voldoet aan de TE en TAE, berekend volgens CLSI EP 17-A2,[18] vereisten worden weergegeven in Tabel 7 voor plasma en in Tabel 8 voor serum. Er wordt slechts één resultaat groter dan en kleiner dan de LLoQ per genotype gerapporteerd in Tabel 7 en Tabel 8 hieronder, aangezien deze resultaten het best de verwachte LLoQ weerspiegelen. De LLoQ voor genotypen 1 tot en met 6 in plasma en serum zijn samengevat in Tabel 9. Genotype 6 had de hoogste LLoQ voor serum bij 10 IE/ml. Hiermee werd de totale LLoQ voor de assay vastgesteld op 10 IE/ml.

Tabel 7: Bepaling van LLoQ over genotypen in plasma

Genotype	Aptima HCV Quant Dx[a] (IE/ml)	Aptima HCV Quant Dx[a] (log_{10} IE/ml)	SD (log_{10} IE/ml)	Bias (log_{10} IE/ml)	Berekende TE (log_{10} IE/ml)	Berekende 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 = standaarddeviatie

[a]Er zijn extra niveaus uitgevoerd, maar deze gegevens worden niet vermeld in de tabel.

Tabel 8: Bepaling van LLoQ voor alle genotypen in serum

Genotype	Aptima HCV Quant Dx[a] (IE/ml)	Aptima HCV Quant Dx[a] (log_{10} IE/ml)	SD (log_{10} IE/ml)	Bias (log_{10} IE/ml)	Berekende TE (log_{10} IE/ml)	Berekende 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 = standaarddeviatie

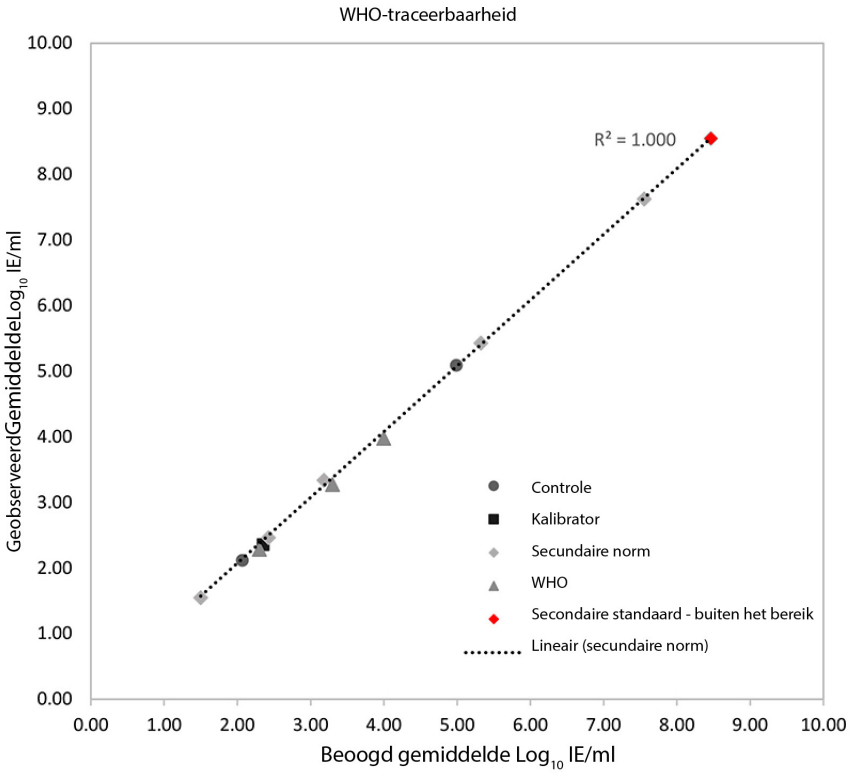
[a]Er zijn extra niveaus uitgevoerd, maar deze gegevens worden niet vermeld in de tabel.

Tabel 9: Samenvatting van LLoQ over genotypen in plasma en serum

HCV-genotype	Plasma LLoQ		Serum LLoQ	
	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

Traceerbaarheid volgens de WHO-standaard

Een reeks secundaire standaarden met bekende concentraties werden gebruikt tijdens de productontwikkeling en productproductie om traceerbaarheid naar de WHO-standaard vast te stellen. De geteste concentraties voor de HCV WHO-standaard lagen tussen 4,00 en 2,30 log_{10} IE/ml. De secundaire standaarden varieerden in concentratie van 1,50 tot 8,46 log_{10} IE/ml. De controles en kalibrators van de Aptima HCV Quant Dx-assay werden ook getest samen met de secundaire standaarden en de WHO-standaard. Alle panels hadden vergelijkbare resultaten en ze waren lineair verdeeld over het lineaire bereik van de assay, zoals weergegeven in Afbeelding 9.



Afbeelding 9. Traceerbaarheid tussen de 2e WHO-standaard voor HCV-doelconcentraties en waargenomen concentratie van de Aptima HCV Quant Dx Assay

Precisie

Het Aptima HCV Quant Dx-precisiepanel is gebouwd door HCV-positief klinisch plasma en HCV 1a-aRNA te verdunnen tot HCV-negatief klinisch plasma (de twee hoogste panelleden waren aRNA). Zeven positieve panelleden overspanden het bereik van de assay (1,86 log_{10} IE/ml tot 7,68 log_{10} IE/ml) en werden getest in drie replica's per run door één laborant met behulp van één proefpartij reagentia op één Panther-systeem gedurende 21 testdagen, twee runs per dag.

Tabel 10 toont de precisie van assayresultaten (in log_{10} IE/ml) tussen runs, binnen runs en in totaal. De totale variabiliteit was ≤ 0,14 voor alle panelleden, voornamelijk als gevolg van intra-run variabiliteit (d.w.z. willekeurige fouten).

Tabel 10: Precisie van de Aptima HCV Quant Dx-assay

N	Gemiddelde concentratie (IE/ml)	Gemiddelde concentratie (log_{10} IE/ml)	Tussen dagen SD	Tussen runs SD	Binnen runs SD	Totaal 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 = standaarddeviatie

[a] Het aantal geldige resultaten binnen het lineaire bereik van de assay.

Opmerking: Variabiliteit van sommige factoren kan numeriek negatief zijn, wat soms het geval is als de variabiliteit als gevolg van die factoren zeer klein is. Wanneer dit gebeurt, wordt SD weergegeven als 0,00.

Potentieel storende stoffen

De gevoeligheid van de Aptima HCV Quant Dx-assay voor interferentie door een verhoogd gehalte aan endogene stoffen of door geneesmiddelen die veelal worden voorgeschreven aan met HCV geïnfecteerde personen, is geëvalueerd. HCV-negatieve plasmamonsters en monsters verrijkt met HCV tot een concentratie van ongeveer 15 IE/ml (1,2 log_{10} IE/ml) of 1.995 IE/ml (3,3 log_{10} IE/ml) HCV-RNA werden getest.

Er is geen interferentie in de prestaties van de assay waargenomen in aanwezigheid van albumine (90 mg/ml), hemoglobine (5 mg/ml), triglyceriden (30 mg/ml) of niet-geconjugeerd bilirubine (0,2 mg/ml).

Klinische plasmaspecimens van patiënten met verhoogde niveaus van gedefinieerde stoffen of van patiënten met de ziekten, tien monsters voor elke stof, vermeld in Tabel 11 werden getest met de Aptima HCV Quant Dx-assay. Er is geen interferentie in de prestaties van de assay waargenomen.

Tabel 11: Geteste typen klinische specimens

	Typen klinische specimens
1	Reumatoïde factor (RF)
2	Antinucleaire antistoffen (ANA)
3	Anti-Jo-1-antistoffen (JO-1)
4	Systemische lupus erythematodes (SLE)
5	Reumatoïde artritis (RA)
6	Multiple sclerose (MS)
7	Hyperglobulinemie
8	Verhoogde alanineaminotransferase (ALT)
9	Verhoogde aspartaataminotransferase (AST)
10	Alcoholcirrose (AC)
11	Multipel myeloom (MM)
12	Lipemisch (verhoogde lipiden)
13	Icterisch (verhoogde bilirubine)
14	Gehemolyseerd (verhoogde hemoglobine)
15	Verhoogde eiwittten/albumine
16	HBV-antilichamen
17	HIV-1-antilichamen
18	HIV-2-antilichamen

Er werd geen interferentie met de uitvoering van de assay waargenomen in de aanwezigheid van de exogene substanties vermeld in Tabel 12 bij concentraties van ten minste driemaal de C_{max} (menselijk plasma).

Tabel 12: Exogene stoffen

Exogeen Stoffenpool	Geteste exogene stoffen
1	Telaprevir, claritromycine, interferon-alfa-2a, dolutegravir, azitromycine
2	Simeprevir, sofosbuvir
3	Efavirenz, boceprevir, gepegyleerd interferon-alfa-2b, emtricitabine, raltegravir, amoxicilline
4	Abacavir (als sulfaat), ribavirine, dasabuvir, rilpivirine, rifampicine
5	Lopinavir, tenofovir, lamivudine, valganciclovir
6	Heparine, EDTA, natriumcitraat

Prestaties met HCV-negatieve specimens

De specificiteit werd bepaald op basis van 198 verse en 538 bevroren klinische HCV-negatieve specimens. Met goedgekeurde assays werd bevestigd dat in totaal 370 plasma- en 366 serumspecimens HCV-negatief waren. De specificiteit werd berekend als het percentage HCV-negatieve monsters met "Niet gedetecteerd" als resultaat. HCV-RNA werd in geen van de 736 monsters aangetroffen. De specificiteit was 100% (736/736, 95% BI: 99,6 - 100%).

Tabel 13: Prestaties in klinische HCV-negatieve plasma- en serumspecimens

	Vers plasma	Bevroren plasma	Plasma Totaal	Vers Serum	Bevroren serum	Serum Totaal	Gecombineerd
Geldige replica's (n)	100	270	370	98	268	366	736
Niet gedetecteerd	100	270	370	98	268	366	736
Specificiteit (95% BI)	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)

BI=betrouwbaarheidsinterval

Analytische specificiteit

Potentiële kruisreactiviteit met de ziekteverwekkers vermeld in Tabel 14 werd geëvalueerd in HCV-negatief menselijk plasma in de aan- of afwezigheid van ongeveer 15 IE/ml (1,2 $\log_{10}$ IE/ml) of 1.995 IE/ml (3,3 $\log_{10}$ IE/ml) HCV. Er werd geen kruisreactiviteit waargenomen. Er werd geen interferentie waargenomen in aanwezigheid van pathogenen.

Tabel 14: Pathogenen getest op analytische specificiteit

Pathogeen	Concentratie	
Hepatitis-A-virus	100.000	exemplaren/ml
Hepatitis-B-virus (HBV)	100.000	IE/ml[a]
Hepatitis-G-virus	1.470	genoom/ml
HIV-1	100.000	exemplaren/ml
HIV-2	100.000	PFU/ml[b]
Herpes-simplex-virus 1 (HSV-1)	100.000	PFU/ml
Herpes-simplex-virus 2 (HSV-2)	100.000	PFU/ml
Menselijk herpesvirus 6B	100.000	exemplaren/ml
Menselijk herpesvirus 8	2.667	TCID50 U/ml[c]
Menselijke T-cel lymfotroop virustype 1 (HTLV-1)	100.000	vp/ml[d]
Menselijke T-cel lymfotroop virustype 2 (HTLV-2)	100.000	vp/ml
Parvovirus B19	100.000	IE/ml
West-Nijlvirus	100.000	PFU/ml
Denguevirus 1	100.000	PFU/ml
Denguevirus 2	100.000	PFU/ml
Denguevirus 3	100.000	PFU/ml
Denguevirus 4	100.000	PFU/ml
Cytomegalovirus	100.000	PFU/ml
Epstein-Barr-virus	100.000	exemplaren/ml
Rubellavirus	100.000	PFU/ml
Menselijk papillomavirus	100.000	cellen/ml
Adenovirus type 5	100.000	TCID50 U/ml
Influenza A-virus	100.000	TCID50 U/ml
Japanse-encefalitisvirus	N.v.t.	N.v.t.
Saint-Louis-encefalitisvirus	N.v.t.	N.v.t.
Murray-Valley-encefalitisvirus	2.643	LD50/ml[e]
Gelekoortsvirus	100.000	cellen/ml

Pathogeen	Concentratie	
Corynebacterium diphtheriae	1.000.000	CFU/ml[f]
Streptococcus pneumoniae	1.000.000	CFU/ml
Staphylococcus aureus	1.000.000	CFU/ml
Propionibacterium acnes	1.000.000	CFU/ml
Staphylococcus epidermidis	1.000.000	CFU/ml
Candida albicans	1.000.000	CFU/ml
Neisseria gonorrhoeae	1.000.000	CFU/ml
Chlamydia trachomatis	1.000.000	IFU/ml[g]
Trichomonas vaginalis	1.000.000	cellen/ml

[a]IE/ml = internationale eenheden per ml
[b]PFU/ml = plaquevormende eenheid per ml
[c]TCID50 U/ml = Weefselcultuur-infectiedosiseenheden per ml
[d]vp/ml = virale deeltjes per ml
[e]LD50/ml = dodelijke dosis per ml
[f]CFU/ml = kolonievormende eenheden per ml
[g]IFU/ml = inclusievormende eenheden per ml

Klinische monsters met andere virussen dan HCV

De pathogenen uit Tabel 15 werden geëvalueerd op basis van individuele op natuurlijke wijze geïnfecteerde klinische specimens. Deze werden getest in aanwezigheid of afwezigheid van ongeveer 15 IE/ml (1,2 $\log_{10}$ IE/ml) of 1.995 IE/ml (3,3 $\log_{10}$ IE/ml) HCV-virus. Er werd geen kruisreactiviteit waargenomen. Er werd geen interferentie waargenomen.

Tabel 15: Klinische monsters getest op analytische specificiteit

Micro-organisme	Matrix	N (donoren)
HBV	Serum	5
HBV	Plasma	5
Denguevirus	Plasma	10
Hepatitis-A-virus	Plasma	10
HTLV-1	Plasma	10
HTLV-2	Plasma	10
HIV-1	Plasma	10
West-Nijlvirus	Plasma	10

Matrix-equivalentie

Honderdzesenzeventig monstersets van bijpassende bloedafnamebuisjes (serumbuisjes, SST, PPT, ACD, K2 EDTA, K3 EDTA) werden beoordeeld op matrix-equivalentie. Van deze monstersets waren er 68 van nature geïnfecteerde HCV-positieve en 108 waren HCV-negatieve sets. Zesentwintig van de 68 positieven werden verder verdund met 13 negatieve monsters van overeenkomende bloedafnamebuisjes op 1:10, 1:100 en 1:1.000 of 1:100, 1:10.000 en 1:100.000, met concentraties over het dynamische bereik van de assay (146 positieve herhalingen per verzamelbuisje). De correlatie werd gemeten door het verzamelbuisje voor serum als vergelijker te gebruiken.

Tabel 16: Matrix-equivalentieonderzoek

Bloedafnamebuis	Deming-regressie	95% B.I. van helling		95% B.I. van Intercept		R^2	Gemiddelde verschil ($\log_{10}$)
		Onder Limiet	Bovenlimiet	Onderlimiet	Boven Limiet		
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

Specimenverdunning met behulp van Aptima-specimenverdunningsmiddel (1:3)

Om de detectienauwkeurigheid van HCV-RNA in monsters verdund met Aptima-specimenverdunningsplasma of -serum te beoordelen, werden monsters van 1,67 log_{10} IE/ml tot 6,34 log_{10} IE/ml 1:3 verdund met Aptima-specimenverdunningsmiddel (240 µl aan monsters gecombineerd met 480 µl Aptima-specimenverdunningsmiddel). Elk monster werd puur en verdund (1:3) in drievoud getest. De testen werden uitgevoerd met één partij assayreagentia op één Panther-systeem met twee partijen Aptima-specimenverdunningsmiddel. Het verschil tussen de zuivere en verdunde testresultaten werd berekend voor elke monsterset zoals weergegeven in Tabel 17 voor plasma en in Tabel 18 voor serum.

Tabel 17: Plasmaspecimen 1:3 verdunningsmatrix vergelijkingssamenvatting van log_{10} IE/ml

Plasma-matrix Gemiddelde gerapporteerde concentratie (log_{10} IE/ml) n = 3	Verdunningsmiddel Gemiddelde gerapporteerde concentratie (log_{10} IE/ml) n = 6	Verschil Verdunningsmiddel van 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]Resultaat van twee replica's. Eén resultaat "Gedetecteerd", maar niet gekwantificeerd.
[b]Resultaat van vier replica's. Twee resultaten "Gedetecteerd", maar niet gekwantificeerd.

Tabel 18: Serumspecimen 1:3 verdunningsmatrix vergelijkingssamenvatting van log_{10} IE/ml

Serummatrix Gemiddelde gerapporteerde concentratie (log_{10} IE/ml) n = 3	Verdunningsmiddel Gemiddelde gerapporteerde concentratie (log_{10} IE/ml) n = 6	Verschil Verdunningsmiddel van serummatrix (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]Resultaat van twee replica's. Eén resultaat "Gedetecteerd", maar niet gekwantificeerd.

Specimenverdunning met behulp van Aptima-specimenverdunningsmiddel (1:100)

Om de detectienauwkeurigheid van HCV-RNA te beoordelen in monsters die zijn verdund met Aptima-specimenverdunningsplasma of -serum, vijf natuurlijk geïnfecteerde plasmaspecimens en vijf natuurlijk geïnfecteerde serumspecimens, samen met elk tien specimens van HCV-negatief plasma en serum verrijkt met HCV-aRNA-targeting boven de ULoQ, 8 log $_{10}$ IE/ml bij 8.30 log $_{10}$ IE/ml werden in drievoud getest. Vlak vóór het testen werd een verdunning van 1:100 uitgevoerd met één deel monster en 99 delen Aptima-specimenverdunningsmiddel. De testen werden uitgevoerd met één partij assayreagentia op één Panther-systeem met twee partijen Aptima-specimenverdunningsmiddel. Het verschil tussen de zuivere en verdunde testresultaten werd berekend voor elke monsterset zoals weergegeven in Tabel 19 voor plasma en in Tabel 20 voor serum.

Tabel 19: Plasmaspecimen 1:100 verdunningsmatrix vergelijkingssamenvatting van log $_{10}$ IE/ml

Matrix	Verdunning	Plasma-matrix Gemiddelde gerapporteerde concentratie (log_{10} IE/ml) n = 3	Verdunningsmiddel Gemiddelde gerapporteerde concentratie (log_{10} IE/ml) n = 6	Verschil
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]Verrijkt specimen

Tabel 20: Serumspecimen 1:100 verdunningsmatrix vergelijkingssamenvatting van log_{10} IE/ml

Matrix	Verdunning	Serummatrix Gemiddelde gerapporteerde concentratie (log_{10} IE/ml) n = 3	Verdunningsmiddel Gemiddelde gerapporteerde concentratie (log_{10} IE/ml) n = 6	Verschil
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]Verrijkt specimen
[b]Resultaat van twee van de drie geteste replica's. Eén afwijkende replica is verwijderd.

Bevestiging van de LLoQ in klinische specimens verdund in specimenverdunningsmiddel

De LLoQ van de Aptima HCV Quant-assay werd bevestigd met HCV genotype 1 klinische specimens verdund in Aptima-specimenverdunningsmiddel. Specimens werden bereid in HCV-negatief menselijk plasma en serum met 21, 30 en 45 IE/ml. Elk panel werd vlak vóór het testen 1:3 verdund in Aptima-specimenverdunningsmiddel om uiteindelijke concentraties van ongeveer 7, 10 en 15 IE/ml op te leveren. Gedurende drie dagen werden 36 replica's van elk panellid getest met één reagenspartij. Een LLoQ ≤10 IE/ml voor HCV-plasma en serum verdund in Aptima-specimenverdunningsmiddel werd bevestigd zoals weergegeven in Tabel 21.

Tabel 21: Bevestiging van LLoQ – Klinische specimens in Aptima-specimenverdunningsmiddel

Matrix	Targetconcentratie (IE/ml)	Targetconcentratie (log_{10} IE/ml)	% Gedetecteerd	Aptima HCV Quant Dx (IE/ml)	Aptima HCV Quant Dx (log_{10} IE/ml)	SD (log_{10} IE/ml)	Bias (log_{10} IE/ml)	Berekende TE (log_{10} IE/ml)	Berekende 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

Precisie van verdunde monsters

Het Aptima HCV Quant Dx-precisiepaneel is gebouwd door HCV-positief klinisch plasma en HCV-aRNA te verdunnen tot HCV-negatief klinisch plasma. Deze werden verder verdund in Aptima-specimenverdunningsmiddel. Positieve panelen werden verdund in Aptima-specimenverdunningsmiddel. Deze werden getest in drie replica's per run door één laborant, waarbij één proefpartij reagentia op één Panther-systeem werd gebruikt gedurende 21 testdagen, twee runs per dag.

Tabel 22 toont de precisie van assayresultaten (in $\log_{10}$ IE/ml) tussen runs, binnen runs, tussen dagen en in totaal. De totale variabiliteit was ≤ 0,15 voor alle panelleden, voornamelijk als gevolg van intra-run variabiliteit (d.w.z. willekeurige fouten).

Tabel 22: Precisie van panelen verdund in Aptima-specimenverdunningsmiddel

Verdunning	N	Gemiddelde concentratie ($\log_{10}$ IE/ml)	Standaarddeviatie			
			Tussen dagen	Tussen runs	Binnen runs	Totaal
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]Aantal geldige resultaten binnen het lineaire bereik van de assay

Opmerking: *De variabiliteit van sommige factoren kan numeriek negatief zijn, wat kan optreden als de variabiliteit als gevolg van die factoren erg klein is. Wanneer dat het geval is, worden SD en CV weergegeven als 0.*

Vermenging

Om vast te stellen dat het Panther-systeem het risico van fout-positieve resultaten als gevolg van vermenging minimaliseert, is een onderzoek uitgevoerd met behulp van gespikete panels op drie Panther-systemen. Vermenging werd beoordeeld met behulp van aRNA-verrijkte plasmamonsters met een hoge titer (7 $\log_{10}$ IE/ml) afgewisseld tussen HCV-negatieve monsters in een dambordpatroon. Er zijn vijftien runs uitgevoerd voor de testen. Het totale vermeningspercentage was 0,14% (1/704)

Seroconversiepanel

Elf HCV-seroconversiepanelsets, met in totaal 72 monsters, werden getest. De resultaten van de Aptima HCV Quant Dx-assay werden vergeleken met die van HCV-antistoffen. Het aantal dagen tot het eerste reactieve resultaat staat in Tabel 23. Met de Aptima HCV Quant Dx-assay werd de aanwezigheid van HCV gemiddeld 20 dagen eerder opgemerkt dan met antistoffentests.

Tabel 23: Samenvatting seroconversiepanelgegevens

Panel-ID	Aantal geteste panelleden	Aantal panelleden met reactie			Aantal dagen tot eerste reactief resultaat			Verschil in dagen tot eerste reactief resultaat (op basis van de datum van het bloedmonster)	
		Aptima HCV Quant Dx	HCV-antistoftest1	HCV-antistoftest2	Aptima HCV Quant Dx	HCV-antistoftest1	HCV-antistoftest2	Aantal dagen eerder aantoonbaar dan met HCV-antistoftest1	Aantal dagen eerder aantoonbaar dan met HCV-antistoftest2
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
Totaal	72	66	35	32			Gemiddelde	19,36	20,73
							Mediaan	14	18

HCV-antilichaamtest1 werd voltooid met de Abbott Prism HCV-assay
HCV-antistoftest2 is uitgevoerd met de Ortho Enhanced SAVE Assay, met volgende uitzonderingen:
Panels 6227 en 6229, die beide zijn getest met de Ortho ELISA Anti-HCV 3.0-assay
[a] Eerste bloedmonster is niet getest vanwege het niet beschikbaar zijn van een monster van de leverancier.
[b] Alle bloedmonsters in dit panel waren niet-reactief voor HCV-antilichaam. De laatste dag voor bloedmonsters werd gebruikt als de "Dagen tot het eerste reactieve resultaat".
[c] Tweede bloedmonster is niet getest, omdat er geen monster van de leverancier beschikbaar was

Reproduceerbaarheidsonderzoek

De reproduceerbaarheid werd geëvalueerd op het Panther-systeem op drie externe locaties in de VS. Op elke locatie hebben twee operators testen uitgevoerd. Elke operator voerde twee runs per dag uit gedurende drie dagen, met gebruik van 3 reagenspartijen tijdens het testen. Elke run werd bij elk panellid drie keer herhaald. In totaal werden 108 replica's van elk panellid getest.

Reproduceerbaarheid werd getest met behulp van panelleden gemaakt van HCV-negatief plasma. De positieve panelleden waren positief voor HCV genotype 1, genotype 2 of genotype 3. HCV-RNA-concentraties vallen binnen het lineaire bereik van de test.

Tabel 24 toont de reproduceerbaarheid en precisie van assayresultaten voor elk positief panellid tussen locaties, tussen laboranten, tussen partijen, tussen dagen, tussen runs, binnen runs en in het algemeen, en het percentage replica's met resultaten buiten het rapporteerbare bereik van de Aptima HCV Quant Dx-assay.

De variatiecoëfficiënt werd berekend met behulp van de volgende vergelijking waarbij σ^2 de monstervariantie is van de gegevens na $\log_{10}$-transformatie.

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

Voor het HCV-negatieve panellid werden 108 replica's getest en HCV-RNA werd niet gedetecteerd in alle 108 replica's (negatieve overeenkomst=100%, 95% BI: 96,6% t/m 100%). Voor alle HCV-positieve panelleden waren de overeenkomstwaarden 100%.

Tabel 24: Reproduceerbaarheid van Aptima HCV Quant Dx Assay HCV RNA-niveaus op het Panther Systeem in positieve panelleden

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

%CV=log-normale variatiecoëfficiënt, GT=genotype, SD=standaarddeviatie (log_{10} IE/ml)

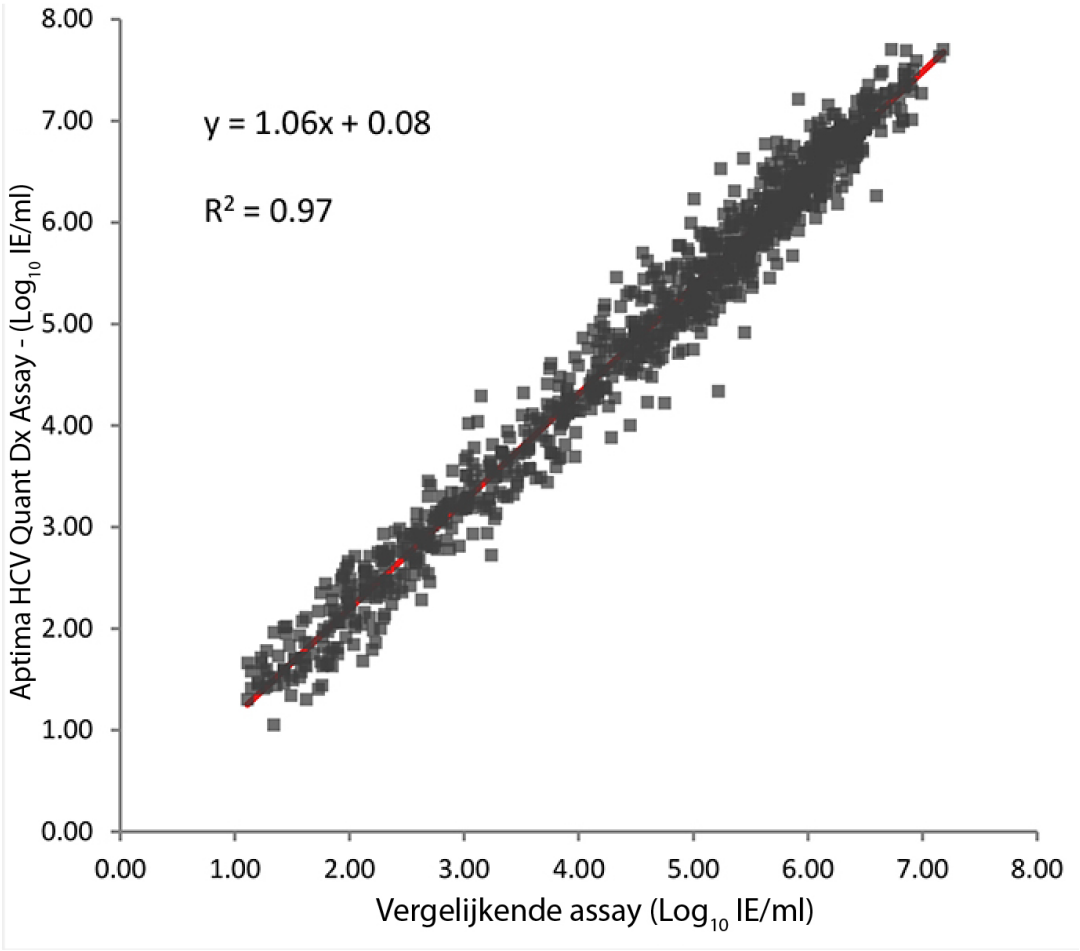
Opmerking: Variabiliteit van een aantal factoren kunnen numeriek negatief zijn. Dit kan gebeuren als de variatie als gevolg van deze factoren zeer klein is. Wanneer dat het geval is, worden SD en CV weergegeven als 0.

[a] 'Tussen laboranten' kan verward worden met 'Tussen dagen'; daarom worden de schattingen 'Tussen laboranten' en 'Tussen dagen' gecombineerd in 'Tussen laboranten/dagen'.

Klinische prestaties

Correlatie van methoden

De prestaties van de Aptima HCV Quant Dx-assay zijn afgezet tegen een vergelijkende assay met CE-markering op basis van testen met onverdunde klinische specimens afkomstig van met HCV geïnfecteerde patiënten op drie Panther-systemen met vier reagenspartijen. Er werden in totaal 1.058 plasma- en serummonsters (872 plasma, 186 serum) van alle HCV-genotypen binnen het lineaire bereik dat beide assays gemeen hebben, gebruikt voor de lineaire regressie, zoals weergegeven in Afbeelding 10.



Afbeelding 10. Correlatie tussen de Aptima HCV Quant Dx-assay en de vergelijkende assay

Klinisch bruikbaarheidsonderzoek

Het onderzoek was opgezet om de klinische bruikbaarheid aan te tonen door de prestatiekenmerken te schatten voor het bereiken van aanhoudende virologische respons (SVR) of niet-aanhoudende virologische respons (NSVR) op vastgestelde klinisch relevante tijdstippen tijdens een antivirale behandeling van 8, 12 of 24 weken. Het onderzoek beoordeelde ook de impact van covariaten (d.w.z. leeftijd, geslacht, ras, baseline HCV RNA-niveau, aan- of afwezigheid van cirrose) op de SVR-respons.

Specimens werden prospectief verzameld van proefpersonen met genotype 1, 2 en 3 die chronisch geïnfecteerd waren met HCV en die begonnen met therapie met op sofosbuvir gebaseerde behandelingen van 8, 12 of 24 weken met behulp van door de FDA goedgekeurde geneesmiddelen die werden voorgeschreven conform de door de FDA goedgekeurde etikettering en/of de richtlijnen voor de behandeling van AASLD/IDSA HCV.[20,21] Proefpersonen zonder eerdere behandeling of die wel eerder behandeld zijn met HCV en proefpersonen zonder cirrose of met gecompenseerde cirrose kwamen in aanmerking, zoals van toepassing voor elk behandelregime.

Bepaling van de HCV-RNA-virale belasting werd uitgevoerd bij aanvang, week 1, week 2, week 4, week 8, week 12 en week 24 met behulp van de Aptima HCV Quant Dx-assay. Einde van de behandeling (EOT) en follow-upresultaten na behandeling in week 4 en week 12 werden bepaald met behulp van de Aptima HCV Quant Dx-assay en twee goedgekeurde kwantitatieve HCV-RNA-assays. SVR werd gedefinieerd als een HCV RNA-niveau < LLoQ zoals bepaald door een goedgekeurde kwantitatieve assay voor het monster na behandeling in week 12.

Van de 352 proefpersonen die vanuit 35 klinische locaties in de VS waren ingeschreven, hadden 274 proefpersonen een definitieve SVR-status en konden ze worden beoordeeld voor analyse. 56 proefpersonen hadden een niet-evalueerbare SVR-status en werden niet opgenomen in de analyse. Nog eens 22 proefpersonen hadden een overtuigende SVR-status, maar waren niet waardevol vanwege ontbrekende resultaten vóór de behandeling/baseline, alle resultaten tijdens de behandeling waren <LLoQ of niet gedetecteerd, of genotypen waren niet vastgesteld met een goedgekeurde assay. In dit onderzoek bereikten 90,5% (248/274) proefpersonen SVR en 9,5% (26/274) bereikten NSVR (zie Tabel 31 t/m Tabel 33 voor tellingen per genotype en DRA). De hoogste virale belasting bij aanvang was 7,58 $\log_{10}$ IE/ml, zoals bepaald met de Aptima HCV Quant Dx-assay. Alle evalueerbare proefpersonen voltooiden de behandeling, zonder falen tijdens de behandeling (bijv. non-respons). In totaal werden op drie Amerikaanse testlocaties 2.449 monsters getest die op verschillende tijdstippen van elke proefpersoon werden verzameld.

Tabel 25 toont demografische gegevens en klinische kenmerken van de 274 evalueerbare proefpersonen.

Tabel 25: Demografische gegevens en klinische kenmerken

Kenmerken		
Totaal	N	274
Geslacht	Vrouw, n (%)	112 (40,9)
	Man, n (%)	162 (59,1)
Leeftijd (jaar)	n	274
	Gemiddelde	55,1
	Mediaan	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)
Etniciteit	n	274
	Spaans of Latijns-Amerikaans, n (%)	65 (23,7)
	Niet Spaans of Latijns-Amerikaans, n (%)	202 (73,7)
	Onbekend, n (%)	6 (2,2)
	Geweigerd, n (%)	1 (0,4)
Ras[a]	n	274
	Blank, n (%)	223 (81,4)
	Zwart of Afro-Amerikaans, n (%)	43 (15,7)
	Aziatisch, n (%)	1 (0,4)
	Inheemse inwoner van Amerika/Alaska, n (%)	3 (1,1)
	Inheemse Hawaïaanse/Pacifische eilandbewoner, n (%)	0 (0,0)
	Overig, n (%)	3 (1,1)
	Onbekend, n (%)	1 (0,4)
	Geweigerd, n (%)	0 (0,0)
Genotype	n	274
	Genotype 1, n (%)	158 (57,7)
	Genotype 2, n (%)	66 (24,1)
	Genotype 3, n (%)	50 (18,2)
HCV-behandelstatus	n	274
	Onervaren, n (%)	232 (84,7)
	Ervaren, n (%)	42 (15,3)
	Teruggevallen, n (%)	32 (76,2)
	Null-responder, n (%)	1 (2,4)
	Non-responder, n (%)	2 (4,8)
	Gedeeltelijke responder, n (%)	3 (7,1)
	Doorbraak, n (%)	1 (2,4)
	Terugkaatsing, n (%)	0 (0,0)
	Behandelrespons onbekend, n (%)	3 (7,1)
	Ontbrekend, n (%)	0 (0,0)
Cirrotische toestand	n	274
	Cirrotisch, n (%)	98 (35,8)
	Niet-cirrotisch, n (%)	176 (64,2)

[a]Proefpersonen mogen meerdere rassen melden

Tabel 26 toont de definitieve toewijzingen van het medicijnregime voor de 274 evalueerbare proefpersonen.

Tabel 26: Samenvatting van de definitieve toewijzingen van het medicijnregime van proefpersonen per genotype

Toewijzing medicijnregime	HCV-genotype n (%)		
	1	**2**	**3**
Sofosbuvir en Peginterferon en Ribavirine gedurende 12 weken	25 (15,8)	-	3 (6,0)
Sofosbuvir en Simeprevir en/of Ribavirine gedurende 12 weken	63 (39,9)	-	-
Sofosbuvir en Simeprevir en/of Ribavirine gedurende 24 weken	4 (2,5)	-	-
Sofosbuvir en Ribavirine gedurende 12 weken	-	66 (100)	-
Sofosbuvir en Ribavirine gedurende 24 weken	6 (3,8)	-	47 (94,0)
Ledipasvir en Sofosbuvir gedurende 8 weken	14 (8,9)	-	-
Ledipasvir en Sofosbuvir gedurende 12 weken	39 (24,7)	-	-
Ledipasvir en Sofosbuvir gedurende 24 weken	7 (4,4)	-	-
Totaal aantal proefpersonen die in aanmerking komen	158	66	50

Tabel 27 evalueert de associatie van baseline-covariaten (leeftijd, ras, geslacht, baseline HCV-virale belasting [binaire variabele] en cirrotische status) en SVR met behulp van de oddsratio (OR) met univariate (niet-gecorrigeerde) logistische regressieanalyse. De resultaten voor de 274 evalueerbare proefpersonen werden beoordeeld op basis van het HCV-genotype. Voor genotypen 1 en 2 hadden proefpersonen met cirrose minder kans dan niet-cirrotische proefpersonen om SVR te bereiken (OR=0,16 [95% Wald-BI: 0,04 tot 0,63], P=0,009 en OR=0,13 [95% Wald-BI: 0,02 tot 0,70], P=0,017, respectievelijk). De 95% BI-waarden voor andere covariaten voor genotype 1 en 2, en alle covariaten voor genotype 3, omvatten de waarde 1 en waren niet statistisch significant.

Tabel 27: Evaluatie van basislijnvoorspellers van SVR bij basislijn

GT	Categorie	N	Groepering	N(%)	Percentage Bereiken SVR	Odds-verhouding (Wald 95% BI) Univariate LR-analyse gebruiken	P-waarde
1	Leeftijd	158	≥ 40 jaar	146 (92,4)	91,8	0 [0 – ∞)	Niet te berekenen
			< 40 jaar	12 (7,6)	100		
	Geslacht	158	Man	92 (58,2)	90,2	0,44 (0,11 - 1,69)	0,231
			Vrouw	66 (41,8)	95,5		
	Ras	158	Blank	116 (73,4)	94,0	2,10 (0,63 - 7,03)	0,227
			Niet-blank	42 (26,6)	88,1		
	HCV RNA basislijn virale belasting[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		
	Cirrotische toestand	158	Cirrotisch	57 (36,1)	84,2	0,16 (0,04 - 0,63)	0,009
			Niet-cirrotisch	101 (63,9)	97,0		
2	Leeftijd	66	≥ 40 jaar	60 (90,9)	88,3	1,51 (0,15 - 14,91)	0,722
			< 40 jaar	6 (9,1)	83,3		
	Geslacht	66	Man	36 (54,5)	86,1	0,69 (0,15 - 3,15)	0,631
			Vrouw	30 (45,5)	90,0		
	Ras	66	Blank	61 (92,4)	86,9	0 [0 – ∞)	Niet te berekenen
			Niet-blank	5 (7,6)	100		
	HCV RNA basislijn virale belasting	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		
	Cirrotische toestand	66	Cirrotisch	22 (33,3)	72,7	0,13 (0,02 - 0,70)	0,017
			Niet-cirrotisch	44 (66,7)	95,5		
3	Leeftijd	50	≥ 40 jaar	44 (88,0)	86,4	0 [0 – ∞)	NC
			< 40 jaar	6 (12,0)	100		
	Geslacht	50	Man	34 (68,0)	85,3	0,39 (0,04 - 3,62)	0,405
			Vrouw	16 (32,0)	93,8		
	Ras	50	Blank	46 (92,0)	87,0	0 [0 – ∞)	Niet te berekenen
			Niet-blank	4 (8,0)	100		
	HCV RNA basislijn virale belasting[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		
	Cirrotische toestand	50	Cirrotisch	19 (38,0)	78,9	0,26 (0,04 - 1,58)	0,143
			Niet-cirrotisch	31 (62,0)	93,5		

BI=betrouwbaarheidsinterval, GT=genotype, LR=logistische regressie

[a]De HCV RNA baseline viral load covariabele omvat geen proefpersonen die geen kwantitatieve HCV RNA virale belasting hadden voordat de behandeling werd gestart.

Reactie op antivirale therapie

Er zijn testprestatiekenmerken vastgesteld voor personen die met bepaalde DAA-regimes behandeld zijn. Er is geen informatie beschikbaar over de voorspellende waarde van de assay wanneer andere DAA-combinatietherapieën worden gebruikt.

Definities:

Week 1 virale belasting (VL) = HCV-RNA < LLoQ = 10 IE/ml in week 1 van de antivirale therapie

Week 2 VL = HCV-RNA < LLoQ = 10 IE/ml in week 2 van antivirale therapie

Week 4 VL = HCV-RNA < LLoQ = 10 IE/ml in week 4 van antivirale therapie

Week 8 VL = HCV-RNA < LLoQ = 10 IE/ml in week 8 van antivirale therapie

Week 8 VL (EOT): HCV-RNA < LLoQ in week 8 van antivirale therapie

Week 12 VL = HCV-RNA < LLoQ = 10 IE/ml in week 12 van antivirale therapie

Week 12 VL (EOT): HCV-RNA < LLoQ in week 12 van antivirale therapie

Week 24 VL (EOT): HCV-RNA < LLoQ in week 24 van antivirale therapie

Aanhoudende virologische respons (SVR)12: HCV-RNA < LLoQ in week 12 na voltooiing van antivirale therapie, gemeten met een onafhankelijke HCV-RNA-test.

Tabel 28 en Tabel 29 tonen respectievelijk de frequentie van SVR-respons en -non-respons per genotype en medicijnregime in het algemeen, en voor cirrotische, niet-cirrotische, niet eerder behandelde en eerder behandelde proefpersonen. De meeste proefpersonen bereikten SVR voor verschillende genotypen: 92,4% genotype 1, 87,9% genotype 2 en 88,0% genotype 3. Bij alle genotypen waren de SVR-percentages over het algemeen hoger bij niet-cirrotische proefpersonen dan bij cirrotische proefpersonen en vergelijkbaar tussen niet eerder behandelde en wel eerder behandelde proefpersonen.

Tabel 28: Frequentie van SVR-respons per genotype en medicijnregime

GT	DRA	SVR-responsieve proefpersonen n (%)				
		Totaal	Cirrotisch	Niet-cirrotisch	Niet eerder behandeld	Behandelingservaring
1	Ledipasvir en Sofosbuvir gedurende 8 weken	13/14 (92,9)	N.v.t.	13/14 (92,9)	13/14 (92,9)	N.v.t.
	Ledipasvir en Sofosbuvir gedurende 12 weken	39/39 (100)	9/9 (100)	30/30 (100)	34/34 (100)	5/5 (100)
	Ledipasvir en Sofosbuvir gedurende 24 weken	6/7 (85,7)	6/7 (85,7)	N.v.t.	N.v.t.	6/7 (85,7)
	Sofosbuvir en Peginterferon en Ribavirine gedurende 12 weken	24/25 (96,0)	7/7 (100)	17/18 (94,4)	22/23 (95,7)	2/2 (100)
	Sofosbuvir en Ribavirine gedurende 24 weken	6/6 (100)	1/1 (100)	5/5 (100)	5/5 (100)	1/1 (100)
	Sofosbuvir en Simeprevir en/of Ribavirine gedurende 12 weken	54/63 (85,7)	21/29 (72,4)	33/34 (97,1)	45/54 (83,3)	9/9 (100)
	Sofosbuvir en Simeprevir en/of Ribavirine gedurende 24 weken	4/4 (100)	4/4 (100)	N.v.t.	2/2 (100)	2/2 (100)
2	Sofosbuvir en Ribavirine gedurende 12 weken	58/66 (87,9)	16/22 (72,7)	42/44 (95,5)	53/60 (88,3)	5/6 (83,3)
3	Sofosbuvir en Peginterferon en Ribavirine gedurende 12 weken	3/3 (100)	3/3 (100)	N.v.t.	1/1 (100)	2/2 (100)
	Sofosbuvir en Ribavirine gedurende 24 weken	41/47 (87,2)	12/16 (75,0)	29/31 (93,5)	35/39 (89,7)	6/8 (75,0)

DRA=toewijzing medicijnregime, GT=genotype, N.v.t.=het medicatieregime is niet van toepassing op deze patiëntengroep

Tabel 29: Frequentie van SVR-non-respons per genotype en medicijnregime

GT	DRA	SVR niet-reagerende proefpersonen n (%)				
		Totaal	**Cirrotisch**	**Niet-cirrotisch**	**Niet eerder behandeld**	**Behandelingservaring**
1	Ledipasvir en Sofosbuvir gedurende 8 weken	1/14 (7,1)	N.v.t.	1/14 (7,1)	1/14 (7,1)	N.v.t.
	Ledipasvir en Sofosbuvir gedurende 12 weken	0/39 (0,0)	0/9 (0,0)	0/30 (0,0)	0/34 (0,0)	0/5 (0,0)
	Ledipasvir en Sofosbuvir gedurende 24 weken	1/7 (14,3)	1/7 (14,3)	N.v.t.	N.v.t.	1/7 (14,3)
	Sofosbuvir en Peginterferon en Ribavirine gedurende 12 weken	1/25 (4,0)	0/7 (0,0)	1/18 (5,6)	1/23 (4,3)	0/2 (0,0)
	Sofosbuvir en Ribavirine gedurende 24 weken	0/6 (0,0)	0/1 (0,0)	0/5 (0,0)	0/5 (0,0)	0/1 (0,0)
	Sofosbuvir en Simeprevir en/of Ribavirine gedurende 12 weken	9/63 (14,3)	8/29 (27,6)	1/34 (2,9)	9/54 (16,7)	0/9 (0,0)
	Sofosbuvir en Simeprevir en/of Ribavirine gedurende 24 weken	0/4 (0,0)	0/4 (0,0)	N.v.t.	0/2 (0,0)	0/2 (0,0)
2	Sofosbuvir en Ribavirine gedurende 12 weken	8/66 (12,1)	6/22 (27,3)	2/44 (4,5)	7/60 (11,7)	1/6 (16,7)
3	Sofosbuvir en Peginterferon en Ribavirine gedurende 12 weken	0/3 (0,0)	0/3 (0,0)	N.v.t.	0/1 (0,0)	0/2 (0,0)
	Sofosbuvir en Ribavirine gedurende 24 weken	6/47 (12,8)	4/16 (25,0)	2/31 (6,5)	4/39 (10,3)	2/8 (25,0)

DRA=toewijzing medicijnregime, GT=genotype, N.v.t.=het medicatieregime is niet van toepassing op deze patiëntengroep

Tabel 30 toont het percentage proefpersonen met een virologische respons (gedefinieerd als Aptima HCV Quant Dx-assayresultaten < LLoQ) voor elk genotype en elke toewijzing van het medicijnregime bij elk bezoek tijdens de behandeling en na de behandeling. De meeste proefpersonen bereikten SVR in week 4 voor alle genotypen en alle proefpersonen bereikten SVR in week 8.

Tabel 30: Kans op het bereiken van SVR gedurende weken tijdens en na de behandeling

GT	DRA	N	SVR Responsief % (n)	SVR Niet-responsief % (n)	Percentage proefpersonen met virologische respons na bezoek[a] n (%)						
					Weken					EOT	PT04
					1	2	4	8	12		
1	LDV + SOF (8 weken)	14	92,9 (13/14)	7,1 (1/14)	42,9 (6/14)	76,9 (10/13)	100 (14/14)	N.v.t.	N.v.t.	100 (14/14)	90 (9/10)
	LDV + SOF (12 weken)	39	100 (39/39)	0,0 (0/39)	11,1 (4/36)	52,6% (20/38)	92,1 (35/38)	100 (36/36)	N.v.t.	100 (39/39)	100 (33/33)
	LDV + SOF (24 weken)	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 weken)	25	96,0 (24/25)	4,0 (1/25)	40,0 (10/25)	80,0 (20/25)	100 (25/25)	100 (25/25)	N.v.t.	100 (25/25)	100 (25/25)
	SOF+RBV (24 weken)	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 weken)	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.v.t.	96,6 (57/59)	90,0 (54/60)
	SOF+SIM+RBV (24 weken)	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 weken)	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.v.t.	98,5 (64/65)	93,5 (58/62)
3	SOF+PEG+RBV (12 weken)	3	100 (3/3)	0,0 (0/3)	33,3 (1/3)	100 (2/2)	100 (3/3)	100 (2/2)	N.v.t.	100 (3/3)	100 (3/3)
	SOF+RBV (24 weken)	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=toewijzing geneesmiddelregime, EOT=einde van de behandeling, n.v.t.=niet van toepassing omdat het bezoek overeenkomt met de EOT voor de gegeven behandeling of buiten het behandelvenster valt, PT04=week 4 na de behandeling

[a]Virale respons tijdens en na behandeling gedefinieerd als < 10 IE/ml.

Opmerking: EOT is niet inbegrepen in de behandelweek

Voor proefpersonen met genotype 1 had 95,5% (150/157) van de geëvalueerde proefpersonen in week 4 een virale respons tijdens de behandeling. De 7 proefpersonen met genotype 1 die in week 4 nog niet hadden gereageerd (3 proefpersonen behandeld met LDV + SOF [12 weken], 2 proefpersonen behandeld met LDV + SOF [24 weken], 1 proefpersoon elk behandeld met SOF + RBV [24 weken] of SOF + SIM ± RBV [12 weken]) had in week 8 virale reacties op de behandeling. Twee (2) proefpersonen behandeld met SOF + SIM ± RBV (12 weken) hadden een terugval aan het einde van de behandeling, en 6 (1 proefpersoon behandeld met LDF + SOF [8 weken], 1 proefpersoon behandeld met LDF + SOF [24 weken], en 4 proefpersonen behandeld met SOF + SIM ± RBV [12 weken]), hadden een terugval in week 4 na de behandeling.

Voor proefpersonen met genotype 2 had 95,4% (62/65) van de geëvalueerde proefpersonen in week 4 een virale respons tijdens de behandeling. De 3 proefpersonen met genotype 2 die in week 4 niet hadden gereageerd, kregen in week 8 een virale respons op de behandeling. Eén (1) proefpersoon die werd behandeld met SOF + RBV (12 weken) had een terugval aan het einde van de behandeling en 4 proefpersonen met hetzelfde geneesmiddelregime kregen een terugval in week 4 na de behandeling.

Voor proefpersonen met genotype 3 had 100% (49/49) van de geëvalueerde proefpersonen in week 4 een virale respons tijdens de behandeling. Geen (0) proefpersonen hadden een terugval aan het einde van de behandeling en 5 proefpersonen die werden behandeld met SOF + RBV (24 weken) hadden een terugval in week 4 na de behandeling.

Op basis van de resultaten van dit onderzoek kan de Aptima HCV Quant Dx-assay worden gebruikt als hulpmiddel bij de behandeling van met HCV geïnfecteerde patiënten die antivirale therapie op basis van sofosbuvir ondergaan en kan worden gebruikt om SVR-respons en non-respons te bepalen. De resultaten van de assay kunnen worden gebruikt voor het kwantitatief meten van HCV-RNA-niveaus in menselijk plasma bij baseline en tijdens de behandeling.

Diagnostisch bruikbaarheidsonderzoek

De sensitiviteit werd beoordeeld bij 338 HCV-antilichaampositieve proefpersonen uit een populatie met een hoog risico. Tabel 31 toont de demografische en klinische kenmerken van de proefpersoon.

Tabel 31: Demografische en klinische kenmerken bij HCV-antilichaampositieve proefpersonen

Kenmerken		
Totaal	*N*	338
Geslacht	Vrouw, n (%)	80 (23,7)
	Man, n (%)	258 (76,3)
Leeftijd (jaar)	Gemiddelde	48,2
	Mediaan	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)
Ras/etniciteit[a]	Blank, n (%)	86 (25,4)
	Zwart, n (%)	118 (34,9)
	Aziatisch, n (%)	1 (0,3)
	Spaans, n (%)	123 (36,4)
	Gemengde etniciteiten, n (%)	4 (1,2)
	Overig, n (%)	10 (3,0)
	Onbekend, n (%)	0 (0,0)
Risicofactoren[b]	Medicijngebruik via injectie, n (%)	294 (87,0)
	Ontvangers van stollingsfactoren gemaakt vóór 1990, n (%)	0 (0,0)
	Gediagnosticeerd met/behandeld voor hepatitis, n (%)	172 (50,9)
	Gediagnosticeerd met/behandeld voor HIV, n (%)	13 (3,8)
	Geschiedenis van inhechtenisneming, n (%)	311 (92,0)
	Een transfusie van bloed of bloedbestanddelen ontvangen, n (%)	39 (11,5)
	Een transplantatie ontvangen, n (%)	0 (0,0)
	Hemodialyse, n (%)	3 (0,9)
	Aanhoudend verhoogde ALT-waarden, n (%)	2 (0,6)
	Geboren tussen 1945 en 1965, n (%)	192 (56,8)
HCV-infectiestatus	HCV RNA-positief, n (%)	259 (76,6)
	HCV RNA-negatief, n (%)	79 (23,4)

ALT=alanine aminotransferase, HIV = menselijk immunodeficiëntievirus
[a]Kan meerdere rassen rapporteren.
[b]Kan meerdere risicofactoren rapporteren.

De specimens zijn getest met een goedgekeurde kwalitatieve HCV-RNA-test, een goedgekeurde HCV-antilichaamtest en de Aptima HCV Quant Dx-assay. Het onderzoek omvatte 338 HCV-antilichaam-reactieve proefpersonen. Volgens de huidige AASLD-richtlijnen, een door de FDA goedgekeurde NAAT met een detectieniveau van 25 IE/ml of lager[20] moet worden gebruikt om een positieve HCV-infectiestatus te bevestigen na een reactief HCV-antilichaamtestresultaat. De overeenkomst tussen de geïnfecteerde status van de patiënt en de resultaten van de Aptima HCV Quant Dx-assay werd bepaald met behulp van een 25 IE/ml grenswaarde. Specimens < 25 IE/ml werden beschouwd als "niet gedetecteerd" en specimens met resultaten ≥ 25 IE/ml werd beschouwd als "gedetecteerd". Zie Tabel 32.

De resultaten van de Aptima HCV Quant Dx-assay werden vergeleken met de infectiestatus van een patiënt op basis van goedgekeurde HCV-antilichaamtestresultaten en goedgekeurde kwalitatieve RNA-testresultaten. De infectiestatus van de patiënt werd als HCV-positief beschouwd als zowel de goedgekeurde HCV-antilichaamtest als de goedgekeurde kwalitatieve testresultaten reactieve resultaten hadden. De infectiestatus van de patiënt werd als HCV-negatief beschouwd als de goedgekeurde HCV-antilichaamtest een niet-reactief resultaat had.

Van de 338 proefpersonen met HCV-antilichaamreactieve resultaten, werden er 256 gedetecteerd door de Aptima HCV Quant Dx-assay (% positieve overeenkomst = 98,8%). Van de drie proefpersonen met HCV-RNA gekwantificeerd onder 25 IE/ml of niet gedetecteerd, hadden twee proefpersonen een gedetecteerd, maar niet gekwantificeerd resultaat (HCV RNA < 10 IE/ml) en één proefpersoon had een kwantitatief HCV-RNA-resultaat van 12 IE/ml.

Tabel 32: Overeenkomst tussen Aptima HCV Quant Dx Assay-resultaten met de infectiestatus van de patiënt met een grenswaarde van 25 IE/ml

Aptima HCV Quant Dx Assayresultaat	**Infectiestatus patiënt**		**Totaal**
	HCV-positief	**HCV-negatief**	
HCV-RNA gekwantificeerd bij of boven 25 IE/ml	256	0	256
HCV-RNA gekwantificeerd of Gedetecteerd onder 25 IE/ml of Niet gedetecteerd	3[a]	79	82
Totaal	259	79	338
% positieve overeenkomst (95% score BI)	98,8 (96,7-99,6)	N.v.t.	N.v.t.
% Negatieve overeenkomst (95% score BI)	N.v.t.	100 (95,4-100)	N.v.t.

BI = betrouwbaarheidsinterval, N.v.t. = niet van toepassing

[a] De Aptima HCV Quant Dx-assay detecteerde, maar kwantificeerde HCV-RNA (<10 IE/ml) niet voor twee proefpersonen, en bij de derde proefpersoon werd HCV-RNA gekwantificeerd met 12 IE/ml.

Dit onderzoek demonstreert het klinische nut van de Aptima HCV Quant Dx-assay om proefpersonen met een aanhoudende actieve HCV-RNA-infectie correct te diagnosticeren en om hen te onderscheiden van proefpersonen met inactieve infecties in een populatie met eerdere blootstelling aan HCV (HCV-antilichaam-positieve serologie).

Kruisreactiviteit bij proefpersonen met niet-HCV-gerelateerde leverziekte

Er werden serum- en plasmamonsters (n=214) verkregen van personen met andere leverziekten (waarbij actieve HCV-infectie niet als onderliggende oorzaak was aangegeven). Monsters werden getest met een goedgekeurde anti-HCV-test en een goedgekeurde kwalitatieve HCV-RNA-test om te bevestigen dat de monsters HCV-negatief waren. Zeventien (17) HCV-positieve monsters (met anti-HCV-positieve resultaten en/of reactieve kwalitatieve HCV RNA-testresultaten) en drie niet-subsidiabele monsters werden uitgesloten. Aptima HCV Quant Dx-assaytesten werden intern uitgevoerd met drie partijen reagenskits. Tabel 33 toont de demografische gegevens van proefpersonen en de status van leverziekte voor de 194 evalueerbare proefpersonen.

Tabel 33: Demografische kenmerken en leverziektestatus van de proefpersoon

Kenmerken		Alles
Totaal	N	194
Geslacht	n	193
	Vrouw, n (%)	116 (60,1)
	Man, n (%)	77 (39,9)
Leeftijd (jaar)	n	194
	Gemiddelde	55,2
	Mediaan	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)
Etniciteit	n	194
	Spaans of Latijns-Amerikaans, n (%)	9 (4,6)
	Niet Spaans of Latijns-Amerikaans, n (%)	147 (75,8)
	Onbekend, n (%)	38 (19,6)
	Geweigerd, n (%)	0 (0,0)
Ras[a]	n	194
	Blank, n (%)	122 (62,9)
	Zwart of Afro-Amerikaans, n (%)	20 (10,3)
	Aziatisch, n (%)	17 (8,8)
	Inheemse inwoner van Amerika/Alaska, n (%)	0 (0,0)
	Inheemse Hawaïaanse/Pacifische eilandbewoner, n (%)	1 (0,5)
	Overig, n (%)	34 (17,5)
	Onbekend, n (%)	2 (1,0)
	Geweigerd, n (%)	0 (0,0)
Leverziekte[b]	n	194
	Auto-immune hepatitis, n (%)	31 (16,0)
	Alcoholische leverziekte, n (%)	51 (26,3)
	Chronische HBV, n (%)	34 (17,5)
	Primaire biliaire cirrose, n (%)	37 (19,1)
	NASH, n (%)	39 (20,1)
	Meerdere leverziekten gemeld, n (%)	2 (1,0)

HBV = hepatitis B-virus, NASH = niet-alcoholische steatohepatitis

[a]Proefpersonen konden meerdere rassen rapporteren.

[b]Proefpersonen met meerdere leveraandoeningen meldden zowel auto-immuunhepatitis als primaire biliaire cirrose.

Tabel 34 toont de specificiteit van de Aptima HCV Quant Dx-assay per leverziekte en de verdeling van de resultaten van de Aptima HCV Quant Dx-assay over virale belastingscategorieën. De specificiteit was 100% bij proefpersonen met chronisch hepatitis B-virus (HBV), primaire biliaire cirrose, niet-alcoholische steatohepatitis (NASH) en meerdere gemelde leveraandoeningen. HCV-RNA werd in zeer lage concentraties gedetecteerd bij 1 patiënt met auto-immuunhepatitis (< 10 IE/ml) en 4 proefpersonen met alcoholische leverziekte (< 10 IE/ml voor 3 proefpersonen en 16 IE/ml voor 1 proefpersoon). Bij één van de 5 proefpersonen werd HCV-RNA gedetecteerd door een goedgekeurde kwantitatieve HCV-assay.

Tabel 34: Specificiteit van de Aptima HCV Quant Dx Assay en distributieresultaten bij HCV-antilichaam- en RNA-negatieve proefpersonen met niet-HCV-gerelateerde leverziekten

Leverziekte	Specificiteit (%) 95% BI[a]	Niet gedetecteerd	<10 IE/ml	10 tot <25 IE/ml	25 tot 100.000.000 IE/ml	>100.000.000 IE/ml	Totaal
Auto-immuunhepatitis	96,8 (83,8-99,4)	30 (96,8)	1 (3,2)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	31
Alcoholische leverziekte	92,2 (81,5-96,9)	47 (92,2)	3 (5,9)[b]	1 (2,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	51
Chronische HBV	100 (89,8-100)	34 (100)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	34
Primaire biliaire cirrose	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
Meerdere leverziekten[c]	100 (34,2-100)	2 (100)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	2
Totaal	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= niet-alcoholische steatohepatitis

[a]Score BI.

[b]Bij één proefpersoon werd HCV-RNA gedetecteerd door een door de FDA goedgekeurde kwantitatieve HCV-assay.

[c]Proefpersonen hadden zowel auto-immuunhepatitis als primaire biliaire cirrose.

Literatuur

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. 21 mei 2013;8(5):e63959
3. Engle RE, Bukh J, Alter HJ et al., Transfusion-associated hepatitis before the screening of blood for hepatitis risk factors.Transfusion. 5 mei 2014.
4. Lee M-H, Yang, H-I, Yuan Y et al., Epidemiology and natural history of hepatitis C virus infection. World J Gasteroenterology 2014: 20 (28): 9270-9280.
5. Tan SL, redacteur. Hepatitis C Viruses: Genome and Molecular Biology. Norfolk (VK): 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-VS). 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. Gepubliceerd op hcvguidelines.org, geraadpleegd op 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. 1 sept 2015;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, VS.
15. **29 CFR deel 1910.1030.** Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens; current version.
16. **Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health.** Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL); current version.
17. **Clinical and Laboratory Standards Institute.** 2002. Clinical Laboratory Waste Management. CLSI Document GP5-A2. Villanova, PA, VS.
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, VS.
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, VS.
20. AASLD/IDSA. Recommendations for testing, managing, and treating hepatitis C. AASLD and IDSA. http://www.hcvguidelines.org/fullreport. Geüpdated op 21 maart 2014. Geraadpleegd op 1 maart 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.

Contactgegevens en revisiegeschiedenis

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

Voor landspecifieke e-mailadressen en telefoonnummers van de technische ondersteuning en klantenservice, gaat u naar www.hologic.com/support.

Ernstige incidenten gerelateerd aan het hulpmiddel binnen de Europese Unie dienen te worden gemeld bij de fabrikant en de bevoegde autoriteit van de lidstaat waarin de gebruiker en/of de patiënt woonachtig is.

Hologic, Aptima, Panther, Panther Fusion en bijbehorende logo's zijn handelsmerken of gedeponeerde handelsmerken van Hologic, Inc. en/of zijn dochterondernemingen in de Verenigde Staten en/of andere landen.

Armored RNA is een handelsmerk van Asuragen, Inc.

Alle andere handelsmerken in deze bijsluiter zijn eigendom van hun respectieve eigenaars.

Dit product is mogelijk beschermd door een of meer Amerikaanse octrooien vermeld op www.hologic.com/patents.

©2016-2025 Hologic, Inc. Alle rechten voorbehouden.

AW-28216-1501 Versie 001

2025–12

Overzicht van wijzigingen	Datum	Beschrijving
AW-28216-1501 Rev. 001	December 2025	• Eerste uitgave.