Aptima® HCV Quant Dx -määritys

Käyttöohjeet
Diagnostiseen *in vitro* -käyttöön
Ainoastaan vientiin Yhdysvalloista

Yleisiä tietoja 2
Käyttötarkoitus 2
Testin tiivistelmä ja selitys 2
Menetelmän toimintaperiaate 3
Yhteenveto turvallisuudesta ja suorituskyvystä 4
Varoitukset ja varotoimet 4
Reagenssien säilytys- ja käsittelyvaatimukset 7
Näytteiden kerääminen ja säilyttäminen 9
Panther-järjestelmässä säilytetyt näytteet 12
Näytteen siirto 12
Panther-järjestelmä 13
Toimitetut reagenssit ja materiaalit 13
Materiaalit, jotka tarvitaan mutta jotka ovat saatavissa erikseen 15
Valinnaiset materiaalit 16
Panther-järjestelmän testausmenetelmä 16
Menetelmää koskevia huomautuksia 20
Laadunvalvonta 21
Määrityksen kalibrointi 21
Negatiiviset ja positiiviset kontrollit 21
Sisäinen kalibraattori / sisäinen kontrolli 21
Tulosten tulkinta 22
Rajoitukset 23
Analyyttinen suorituskyky 24
Havaitsemisraja (Limit of Detection, LoD) käytettäessä WHO:n 2. kansainvälistä standardia 24
Havaitsemisraja HCV-genotyyppien kesken 24
Lineaarinen alue 25
Lineaarisuus HCV-genotyyppien kesken 26
Kvantitoinnin alaraja (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) käytettäessä WHO:n 2. kansainvälistä standardia 27
Kvantitoinnin alarajan (LLoQ) määritys HCV-genotyyppien kesken 28
Jäljitettävyys WHO:n standardiin 30
Toistotarkkuus 30
Mahdollisesti häiritsevät aineet 31
Suorituskyky HCV-negatiivisilla näytteillä 33
Analyyttinen spesifisyys 34
Kliiniset näytteet, jotka sisältävät muita viruksia kuin HCV:ta 35
Matriisin ekvivalenssi 35
Näytteen laimentaminen Aptima-näytteenlaimentimella (1:3) 36
Näytteen laimentaminen Aptima-näytteenlaimentimella (1:100) 37
LLoQ:n vahvistaminen kliinisillä näytteillä, jotka on laimennettu näytteenlaimentimella 38
Laimennettujen näytteiden toistotarkkuus 39
Näytteiden välinen kontaminaatio 39
Serokonversion testisarja 40
Toistettavuustutkimus 40
Kliininen suorituskyky 42
Menetelmän korrelaatio 42
Kliinisen käytettävyyden tutkimus 43
Viruslääkehoidon vaste 47
Diagnostisen käytettävyyden tutkimus 50
Ristireaktiivisuus tutkittavilla, joilla oli HCV:hen liittymätön maksasairaus 52
Lähdeluettelo 54
Yhteystiedot ja versiohistoria 55

Yleisiä tietoja

Käyttötarkoitus

Aptima® HCV Quant Dx -määritys on reaaliaikainen transkriptiovälitteinen monistustesti. Tätä määritystä käytetään sekä hepatiitti C -viruksen (HCV) RNA:n havainnointiin että kvantitointiin tuoreesta ja jäädytetystä HCV-infektion saaneiden ihmisten seerumista ja plasmasta.

Plasma voidaan valmistella etyleenidiamiinitetraetikkahappoon (EDTA), antikoagulanttiseen sitraattidekstroosi (Anticoagulant Citrate Dextrose, ACD) -liuokseen ja plasman valmisteluputkiin (Plasma Preparation Tube, PPT). Seerumi voidaan valmistaa seerumiputkissa ja seerumin erotusputkissa (Serum Separator Tube, SST). Näytteet testataan käyttämällä Panther™-järjestelmää, jolla suoritetaan automaattinen näytteiden käsittely, monistus, tunnistus ja kvantitointi. HCV-genotyyppejä 1–6 sisältäville näytteille tehdään hyväksyntätarkistus määrityksessä havaitsemisen ja kvantitoinnin suhteen.

Aptima HCV Quant Dx -määrityksen käyttöaiheena on käyttö HCV-infektion diagnoosin apuvälineenä. Määritystä voidaan käyttää aktiivisen HCV-infektion vahvistamiseen potilaista, joille on saatu positiivinen HCV-vasta-aineen tulos. HCV:n RNA:n havaitseminen tarkoittaa, että virus monistuu, ja siksi se viittaa aktiiviseen infektioon.

Aptima HCV Quant Dx -määrityksen käyttöaiheena on käyttö HCV-infektion saaneiden, HCV-viruslääkehoitoa saavien potilaiden hoidon apuvälineenä. Määrityksellä mitataan HCV:n RNA-tasot lähtötilanteessa, hoidon aikana sekä hoidon jälkeen pysyvän virusvasteen (Sustained Virological Response, SVR) määrittämiseksi. Aptima HCV Quant Dx -määrityksen tulokset on tulkittava kaikkien asiaankuuluvien kliinisten ja laboratoriolöydösten kontekstissa.

Aptima HCV Quant Dx -määritystä ei ole tarkoitettu käytettäväksi HCV:n verestä tai verivalmisteista havaitsemisen seulontatestinä.

Testin tiivistelmä ja selitys

HCV on veriperäinen patogeeni, joka on maailmanlaajuinen ongelma julkisessa terveydenhuollossa, sillä jopa 170 miljoonaa ihmistä eri puolilla maailmaa on saanut HCV-infektion ja HCV:hen liittyvät ongelmat, mm. kirroosi ja maksasyöpä, aiheuttavat vuosittain 350 000 kuolemaa.[1,2] HCV tarttuu verelle, verivalmisteille altistumisessa tai toimissa, joissa on mahdollisuus saada altistus ihon läpi.[3,4] Geneettisellä tasolla HCV sisältää positiivisjuosteisen RNA-genomin, jossa on noin 9 500 nukleotidiä, jotka koodaavat rakenteellisia proteiineja (runkoketju, E1- ja E2-glykoproteiinit, p7-ionikanavaproteiini) ja ei-rakenteellisia proteiineja (NS2, NS3, NS4A/B, NS5A/B), joista jälkimmäiset ovat keskeisiä virusten monistumisproteiineja ja suoraan vaikuttavien viruslääkkeiden kohteita.[4,5] Kaksi genomin kääntämätöntä aluetta (UTR), 5’UTR ja 3’UTR, toimivat genomissa käännös- ja vastaavasti replikaatio-/pakkausrooleissa.[5] 5'-UTR on kaikkien parhaiten yhtenäisesti säilynyt genomin alue kuuden merkittävimmän HCV-genotyypin kesken.[6]

Oireeton HCV-infektio on kliinisesti erittäin yleinen, ja krooninen HCV-infektio havaitaan jopa 75 %:lla potilaista.[2] HCV:n laboratoriotestausalgoritmit edellyttävät aktiivisten HCV-infektioiden diagnoosia vasta-ainepositiivisilta tutkittavilta HCV:n RNA:n plasmasta tai seerumista havaitsemisen perusteella, mikä mahdollistaa asianmukaisen hoidon.[7,8,9]

HCV:n RNA:n (viruskuormituksen) kvantitointi on ollut keskeisessä roolissa menestyksekkään HCV-hoidon määrityksessä ja seurannassa. Pysyvä virusvaste (Sustained virological response, SVR) määritetään tilanteeksi, jossa HCV:n RNA:ta ei havaita onnistuneen hoidon jälkeen, ja se on HCV:n parantumisen keskeisin markkeri.[10,11] Interferonipohjaisessa hoidossa varhainen virusvaste (Early Virological Response, EVR), joka määritetään 2 logaritmin tai suuremmaksi HCV:n viruskuormituksen laskuksi 12 viikon hoidon jälkeen, ja nopea virusvaste (Rapid Virological Response, RVR), joka määritetään tilanteeksi, jossa HCV:n RNA:ta ei havaita

neljän viikon hoidon jälkeen, osoittautuivat SVR:n positiivisiksi ennustetekijöiksi.[10,12,13] Näitä viruksen kineettisen toiminnan markkereita käytetään vasteohjatuissa lähestymistavoissa, joissa hoitovaihtoehdot mukautetaan SVR:n saavuttamiseksi pysäyttämällä hoito tai jatkamalla hoitoa.[14] Lisäksi pitkäaikaisissa seurantatutkimuksissa osoitettiin, että SVR:n säilyvyys onnistuneen hoidon ja viruksen tappamisen jälkeen, estää maksasairauden etenemisen.[10]

Suoraan vaikuttavien viruslääkkeiden (DAA) aikakaudella HCV:n RNA:n (viruskuormituksen) kvantitointi on ollut keskeisessä roolissa menestyksekkään HCV-hoidon määrityksessä ja seurannassa. Pysyvä virusvaste (Sustained virological response, SVR) määritetään tilanteeksi, jossa HCV:n RNA:ta ei havaita hoidon jälkeen (määrityksellä, jonka havaitsemisraja on < 25 IU/mL).[10,11] Viimeaikaiset AASLD:n suositukset suosittelevat HCV:n RNA:n testaamista lähtötilanteen lisäksi myös säännöllisesti hoidon aikana (eli 4 viikon kuluessa) ja 12 viikon kohdalla hoidon päättymisen jälkeen.[10,12,13]

Menetelmän toimintaperiaate

Aptima HCV Quant Dx -määritys on nukleiinihappotesti, jossa käytetään reaaliaikaista TMA-tekniikkaa HCV:n RNA:n havaitsemiseen ja määrälliseen määritykseen (kvantitointiin). Sen tavoitteena on auttaa diagnoosin tekemisessä tai määrittää lähtötilanteen viruskuormitus sekä mitata hoidonaikainen ja -jälkeinen vaste. Määritys kohdentuu HCV-genomin yhtenäisesti säilyneeseen alueeseen ja havaitsee ja kvantitoi genotyypit 1, 2, 3, 4, 5 ja 6. Määritys on standardoitu hepatiitti C -viruksen WHO:n toisen kansainvälisen standardin suhteen (NIBSC-asetus 96/798).[12]

Aptima HCV Quant Dx -määrityksessä on kolme päävaihetta, jotka kaikki tehdään yhdessä putkessa Panther-järjestelmässä: kohteen sieppaus, kohteen monistus TMA-tekniikalla ja monistustuotteiden (amplikoni) havaitseminen fluoresoivasti leimatuilla koettimilla.

Kohteen sieppauksen aikana virus-RNA eristetään näytteistä. Näytettä käsitellään puhdistusaineella, jotta viruksen kuori liukenee, proteiinit denaturoituvat ja viruksen genomin RNA vapautuu. Siepatut oligonukleotidit hybridisoituvat testinäytteen HCV:n RNA:n yhtenäisesti säilyneisiin alueisiin (jos sellaisia on). Hybridisoitu kohde sidotaan sen jälkeen magneettisiin mikrohiukkasiin, jotka erotetaan näytteestä magneettikentässä. Pesuvaiheissa ulkoiset ainesosat poistetaan reaktioputkesta.

Kohteen monistus tapahtuu TMA-tekniikalla, joka on transkriptiovälitteinen nukleiinihappojen monistusmenetelmä, jossa käytetään kahta entsyymiä, Moloneyn hiiren leukemiaviruksen (MMLV) käänteistranskriptaasia ja T7 RNA -polymeraasia. Käänteistranskriptaasia käytetään kohdesekvenssin DNA-kopion (joka sisältää promoottorisekvenssin T7 RNA -polymeraasia varten) luomiseen. T7 RNA -polymeraasi tuottaa useita RNA-amplikonin kopioita DNA-kopioalukkeesta. Aptima HCV Quant Dx -määrityksessä käytetään TMA-menetelmää HCV-genomin 5’ UTR -alueen osan monistamiseen. Tämän alueen monistus tehdään käyttämällä spesifisiä alukkeita, jotka on suunniteltu monistamaan HCV-genotyypit 1, 2, 3, 4, 5 ja 6.

Havaitseminen tehdään käyttämällä yksijuosteisia, fluoresoivasti leimattuja nukleiinihappokoettimia, jotka ovat läsnä kohteen monistuksen aikana ja hybridisoituvat spesifisesti amplikoniin reaaliaikaisesti. Jokaisessa koettimessa on fluorofori ja sammuttaja. Kun koetin ei hybridisoidu amplikoniin, sammuttaja on fluoroforin läheisyydessä ja estää fluoresenssin. Kun fluoresoivasti leimattu koetin sitoutuu amplikoniin, sammutin on siirtynyt kauemmas poispäin fluoroforista, ja se lähettää signaalin tietyllä aallonpituudella, kun valonlähde virittää sen. Kun enemmän fluoresoivasti leimattuja koettimia hybridisoituu amplikoniin, ne synnyttävät suuremman fluoresoivan signaalin. Aika, joka fluoresoivalta signaalilta kuluu tietyn kynnysarvon saavuttamiseen, on suhteessa HCV:n alkupitoisuuteen. Jokaisessa reaktiossa on mukana sisäinen kalibraattori / sisäinen kontrolli (IC) -aine, joka ilmaisee näytteen käsittelyssä, monistuksessa ja havaitsemissa ilmenevän vaihtelun. Näytteen pitoisuus määritetään Panther-järjestelmäohjelmistolla

käyttämällä kunkin reaktion HCV- ja IC-signaaleja ja vertaamalla niitä kalibrointitietoihin.

Yhteenveto turvallisuudesta ja suorituskyvystä

Yhteenveto turvallisuudesta ja suorituskyvystä (SSP) on saatavissa eurooppalaisesta lääkinnällisten laitteiden tietokannasta (Eudamed), jossa se on yhdistetty laitetunnisteisiin (UDI-DI-perustunniste). Voit etsiä SSP:n Aptima HCV Quant Dx -määritykselle yksilöllisen peruslaitetunnisteen (Basic Unique Device Identifier, BUDI) perusteella: 54200455DIAGAPTHCVAJ.

Varoitukset ja varotoimet

A. Diagnostiseen *in vitro* -käyttöön.

B. Ammattikäyttöön.

C. Epäkelpojen tulosten riskin vähentämiseksi käyttäjän on luettava huolella koko pakkausseloste ja toimenpiteen tiedot *Panther*/*Panther Fusion™ -järjestelmän käyttöoppaasta* ennen määrityksen suorittamista Panther-järjestelmässä.

D. Muut erityiset varoitukset, varotoimet ja toimenpiteet, joilla estetään kontaminaatio, esitetään *Panther-/Panther Fusion -järjestelmän käyttöoppaassa*.

Laboratorioon liittyviä seikkoja

E. HUOMIO: Tämän määrityksen kontrollit sisältävät ihmisen plasmaa. Plasma ei reagoi hepatiitti B -pinta-antigeenin (HBsAg), HCV:n vasta-aineiden, HIV-1:n ja HIV-2:n vasta-aineiden ja HIV-antigeenin kanssa, kun se testataan Yhdysvaltain elintarvike- ja lääkehallinnon lisensoitujen testausmenettelyjen mukaisesti. Lisäksi plasma ei reagoi HCV:n RNA:n ja HIV-1:n RNA:n kanssa, kun se testataan lisensoiduilla nukleiinihappotesteillä käyttämällä yhdistettyjä näytteitä. Kaiken ihmisen verestä peräisin olevan materiaalin on katsottava olevan mahdollisesti tartuntavaarallista, ja siksi tällaista materiaalia on käsiteltävä yleisten varotoimien mukaisesti.[14,15,16]

F. Tämän menetelmän saa suorittaa vain henkilöstö, joka on saanut riittävän koulutuksen Aptima HCV Quant Dx -määrityksen käytöstä ja mahdollisesti infektiovaarallisten materiaalien käsittelystä. Jos tapahtuu vuoto, on suoritettava heti desinfiointi asianmukaisten tutkimuspaikan menettelyohjeiden mukaisesti.

G. Käytä vain toimitettuja tai määritettyjä kertakäyttöisiä laboratoriotarvikkeita.

H. Käytä tavallisia laboratoriota koskevia varotoimia. Älä koskaan pipetoi suun avulla. Älä syö tai juo mitään tai tupakoi määritetyillä työskentelyalueilla. Käytä kertakäyttöisiä, jauheettomia käsineitä, suojalaseja ja laboratoriotakkeja näytteiden ja pakkauksen reagenssien käsittelyn aikana. Pese kädet perusteellisesti näytteiden ja tarvikesarjan reagenssien käsittelyn jälkeen.

I. Työskentelypinnat, pipetit ja muut laitteet on desinfioitava säännöllisesti 2,5–3,5-prosenttisella (0,35–0,5 M) natriumhypokloriittiliuoksella.

J. Hävitä kaikki materiaalit, jotka ovat koskeneet näytteisiin ja reagensseihin, paikallisten ja kansallisten asetusten mukaisesti.[14,15,16,17] Puhdista ja desinfioi kaikki työskentelypinnat huolellisesti.

K. Kontrollit sisältävät natriumatsidia säilöntäaineena. Älä käytä metalliputkea reagenssin siirtoon. Jos natriumatsidiyhdisteitä sisältävät liuokset hävitetään viemäristöön, ne on

laimennettava ja huuhdeltava runsaalla määrällä juoksevaa vettä. Näitä varotoimia suositellaan, jottei metalliputkiin kerry jäämiä, joista voi kehittyä räjähdysvaarallisia.

L. Molekyylilaboratorioiden hyvät peruskäytännöt sisältävät ympäristön valvonnan. Laboratorion ympäristön valvontaan suositellaan seuraavaa menettelytapaa:
   1. Hanki puuvillakärkinen vanupuikko ja liitä se Aptima-näytealikvoottiputkeen (SAT).
   2. Merkitse jokainen SAT-putki asianmukaisesti.
   3. Täytä jokainen SAT-putki 1 mL:lla Aptima-näytteenlaimenninta.
   4. Kostuta vanupuikko kevyesti nukleaasittomalla deionisoidulla vedellä pintanäytteiden keruuta varten.
   5. Hankaa kohdepinta ylhäältä alaspäin suuntautuvalla liikkeellä. Pyöritä puikkoa noin puoli kierrosta kohdepinnan hankaamisen aikana.
   6. Aseta vanupuikkonäyte heti näyteputkeen ja pyöritä vanupuikkoa varoen laimennusaineessa mahdollisten vanuun tarttuneiden materiaalien saamiseksi pois siitä. Paina vanupuikko siirtoputken kylkeen ottaaksesi mahdollisimman paljon nestettä. Heitä vanupuikko pois ja sulje putki korkilla.
   7. Toista vaiheet jäljellä oleville vanupuikkonäytteille.
   8. Testaa vanupuikko molekyylimäärityksellä.

Näytteeseen liittyviä seikkoja

M. Näytteet voivat olla tartuntavaarallisia. Noudata yleisiä varotoimia[14,15,16] tämän määrityksen suorittamisen aikana. Oikeanlaiset käsittely- ja hävitysmenetelmät on määritettävä paikallisten määräysten mukaisesti.[17] Tämän menetelmän saa suorittaa vain henkilöstö, joka on saanut riittävän koulutuksen Aptima HCV Quant Dx Assay -määrityksen käyttöön ja tartuntavaarallisten materiaalien käsittelyyn.

N. Pidä huolta, että näytteen kuljetuksen aikana säilytysolosuhteet ovat oikeanlaiset, jotta näyte säilyy kunnossa. Näytteen säilyvyyttä muissa kuin suositelluissa toimitusolosuhteissa ei ole arvioitu.

O. Vältä ristikontaminaatiota näytteiden käsittelyn aikana. Ole erityisen varovainen, jottei aerosolien leviäminen aiheuta kontaminaatiota näytteiden irrottamisen tai putkien avaamisen aikana. Näytteet voivat sisältää erittäin suuria eliöpitoisuuksia. Varmista, että näytesäiliöt eivät koske toisiinsa, ja hävitä käytetyt materiaalit viemättä niitä avointen säiliöiden yli. Vaihda käsineet, jos ne koskevat näytteeseen.

Määritykseen liittyviä seikkoja

P. Älä käytä reagenssipakkausta, kalibraattoria tai kontrolleja niiden viimeisen käyttöpäivän jälkeen.

Q. Älä vaihda, sekoita tai yhdistä määritysreagensseja pakkauksista, joiden pääeränumerot eivät ole samoja. Määritysnesteillä voi olla eri eränumerot. Kontrolleilla ja kalibraattorilla voi olla eri eränumerot.

R. Vältä mikrobien ja nukleaasien aiheuttamaa reagenssien kontaminaatiota.

S. Sulje kaikki määritysreagenssit ja säilytä niitä määritetyissä lämpötiloissa. Väärin säilytettyjen määritysreagenssien käyttö voi vaikuttaa määrityksen suorittamiseen. Lisätietoja on kohdissa *Reagenssien säilytys- ja käsittelyvaatimukset* ja *Panther-järjestelmän testausmenetelmä*.

T. Älä yhdistä mitään määritysreagensseja tai nesteitä ilman erillistä ohjetta. Älä täytä vajaita reagenssi- tai nestepulloja. Panther-järjestelmä varmistaa reagenssien määrät.

U. Jotkin tämän tarvikesarjan reagenssit on merkitty vaara- ja turvallisuussymbolein.

Huomautus: *Vaarailmoitustiedot vastaavat EU:n käyttöturvallisuustiedotteiden (SDS) luokituksia. Aluekohtaisia vaaraviestintätietoja on kohdan Safety Data Sheet Library (käyttöturvallisuustiedotekirjasto) aluekohtaisessa käyttöturvallisuustiedotteessa sivustossa www.hologicsds.com. Lisätietoja merkinnöistä on merkkien selitteessä osoitteessa www.hologic.com/package-inserts.*

EU:n vaaratiedot	
—	**Monistusreagenssi** *MAGNESIUMKLORIDI 60–65 %* — H412 – Haitallista vesieliöille, pitkäaikaisia haittavaikutuksia. P273 – Vältettävä päästämistä ympäristöön. P501 – Hävitä sisältö/pakkaus hyväksyttyyn jätteenkäsittelylaitokseen.
—	**Promoottorireagenssi** *MAGNESIUMKLORIDI 60–65 %* — H412 – Haitallista vesieliöille, pitkäaikaisia haittavaikutuksia. P273 – Vältettävä päästämistä ympäristöön. P501 – Hävitä sisältö/pakkaus hyväksyttyyn jätteenkäsittelylaitokseen.
—	**Entsyymireagenssi** *Triton X-100 1–5 %* *HEPES 1–5 %* — H412 – Haitallista vesieliöille, pitkäaikaisia haittavaikutuksia. P273 – Vältettävä päästämistä ympäristöön. P501 – Hävitä sisältö/pakkaus hyväksyttyyn jätteenkäsittelylaitokseen.
  	**HCV VL Kit Controls** *NATRIUMATSIDI < 1 %* — **VAARA** H300 – Hengenvaarallista nieltynä. H410 – Erittäin myrkyllistä vesieliöille, pitkäaikaisia haittavaikutuksia. P264 – Pese kasvot, kädet ja muu mahdollisesti altistunut ihoalue huolellisesti käsittelyn jälkeen. P273 – Vältettävä päästämistä ympäristöön. P301 + P310 – JOS KEMIKAALIA ON NIELTY: Ota välittömästi yhteys MYRKYTYSTIETOKESKUKSEEN tai lääkäriin. P321 – Erityishoitoa tarvitaan (katso ensiapuohjeet pakkauksen merkinnöissä). P330 – Huuhdo suu. P391 – Kerää vuotanut aine.
—	**HCV VL Kit Calibrators** *HEPES 15–20 %* *Lauryylisulfaattilitiumsuola 5–10 %* *Litiumhydroksidimonohydraatti 1–5 %* *Meripihkahappo 1–5 %* — H412 – Haitallista vesieliöille, pitkäaikaisia haittavaikutuksia. P273 – Vältettävä päästämistä ympäristöön. P501 – Hävitä sisältö/pakkaus hyväksyttyyn jätteenkäsittelylaitokseen.

—	**Entsyymin palautusliuos** *Glyseroli 20–25 %* *Triton X-100 5–10 %* *HEPES 1–5 %* — H412 – Haitallista vesieliöille, pitkäaikaisia haittavaikutuksia. P273 – Vältettävä päästämistä ympäristöön. P501 – Hävitä sisältö/pakkaus hyväksyttyyn jätteenkäsittelylaitokseen.
—	**Kohteen poimintareagenssi** *HEPES 15–20 %* *Lauryylisulfaattilitiumsuola 5–10 %* *Litiumhydroksidimonohydraatti 1–5 %* *Meripihkahappo 1–5 %* — H412 – Haitallista vesieliöille, pitkäaikaisia haittavaikutuksia. P273 – Vältettävä päästämistä ympäristöön. P501 – Hävitä sisältö/pakkaus hyväksyttyyn jätteenkäsittelylaitokseen.

Reagenssien säilytys- ja käsittelyvaatimukset

A. Seuraavassa taulukossa esitetään reagenssien, kontrollien ja kalibraattorin säilytysolosuhteet ja säilyvyys.

Reagenssi	Säilytys avaamattomana	Avattu tarvikesarja (liuotettu)	
		Säilytys	Stabiilius
qHCV Amplification Reagent	2–8 °C		
qHCV Amplification Reconstitution Solution	2–8 °C	2–8 °C	30 päivää[a]
qHCV Enzyme Reagent	2–8 °C		
qHCV Enzyme Reconstitution Solution	2–8 °C	2–8 °C	30 päivää[a]
qHCV Promoter Reagent	2–8 °C		
qHCV Promoter Reconstitution Solution	2–8 °C	2–8 °C	30 päivää[a]
qHCV Target Capture Reagent	2–8 °C	2–8 °C	30 päivää[a]
qHCV NC CONTROL – (negatiivinen verrokki)	–15...–35 °C	15–30 °C	Kertakäyttöinen injektiopullo Käytä 24 tunnin sisällä
qHCV LPC CONTROL + (heikko positiivinen verrokki)	–15...–35 °C	15–30 °C	Kertakäyttöinen injektiopullo Käytä 24 tunnin sisällä
qHCV HPC CONTROL + (ylärajan positiivinen kontrolli)	–15...–35 °C	15–30 °C	Kertakäyttöinen injektiopullo Käytä 24 tunnin sisällä
qHCV PCAL (positiivinen kalibraattori)	–15...–35 °C	15–30 °C	Kertakäyttöinen injektiopullo Käytä 24 tunnin sisällä

[a] Kun reagenssit poistetaan Panther-järjestelmästä, ne on palautettava heti asianmukaisiin säilytyslämpötiloihinsa.

B. Hävitä kaikki käyttämättömät liuotetut reagenssit ja kohteen sieppausreagenssi (Target Capture Reagent, TCR) 30 päivän kuluttua tai kun pääerän viimeinen käyttöpäivä on umpeutunut, kumpi tapahtuukin ennemmin.

C. Panther-järjestelmässä säilytettyjen reagenssien säilyvyys on 72 tuntia. Reagenssit voidaan lisätä Panther-järjestelmään enintään 8 kertaa. Panther System kirjaa lokiin jokaisen reagenssien lisäyskerran.

D. Kalibraattorin sulattamisen jälkeen liuoksen on oltava kirkasta, eli se ei saa olla utuista eikä siinä saa olla sakkaa.



E. Promoottorireagenssi ja liuotettu promoottorireagenssi ovat valonarkoja. Suojaa nämä reagenssit valolta säilytyksen ja käytön valmistelun aikana.

Näytteiden kerääminen ja säilyttäminen

Huomautus: *Käsittele kaikkia näytteitä aivan kuin ne sisältäisivät mahdollisesti tartuntavaarallisia aineita. Käytä yleisiä varotoimia.*

Huomautus: *Vältä ristikontaminaatiota näytteiden käsittelyn aikana. Hävitä esimerkiksi käytetyt materiaalit viemättä niitä avoimien putkien yli.*

Huomautus: *vain muovisia toissijaisia putkia suositellaan säilytettäväksi.*

Seuraaviin lasi- tai muoviputkiin kerättyjä kokoverinäytteitä voidaan käyttää:

- etyleenidiamiinitetraetikkahappoa (EDTA) tai happositraattidekstroosi (ACD) -antikoagulantteja sisältävät putket tai
- plasman valmistusputket (PPT:t)
- seerumiputket
- seerumin erotusputket (SST).

Anna seerumin hyytyä ennen seerumin lisäkäsittelyä.

A. Näytteenotto

Kokoveri voidaan säilyttää 2–30 °C:ssa, ja se on sentrifugoitava 6 tunnin kuluessa näytteenotosta. Erota plasma tai seerumi pelletöidyistä punasoluista käytettävän putken valmistajan ohjeiden mukaisesti. Plasma tai seerumi voidaan testata Panther Systemissä ensisijaisessa putkessa tai siirtää toissijaiseen putkeen, kuten Aptima-näytealikvoottiputkeen. 500 µL:n reaktiotilavuuden saamiseksi seerumin tai plasman vähimmäistilavuus ensisijaisissa keruuputkissa on enintään 1200 µL ja toissijaisissa putkissa 700 µl. Seuraavassa taulukossa on eritelty kunkin ensisijaisen ja toissijaisen putkityypin kuolleen tilavuuden vaatimukset.

Putki (koko ja tyyppi)	Kuollut tilavuus Pantherissa
Aptima-näytealikvoottiputki (SAT)	0,2 mL
12 x 75 mm	0,5 mL
13 x 100 mm	0,5 mL
13 x 100 mm geelin kanssa	0,3 mL
16 x 100 mm geelin kanssa	0,7 mL

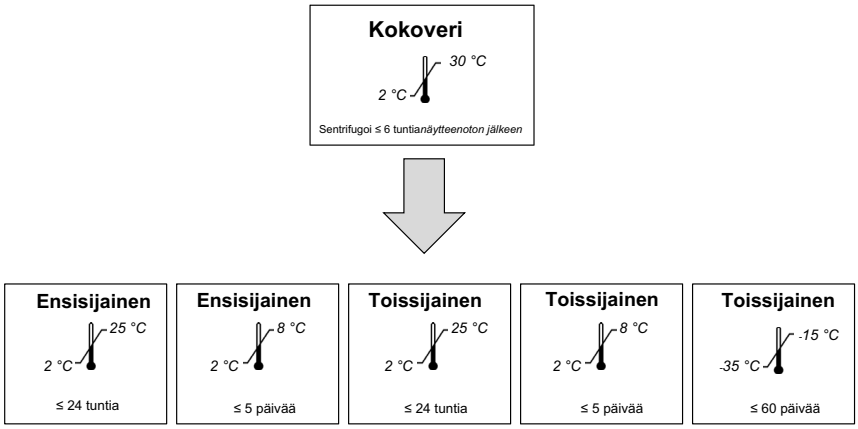
Jos plasmaa ja seerumia ei testata heti, niitä voidaan säilyttää alla esitettyjen ohjeiden mukaisesti. Jos plasma tai seerumi siirretään toissijaiseen putkeen, se voidaan jäädyttää –20 °C:seen. Älä tee useampaa kuin kolmea jäädytys-sulatuskäsittelyä. Älä jäädytä näytteitä EDTA-, ACD- tai seerumin ensisijaisissa keruuputkissa.

B. Näytteiden säilytysolosuhteet

1. EDTA- ja ACD-plasmanäytteet

Kokoveri voidaan säilyttää 2–30 °C:ssa, ja se on sentrifugoitava 6 tunnin kuluessa näytteenotosta. Plasmaa voidaan sen jälkeen säilyttää jossain seuraavista olosuhteista:

- ensisijaisessa keruuputkessa tai toissijaisessa putkessa 2–25 °C:ssa enintään 24 tunnin ajan
- ensisijaisessa keruuputkessa tai toissijaisessa putkessa 2–8 °C:ssa enintään 5 päivän ajan
- toissijaisessa putkessa –20 °C:ssa enintään 60 päivän ajan.

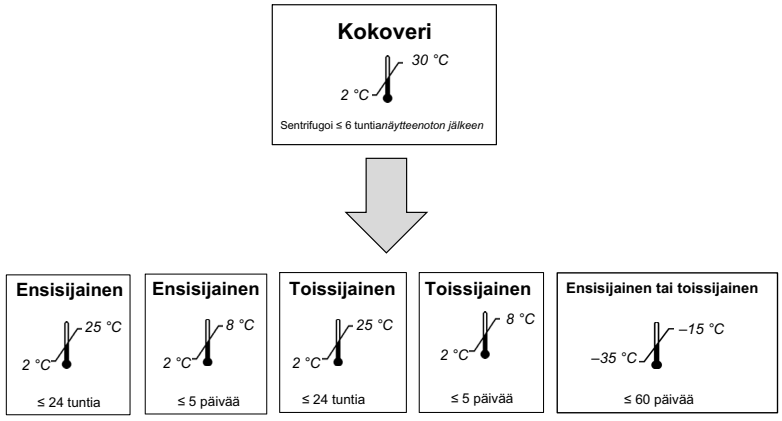


Kuva 1. EDTA/ACD-putkien säilytysehdot

2. PPT-näytteet

Kokoveri voidaan säilyttää 2–30 °C:ssa, ja se on sentrifugoitava 6 tunnin kuluessa näytteenotosta. Plasmaa voidaan sen jälkeen säilyttää jossain seuraavista olosuhteista:

- ensisijaisessa keruuputkessa tai toissijaisessa putkessa 2–25 °C:ssa enintään 24 tunnin ajan
- ensisijaisessa keruuputkessa tai toissijaisessa putkessa 2–8 °C:ssa enintään 5 päivän ajan
- ensisijaisessa keruuputkessa tai toissijaisessa putkessa –20 °C:ssa enintään 60 päivän ajan.

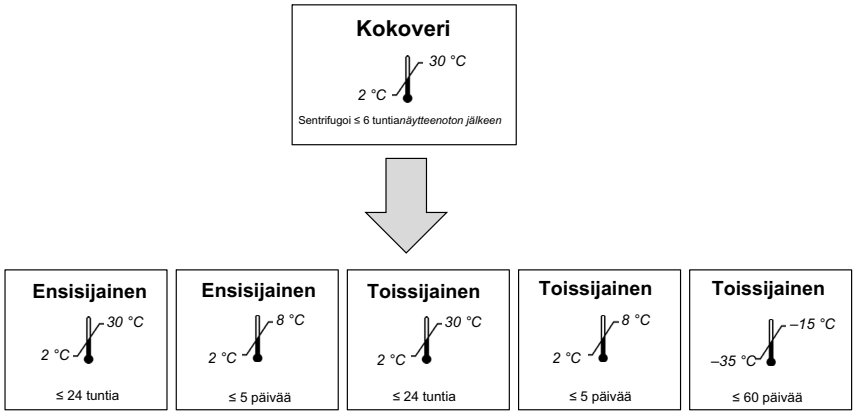


Kuva 2. PPT-putkien säilytysolosuhteet

3. Seerumiputkien näytteet

   Kokoveri voidaan säilyttää 2–30 °C:ssa, ja se on sentrifugoitava 6 tunnin kuluessa näytteenotosta. Seerumia voidaan sen jälkeen säilyttää jossain seuraavista olosuhteista:

   - ensisijaisessa keruuputkessa tai toissijaisessa putkessa 2–30 °C:ssa enintään 24 tunnin ajan
   - ensisijaisessa keruuputkessa tai toissijaisessa putkessa 2–8 °C:ssa enintään 5 päivän ajan
   - toissijaisessa putkessa –20 °C:ssa enintään 60 päivän ajan.

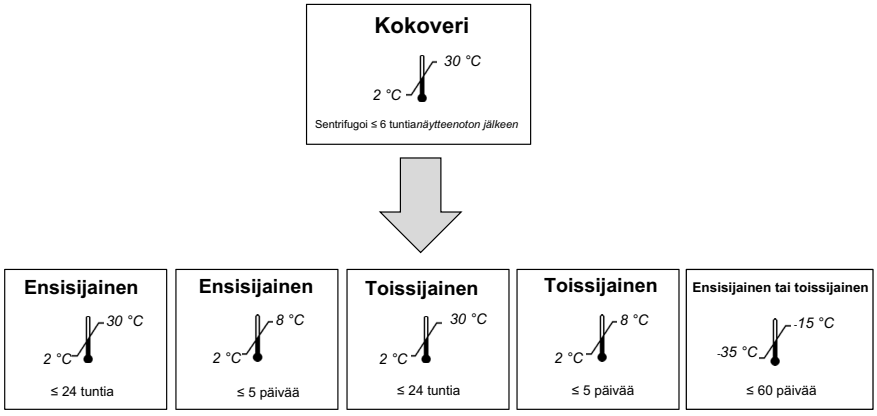


Kuva 3. Seerumiputkien säilytysolosuhteet

4. SST-näytteet

   Kokoveri voidaan säilyttää 2–30 °C:ssa, ja se on sentrifugoitava 6 tunnin kuluessa näytteenotosta. Seerumia voidaan sen jälkeen säilyttää jossain seuraavista olosuhteista:

   - ensisijaisessa keruuputkessa tai toissijaisessa putkessa 2–30 °C:ssa enintään 24 tunnin ajan
   - ensisijaisessa keruuputkessa tai toissijaisessa putkessa 2–8 °C:ssa enintään 5 päivän ajan
   - ensisijaisessa keruuputkessa tai toissijaisessa putkessa –20 °C:ssa enintään 60 päivän ajan.



Kuva 4. SST-putkien säilytysolosuhteet

C. Pitkäaikainen säilytys jäädytettynä

Plasma- tai seeruminäytteitä voidaan säilyttää –65...–70 °C:ssa enintään 60 päivän ajan SAT-putkissa.

D. Plasma- ja seeruminäytteiden laimentaminen

Plasma- ja seeruminäytteet voidaan laimentaa SAT-putkessa tai toissijaisessa putkessa Panther Systemissä testausta varten. Katso lisätietoja alta kohdasta *Panther-järjestelmän testausmenetelmä*, vaihe E.5.

⚠ *Diagnostista tulkintaa ei tule tehdä ”Ei havaittu” -tuloksesta laimennettujen seerumi- tai plasmanäytteiden kohdalla. Hanki uusi laimentamaton näyte ja testaa se uudelleen.*

Huomautus: *Jos näyte laimennetaan, se on testattava heti laimentamisen jälkeen. Älä jäädytä laimennettua näytettä.*

Panther-järjestelmässä säilytetyt näytteet

Näytteet voidaan jättää Panther-järjestelmään ilman korkkia enintään 8 tunnin ajaksi. Näytteet voidaan poistaa Panther-järjestelmästä ja testata, kunhan kokonaissäilytysaika järjestelmässä ei ylitä 8 tuntia, ennen kuin Panther-järjestelmä pipetoi näytteen.

Näytteen siirto

Pidä näytteen säilytysolosuhteet kohdassa *Näytteiden kerääminen ja säilyttäminen* kuvattuina.

Huomautus: *näytteet on kuljetettava soveltuvien kansallisten, kansainvälisten ja paikallisten siirtosäännösten mukaisesti.*

Panther-järjestelmä

Aptima HCV Quant Dx -määrityksen reagenssit luetellaan alla Panther-järjestelmää varten. Reagenssin yksilöintimerkinnät luetellaan myös reagenssin nimen vieressä.

Toimitetut reagenssit ja materiaalit

Aptima HCV Quant Dx Assay Kit -tarvikesarja, 100 testiä, tuotenro PRD-03506
(1 määrityslaatikko, 1 kalibraattoripakkaus ja 1 kontrollipakkaus)
Kalibraattorit ja kontrollit voidaan tilata erikseen. Katso alla olevat vastaavat tuotenumerot.

Aptima HCV Quant Dx Assay -laatikko
(säilytä 2–8 °C:ssa vastaanoton jälkeen)

Symboli	Komponentti	Määrä
A	**qHCV Amplification Reagent** *Ei-infektoivat nukleiinihapot puskuriliuokseen kuivattuina*	1 injektiopullo
E	**qHCV Enzyme Reagent** *Käänteistranskriptaasi ja RNA-polymeraasi kuivattuina HEPES-puskuroidussa liuoksessa*	1 injektiopullo
PRO	**qHCV Promoter Reagent** *Ei-infektoivat nukleiinihapot puskuriliuokseen kuivattuina*	1 injektiopullo
AR	**qHCV Amplification Reconstitution Solution** *Vesiliuos, joka sisältää glyserolia ja säilöntäaineita*	1 x 7,2 mL
ER	**qHCV Enzyme Reconstitution Solution** *HEPES-puskuroitu liuos, joka sisältää pinta-aktiivista ainetta ja glyserolia*	1 x 5,8 mL
PROR	**qHCV Promoter Reconstitution Solution** *Vesiliuos, joka sisältää glyserolia ja säilöntäaineita*	1 x 4,5 mL
TCR	**qHCV Target Capture Reagent** *Nukleiinihapot puskuroidussa suolaliuoksessa, joka sisältää kiinteän faasin ei-infektoivia nukleiinihappoja ja sisäistä kalibraattoria*	1 x 72,0 mL
	Sekoituskaulukset	3
	Pääerän viivakoodiarkki	1 arkki

Aptima HCV Quant Dx -kalibraattoripakkaus (tuotenro PRD-03507)
(säilytä –15...–35 °C:ssa vastaanoton jälkeen)

Symboli	Komponentti	Määrä
PCAL	**qHCV Positive Calibrator** *Transkripti puskuroidussa liuoksessa*	5 x 2,5 mL
	Kalibraattorin viivakooditarra	–

Aptima HCV Quant Dx -kontrollipakkaus (tuotenro PRD-03508)
(säilytä –15...–35 °C:ssa vastaanoton jälkeen)

Symboli	Komponentti	Määrä
NC	**qHCV Negative Control** *HCV-negatiivinen defibrinoitu ihmisen plasma, joka sisältää gentamysiiniä ja 0,2-prosenttista natriumatsidia säilöntäaineina*	5 x 0,8 mL
LPC	**qHCV Low Positive Control** *Ei-infektoiva HCV:n Armored RNA defibrinoidussa ihmisen plasmassa, joka sisältää gentamysiiniä ja 0,2-prosenttista natriumatsidia säilöntäaineina*	5 x 0,8 mL
HPC	**qHCV High Positive Control** *Ei-infektoiva HCV:n Armored RNA defibrinoidussa ihmisen plasmassa, joka sisältää gentamysiiniä ja 0,2-prosenttista natriumatsidia säilöntäaineina*	5 x 0,8 mL
	Kontrollin viivakooditarra	–

Materiaalit, jotka tarvitaan mutta jotka ovat saatavissa erikseen

Huomautus: *Hologicilta saatavissa oleville materiaaleille on annettu tuotenumerot, ellei toisin ole määritetty.*

Materiaali	Tuotenro
Panther™-järjestelmä	303095
Panther Fusion™ -järjestelmä	PRD-04172
Panther™-järjestelmä, jatkuva neste ja jäte (Panther Plus)	PRD-06067
Aptima® HCV Quant Dx -kontrollipakkaus	PRD-03508
Aptima® HCV Quant Dx -kalibraattoripakkaus	PRD–03507
Panther-ajopakkaus reaaliaikaista määritystä varten (vain reaaliaikaiset määritykset)	PRD-03455 (5 000 testiä)
Aptima®-määritysnestepakkaus (tunnetaan myös nimellä Universal Fluids Kit, yleisnestepakkaus) *Sisältää Aptima®-pesuliuosta, Aptima®-deaktivointipuskuria ja Aptima®-öljyreagenssia.*	303014 (1 000 testiä)
Moniputkiyksiköt (MTU:t)	104772-02
Panther™-jätepussipakkaus	902731
Panther™-jäteastian kansi	504405
Vaihtoehtoisesti Panther™-järjestelmän ajopakkaus *(kun ajetaan ei-reaaliaikaisia TMA-määrityksiä rinnan reaaliaikaisten TMA-määritysten kanssa) Sisältää moniputkiyksiköitä, jätepusseja, jäteastian kansia ja määritysnesteitä.*	303096 (5000 testiä)
Kärjet, 1 000 µL, suodattavia, sähköä johtavia, nesteen tunnistavia ja kertakäyttöisiä *Kaikki tuotteet eivät ole saatavina kaikilla alueilla. Pyydä oman alueesi tiedot paikalliselta edustajalta.*	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Valkaisuaine, 5–8,25-prosenttinen (0,7–1,16 M) natriumhypokloriittiliuos	–
Kertakäyttöiset jauheettomat käsineet	–
Vaihdettavat korkit, joita ei voi läpäistä	103036A
Reagenssin vaihtokorkit *Monistus-, entsyymi-, promoottorireagenssien sekoituspullot* *TCR-pullo*	 CL0041 (100 korkkia) CL0040 (100 korkkia)
Muovitaustaiset laboratoriopöydän suojukset	–
Nukkaamattomat liinat	–
Pipetoija	–
Kärjet	–
Ensisijaisen keräysputken vaihtoehdot: *13 x 100 mm* *13 x 75 mm* *16 x 100 mm.*	 – – –
Sentrifugi	–
Vortex-sekoitin	–

Valinnaiset materiaalit

Materiaali	Tuotenro
Toissijaisen putken vaihtoehdot:	
12 x 75 mm	–
13 x 100 mm	–
16 x 100 mm.	–
Aptima-näytealikvoottiputket (SAT:t)) (100 kpl:n pakkaus)	FAB-18184
Siirtoputken korkki (100 kpl:n pakkaus) *SAT-putken korkki*	504415
Aptima®-näytteenlaimennin	PRD-03003
Aptima®-näytteenlaimenninpakkaus *sisältää näytteen laimennusaineen, 100 SAT-putkea ja 100 korkkia*	PRD-03478
Siirtopipetit	–
Kaupallisesti saatavissa olevat testisarjat	–
Vanukärkiset puikot	–
Putkiravistelija	PRD-03488

Panther-järjestelmän testausmenetelmä

Huomautus: *Panther- / Panther Fusion -järjestelmän käyttöoppaassa on lisätietoja toimenpiteistä.*

A. Työskentelyalueen valmistelu

1. Puhdista työskentelypinnat, joilla reagenssit valmistellaan. Pyyhi työskentelypinnat 2,5–3,5-prosenttisella (0,35–0,5 M) natriumhypokloriittiliuoksella. Anna natriumhypokloriittiliuoksen koskea pintoihin vähintään 1 minuutin ajan ja tee sitten huuhtelu deionisoidulla (DI) vedellä. Älä anna natriumhypokloriittiliuoksen kuivua. Peitä pöytäpinta puhtailla, muovitaustaisilla imukykyisillä työpöytäpeitteillä.
2. Puhdista erillinen työskentelypinta, jossa näytteet valmistellaan. Käytä edellä kuvattua menettelyä (vaihe A.1).
3. Puhdista pipetoijat. Käytä edellä kuvattua puhdistusmenettelyä (vaihe A.1).

B. Kalibraattorin ja kontrollien valmistelu

Anna kalibraattorin ja kontrollien lämpötilan nousta 15–30 °C:seen ennen käsittelyä toimimalla seuraavasti:

1. Poista kalibraattori ja kontrollit säilytyksestä (–15...–35 °C) ja tuo ne 15–30 °C:n lämpötilaan. Käännä jokaista putkea koko sulatusprosessin ajan, jotta ne sekoittuvat kunnolla. Varmista, että putken sisältö sulaa kokonaan ennen käyttöä.

   Vaihtoehto: Kalibraattori- ja kontrolliputket voidaan asettaa putkiravistelijaan, jossa ne sekoitetaan kunnolla. Varmista, että putken sisältö sulaa kokonaan ennen käyttöä.

   Huomautus: *Vältä liian voimakasta vaahdonkehitystä kääntäessäsi kalibraattoria ja kontrolleja. Vaahto estää Panther-järjestelmän pinnantason havainnoinnin toiminnan.*
2. Kun putken sisältö on sulanut, kuivaa putken ulkopinta puhtaalla, kuivalla, kertakäyttöisellä pyyhkeellä.
3. Älä avaa putkia tässä vaiheessa, jotteivät ne kontaminoidu.

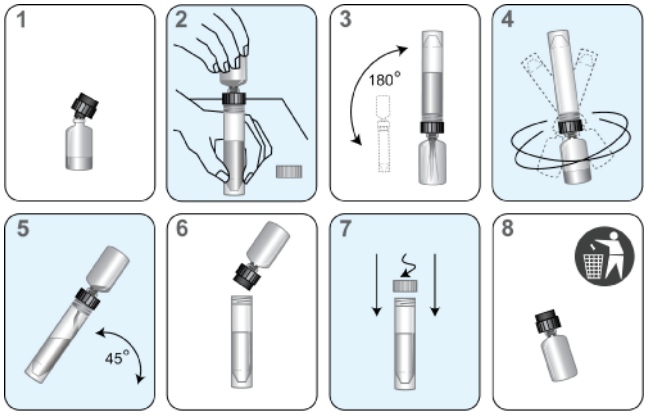
C. Reagenssin käyttövalmiiksi saattaminen / uuden pakkauksen valmistelu

Huomautus: *reagenssien sekoitus eli käyttövalmiiksi saattaminen on tehtävä ennen minkään töiden aloittamista Panther-järjestelmässä.*

1. Toimi seuraavasti kohteen poimintareagenssin (TCR) valmistelemista varten:
   a. Poista TCR säilytyksestä (2–8 °C). Tarkista TCR-pullon eränumero ja varmista, että se vastaa pääerän viivakoodiarkin eränumeroa.
   b. Ravistele TCR-pulloa heti voimakkaasti 10 kertaa. Anna TCR-pullon jäädä 15–30 °C:seen lämpenemään vähintään 45 minuutin ajaksi. Ravistele ja kääntele tänä aikana TCR-pulloa vähintään 10 minuutin välein.

      Vaihtoehto: TCR-pullo voidaan valmistella putkiravistelijassa seuraavien ohjeiden mukaisesti: Poista TCR säilytyksestä (2–8 °C) ja ravistele sitä heti voimakkaasti 10 kertaa. Aseta TCR-pullo putkiravistelijaan ja jätä TCR 15–30 °C:seen lämpenemään vähintään 45 minuutin ajaksi.
   c. Varmista, että kaikki sakka on liuoksessa ja magneettihiukkaset on suspendoitu ennen käyttöä.
2. Tee monistus-, entsyymi- ja promoottorireagenssien sekoitus seuraavalla tavalla:
   a. Poista kylmäkuivatut reagenssit ja vastaavat sekoitusliuokset säilytyksestä (2–8 °C). Käytä jokaista sekoitusliuosta kylmäkuivatun reagenssinsa kanssa.
   b. Varmista, että sekoitusliuoksella ja kylmäkuivatulla reagenssilla on täsmäävät tarran värit. Tarkista pääerän viivakoodiarkin eränumerot ja varmista, että käytät yhdessä asianmukaisia reagensseja.
      i. Avaa kylmäkuivattu reagenssipullo poistamalla metallitiiviste ja kumitulppa.
      ii. Aseta sekoituskauluksen (musta) urallinen pää injektiopulloon (Kuva 5, vaihe 1).
      iii. Avaa täsmäävä sekoitusliuospullo ja aseta korkki puhtaalle, peitetylle työskentelypinnalle.
      iv. Aseta liuotusliuospullo vakaalle pinnalle (eli pöydälle). Käännä sen jälkeen kylmäkuivattua reagenssia sisältävä pullo sekoitusliuospullon päälle ja kiinnitä kaulus lujasti sekoitusliuospulloon (Kuva 5, vaihe 2).
      v. Käännä kootut pullot hitaasti (injektiopullo kiinnitettynä liuospulloon), jotta liuos pääsee valumaan lasiseen injektiopulloon (Kuva 5, vaihe 3).
      vi. Ota kootut pullot ja ravistele koottuja pulloja vähintään 10 sekunnin ajan (Kuva 5, vaihe 4).
      vii. Odota vähintään 30 minuuttia, jota kylmäkuivattu reagenssi valuu liuokseen.
      viii. Kun kylmäkuivattu reagenssi on valunut liuokseen, sekoita koottuja pulloja vähintään 10 sekunnin ajan ja ravistele sitten liuosta kevyesti lasisessa injektiopullossa edestakaisin, jotta se sekoittuu kunnolla.
   c. Kallista koottuja pulloja hitaasti uudelleen, jotta kaikki liuos pääsee valumaan takaisin sekoitusliuospulloon (Kuva 5, vaihe 5).
   d. Ota liuotuskaulus ja lasinen injektiopullo varovasti pois (Kuva 5, vaihe 6).
   e. Laita korkki takaisin pulloon. Merkitse käyttäjän nimikirjaimet ja sekoituspäivä etikettiin (Kuva 5, vaihe 7).
   f. Hävitä sekoituskaulus ja lasinen injektiopullo (Kuva 5, vaihe 8).

Varoitus: *Vältä liian voimakasta vaahdonkehitystä liuottaessasi reagensseja. Vaahto estää Panther-järjestelmän pinnantason havainnoinnin toiminnan.*



Kuva 5. Reagenssin liuotusprosessi

D. Reagenssin valmistus aiemmin valmistettuja reagensseja varten

1. Ota aiemmin valmistetut reagenssit pois säilytyksestä (2–8 °C).
2. Ennalta valmistettujen monistus-, entsyymi-, promoottorireagenssien ja TCR:n lämpötilan on oltava 15–30 °C ennen määrityksen aloittamista.
3. Ennalta valmistetun TCR:n tapauksessa suorita edellä kuvattu vaihe C.1 ennen järjestelmään lisäämistä.
4. Sekoita ja kääntele monistus-, entsyymi- ja promoottorireagensseja, jotta ne sekoittuvat kunnolla, ennen kuin lisäät ne järjestelmään. Vältä liian voimakasta vaahdonkehitystä käännellessäsi reagensseja.

   Vaihtoehto: Aiemmin valmisteltu reagenssi voidaan valmistaa putkiravistelijassa seuraavien ohjeiden mukaisesti: Poista reagenssi säilytyksestä (2–8 °C). Aseta reagenssi putkiravistelijaan ja jätä TCR 15–30 °C:seen lämpenemään vähintään 30 minuutin ajaksi.
5. Älä täytä vajaita reagenssipulloja. Panther System tunnistaa ja hylkää liian täydet pullot.

E. Näytteiden käsittely

1. Varmista, että ensisijaisissa putkissa prosessoidut näytteet tai toissijaisissa putkissa olevat laimentamattomat näytteet on säilytetty asianmukaisesti kohdan *Näytteiden kerääminen ja säilyttäminen* ohjeiden mukaan.
2. Varmista, että jäädytetyt näytteet on sulatettu kunnolla. Sekoita sulatettuja näytteitä vortex-sekoittimella 3–5 sekunnin ajan, jotta ne sekoittuvat kunnolla.
3. Anna näytteiden lämpötilan nousta 15–30 °C:seen ennen käsittelyä. Katso kohdasta *Panther-järjestelmässä säilytetyt näytteet* lisätietoja järjestelmässä säilytyksestä.
4. Varmista, että kussakin ensisijaisessa keräysputkessa on enintään 1200 µL näytettä tai kussakin SAT:ssä vähintään 700 µL näytettä. Kohdan *Näytteenotto* taulukossa on eritelty kunkin ensisijaisen ja toissijaisen putkityypin kuolleen tilavuuden vaatimukset. Jos näytteen laimennus on tarpeen, katso lisätietoja alta vaiheesta E.5.
5. Laimenna plasma- tai seeruminäyte suhteessa 1:3 SAT:ssä tai 1:100 toissijaisessa putkessa.

   Näyte voidaan laimentaa toissijaisessa putkessa testattavaksi Panther Systemissä.

⚠ *Diagnostista tulkintaa ei tule tehdä ”Ei havaittu” -tuloksesta laimennettujen seerumi- tai plasmanäytteiden kohdalla. Hanki uusi laimentamaton näyte ja testaa se uudelleen.*

Huomautus: *jos näyte laimennetaan, se on testattava heti laimentamisen jälkeen.*

a. Pienien näytteiden laimentaminen

Näytteiden tilavuus voidaan kasvattaa pienimpään sallittuun tilavuuteen (700 µL) Aptima-näytteenlaimentimella. Näytteet, joiden tilavuus on vähintään 240 µL, voidaan laimentaa kahteen osaan näytteenlaimenninta (1:3) seuraavasti:

i. Laita 240 µL näytettä SAT:hen.

ii. Lisää 480 µL Aptima-näytteenlaimenninta.

iii. Sulje putki korkilla.

iv. Kääntele putkea kevyesti viisi kertaa, jotta se sekoittuu.

Suhteessa 1:3 laimennetut näytteet voidaan testata käyttämällä Panther-järjestelmän 1:3-asetusta (katso tarkempia tietoja *Panther- / Panther Fusion -järjestelmän käyttöoppaasta*). Ohjelmisto ilmoittaa automaattisesti puhtaan tuloksen käyttämällä laimennuskerrointa. Nämä näytteet merkitään laimennetuiksi näytteiksi.

b. Väkevien näytteiden laimentaminen

Jos näytteen tulos ylittää kvantitoinnin ylärajan (ULoQ), se voidaan laimentaa 99 osalla Aptima-näytteenlaimenninta (1:100) seuraavasti:

i. Aseta 30 µL näytettä SAT-putkeen tai toissijaiseen putkeen.

ii. Lisää 2970 µL Aptima-näytteenlaimenninta.

iii. Sulje putki korkilla.

iv. Kääntele putkea kevyesti viisi kertaa, jotta se sekoittuu.

Suhteessa 1:100 laimennetut näytteet voidaan testata käyttämällä Panther-järjestelmän 1:100-asetusta (katso tarkempia tietoja *Panther- / Panther Fusion -järjestelmän käyttöoppaasta*). Ohjelmisto ilmoittaa automaattisesti puhtaan tuloksen käyttämällä laimennuskerrointa. Nämä näytteet merkitään laimennetuiksi näytteiksi.

Huomautus: *laimennetuille näytteille, joiden sekoittamattomat pitoisuudet ylittävät ULoQ-arvon, tulokset ilmoitetaan kymmenpotenssimuodossa.*

6. Käsittele jokaista näytettä 1000–3000 *g*:n kiihtyvyydellä sentrifugissa 10 minuutin ajan juuri ennen näytteiden lataamista näytetelineeseen. Älä poista korkkeja. Putkessa olevat kuplat estävät Panther-järjestelmän tason tunnistuksen.

   Katso alta *Järjestelmän valmistelu*, vaihe F.2 saadaksesi tietoja telineen täyttämisestä ja korkkien poistamisesta.

F. Järjestelmän valmistelu

1. Valmistele järjestelmä *Panther- / Panther Fusion -järjestelmän käyttöoppaan* ja *Menetelmää koskevia huomautuksia -kohdan ohjeiden mukaisesti.* Varmista, että käytetyt reagenssitelineet ja TCR-sovittimet ovat sopivankokoisia.
2. Lisää näytteet näytetelineeseen. Suorita seuraavat vaiheet jokaiselle näyteputkelle (näyte ja tarvittaessa kalibraattori ja kontrollit):
   a. Avaa yhden näyteputken korkki, mutta älä ota sitä vielä pois.

      Huomautus: *Ole erityisen varovainen, jottei aerosolien leviäminen aiheuta kontaminaatiota. Avaa näytteiden korkkeja varovasti.*

   b. Aseta näyteputki näytetelineeseen.

   c. Toista vaiheet 2.a ja 2.b kaikille jäljellä oleville näytteille.

d. Kun näytteet on ladattu näytetelineeseen, poista ja hävitä yhden näytetelineen jokaisen näyteputken korkki. Kontaminaation välttämiseksi älä vie korkkia minkään muun näytetelineen tai näyteputken yli.

e. Käytä tarvittaessa uutta, kertakäyttöistä siirtopipettiä mahdollisten kuplien tai vaahdon poistamiseen.

f. Kun viimeinen korkki on poistettu, lataa näyteteline näytetilaan.

Huomautus: *jos samaan aikaan suoritetaan muita määrityksiä ja näytetyyppejä, kiinnitä näytekiinnitin ennen näytetelineen lataamista näytetilaan.*

g. Toista vaiheet 2.a ja 2.f seuraavalle näytetelineelle.

Menetelmää koskevia huomautuksia

A. Kalibraattori ja kontrollit

1. qHCV-positiivisen kalibraattorin, qHCV:n alarajan positiivisen kontrollin, qHCV:n ylärajan positiivisen kontrollin ja qHCV-negatiivisten kontrollien putket voidaan asettaa mihin tahansa paikkaan näytetelineeseen ja mille tahansa Panther-järjestelmän näyteosaston kaistalle. Näytteiden pipetointi aloitetaan, kun toinen seuraavista kahdesta ehdosta täyttyy:
   a. Kalibraattori ja kontrollit ovat tällä hetkellä järjestelmän käsiteltävinä.
   b. Kalibraattorin ja kontrollien kelvolliset tulokset rekisteröidään järjestelmään.
2. Kun kalibraattori- ja kontrolliputket on pipetoitu ja niitä käsitellään Aptima HCV Quant Dx Assay -määrityksen reagenssipakkauksen kanssa, näytteet voidaan testata asiaankuuluvan, käyttövalmiiksi saatetun pakkauksen kanssa enintään 24 tunnin ajan, **paitsi seuraavissa tapauksissa:**
   a. Kalibraattorin tulos tai verrokkitulokset ovat virheellisiä.
   b. Liittyvä määritysreagenssipakkaus poistetaan järjestelmästä.
   c. Liittyvän määritysreagenssipakkauksen säilyvyysaika on ylittynyt.
3. Kalibraattoria ja jokaista kontrolliputkea voidaan käyttää vain kerran. Jos putkea yritetään käyttää useammin kuin kerran, seurauksena voi olla käsittelyvirheitä.

B. Käsineiden jauhe

Kuten kaikkien reagenssijärjestelmien tapauksessa, tiettyjen käsineiden liian suuret jauhemäärät voivat aiheuttaa avattujen putkien kontaminoitumisen. Siksi suosittelemme jauheettomia käsineitä.

Laadunvalvonta

Käyttäjä saattaa hylätä ajon tai näytteen tuloksen, jos määrityksen suorituksen aikana ilmenee teknisiä, käyttäjään tai laitteeseen liittyviä ongelmia, jotka on dokumentoitava. Tässä tapauksessa näytteet on testattava uudelleen.

Määrityksen kalibrointi

Määritys on kalibroitava, jotta voidaan saada kelvollisia tuloksia. Yksi positiivinen kalibraattori ajetaan kolmesti joka kerta, kun reagenssipakkaus asetetaan Panther-järjestelmään. Kun kalibrointi on tehty, se on voimassa enintään 24 tunnin ajan. Panther-järjestelmän ohjelmisto kertoo käyttäjälle, milloin kalibrointi on tarpeen. Käyttäjä lukee jokaisen reagenssipakkauksen mukana toimitetusta pääerän viivakoodiarkista kalibrointikertoimen.

Käsittelyn aikana Panther-järjestelmän ohjelmisto tarkistaa automaattisesti kalibraattorin hyväksyntäehdot. Jos alle kaksi kalibraattorin ajoista on kelvollisia, ohjelmisto hylkää ajon automaattisesti. Virheelliseksi määritetyn ajon näytteet on testattava uudelleen käyttämällä juuri valmistettua kalibraattoria ja juuri valmistettuja kontrolleja.

Negatiiviset ja positiiviset kontrollit

Joukko määrityksen kontrolleja on testattava kelvollisten tulosten saamiseksi. Negatiivisen kontrollin, alarajan positiivisen kontrollin ja ylärajan positiivisen kontrollin yksi ajo on testattava joka kerta, kun reagenssipakkaus asetetaan Panther-järjestelmään. Kun testaus on tehty, kontrolleja voi käyttää enintään 24 tunnin ajan. Panther-järjestelmän ohjelmisto kertoo käyttäjälle, milloin kontrolleja tarvitaan.

Käsittelyn aikana Panther-järjestelmän ohjelmisto tarkistaa automaattisesti kontrollien hyväksyntäehdot. Jotta tuloksista tulee kelvollisia, negatiivisen kontrollin on annettava ”Ei havaittu” -tulos ja positiivisen kontrollin tuloksen on oltava ennalta määritettyjen parametrien rajoissa (nimellinen LPC-tavoite: 2,36 $\log_{10}$ IU/mL, nimellinen HPC-tavoite: 5,36 $\log_{10}$ IU/mL). Jos jokin kontrolleista saa epäkelvon tuloksen, ohjelmisto hylkää ajon automaattisesti. Virheelliseksi määritetyn ajon näytteet on testattava uudelleen käyttämällä juuri valmistettua kalibraattoria ja juuri valmistettuja kontrolleja.

Sisäinen kalibraattori / sisäinen kontrolli

Jokainen näyte sisältää sisäistä kalibraattoria / sisäistä kontrollia (IC). Käsittelyn aikana Panther-järjestelmän ohjelmisto tarkistaa automaattisesti IC-hyväksyntäehdot. Jos IC-tulos on epäkelpo, näytteen tulos hylätään. Jokainen epäkelvon IC-tuloksen saanut näyte on testattava uudelleen, jotta sille saadaan kelvollinen tulos.

Panther-järjestelmän ohjelmisto tarkistaa prosessit tarkasti, kun toimenpiteet suoritetaan noudattaen tässä pakkausselosteessa ja *Panther- / Panther Fusion -järjestelmän käyttöoppaassa* annettuja ohjeita.

Tulosten tulkinta

Panther System määrittää automaattisesti HCV:n RNA-pitoisuuden näytteistä ja verrokeista vertaamalla tuloksia kalibrointikäyrään. HCV:n RNA-pitoisuudet ilmoitetaan yksiköissä IU/mL ja $\log_{10}$ IU/mL. Taulukko 1 esittää tulosten tulkinnan. Jos laimennetuille näytteille käytetään 1:3- tai 1:100-laimennosta, Panther-järjestelmä laskee automaattisesti HCV:n RNA:n pitoisuuden sekoittamattomalle näytteelle kertomalla laimennetun pitoisuuden laimennuskertoimella ja merkitsemällä laimennetut näytteet laimennetuiksi.

Huomautus: *Laimennettujen näytteiden tapauksessa ”Ei havaittu”- tai ”< 10 havaittu” -ilmoitus voi aiheutua laimennettaessa näyte, jonka pitoisuus on yli mutta silti lähellä LoD (havaitsemisraja)- tai LLoQ (kvantitoinnin alaraja) -raja-arvoja. On suositeltavaa kerätä ja testata toinen sekoittamaton näyte, jos kvantitatiivista tulosta ei saada.*

Panther System ei anna kvalitatiivista tulosta (eli ”Reaktiivinen” tai ”Ei-reaktiivinen”) diagnostista käyttöä varten. Käyttäjän on tulkittava ilmoitettu HCV:n RNA-pitoisuus kvalitatiiviseksi tulokseksi (Taulukko 1). Näytteet, joiden tuloksena mainitaan ”Ei havaittu”, eivät reagoi HCV:n RNA:n suhteen. Näytteet, joiden tulokseksi on ilmoitettu ”< 10 havaittu” tuloksen ollessa lineaarisella alueella, ja > 100 000 000 (kvantitoinnin yläraja) -tulos ilmaisevat, että HCV:n RNA:ta havaittiin ja että näytteet reagoivat HCV:n RNA:n suhteen.

Taulukko 1: Tuloksen tulkinta

Ilmoitettu Aptima HCV Quant Dx -määrityksen tulos		HCV:n RNA-pitoisuuden tulkitseminen	Käyttäjän diagnostinen kvalitatiivinen tulkitseminen[a]
IU/mL	$\log_{10}$-arvo[b]		
Ei havaittu	Ei havaittu	HCV:n RNA:ta ei havaittu.	Ei-reaktiivinen HCV:n RNA:n suhteen
< 10 tunnistettu	< 1,00	HCV:n RNA havaitaan, mutta sen pitoisuus on alle LLoQ:n	Reaktiivinen HCV:n RNA:n suhteen
10–100 000 000	1,00–8,00	HCV:n RNA:n pitoisuus on lineaarisella alueella 10–100 000 000 IU/mL	Reaktiivinen HCV:n RNA:n suhteen
> 100 000 000	> 8,00	HCV:n RNA:n pitoisuus on yli ULoQ:n	Reaktiivinen HCV:n RNA:n suhteen
Epäkelpo[c]	Epäkelpo[c]	Tuloksen muodostuksessa tapahtui virhe. Näyte on testattava uudelleen.	Virheellinen

[a] Diagnostinen tulkinta voidaan tehdä joko seerumi- tai plasmanäytteistä, joita ei ole laimennettu.
[b] Arvo typistetään kahteen kymmennyssijaan.
[c] Epäkelvot tulokset näytetään sinisellä kirjasinlajilla.

Taulukko 2 esittää hyväksymisperusteet kullekin Aptima HCV Quant Dx -määrityksen kontrolleista.

Huomautus: *Alla oleva talteensaantialue siirtyy kunkin tietyn erän määritetyn arvon perusteella. Katso kunkin kontrollilaatikon Kontrolliviivakoodiarkki-selosteessa mainittu määritetty pitoisuus.*

Taulukko 2: Aptima HCV Quant Dx -määrityksen kontrollien talteensaantialueen hyväksymisperusteet

Komponentti	Kelvollisten ajojen talteensaantialue
Negatiivinen kontrolli	-
Alarajan positiivinen kontrolli	+/- 0,5 $\log_{10}$ IU/mL
Ylärajan positiivinen kontrolli	+/- 0,5 $\log_{10}$ IU/mL

Rajoitukset

A. Tätä määritystä saavat käyttää vain toimenpiteen suorittamiseen koulutetut henkilöt. Tässä pakkausselosteessa annettujen ohjeiden noudattamatta jättäminen saattaa aiheuttaa virheellisiä tuloksia.

B. Luotettavia tuloksia saadaan vain, jos näytteenotto, kuljetus, säilytys ja käsittely tehdään vaaditulla tavalla.

C. Vaikkakin se on harvinaista, mutaatiot alukkeiden ja/tai koettimien kattamilla virusgenomin yhtenäisesti säilyneillä alueilla Aptima HCV Quant Dx -määrityksessä voivat aiheuttaa viruksen havaitsemisen epäonnistumisen.

Analyyttinen suorituskyky

Havaitsemisraja (Limit of Detection, LoD) käytettäessä WHO:n 2. kansainvälistä standardia

Määrityksen havaitsemisraja (LoD) määritetään siksi HCV:n RNA-pitoisuudeksi, joka todetaan vähintään 95 %:n todennäköisyydellä CLSI EP17-A2:n mukaisesti.[18]

LoD määritettiin testaamalla WHO:n toisen kansainvälisen hepatiitti C -viruksen RNA:n standardin (NIBSC 96/798 -genotyyppi 1) testisarjat laimennettuina HCV-negatiiviseen ihmisen EDTA-plasmaan ja -seerumiin. Jokaiselle laimennokselle testattiin 36 rinnakkaisnäytettä jokaisella kolmesta reagenssierästä, jolloin saatiin vähintään 108 rinnakkaisnäytettä laimennosta kohti. Probittianalyysi suoritettiin ennakoitujen havaitsemisrajojen luomiseksi. LoD-arvot ovat seurausta reagenssierästä, jolla on korkein ennakoitu havaitsemisraja. Aptima HCV Quant Dx -määrityksen 95 %:n LoD WHO:n toisen kansainvälisen standardin mukaisesti määritettynä on 4,3 IU/mL plasman osalta ja 3,9 IU/mL seerumin osalta.

Havaitsemisraja HCV-genotyyppien kesken

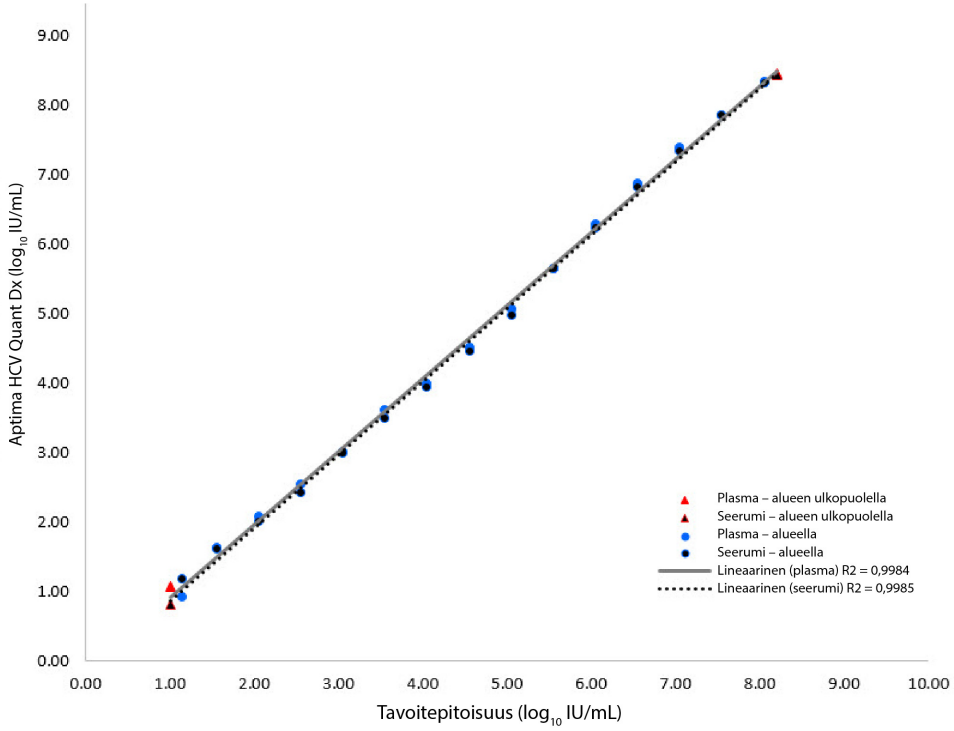
Havaitsemisraja (Limit of Detection, LoD) määritettiin testaamalla HCV-positiivisten kliinisten näytteiden laimennokset genotyypeille 1, 2, 3, 4, 5 ja 6 HCV-negatiivisessa ihmisen plasmasta ja seerumista. Pitoisuudet määritettiin käyttämällä hyväksyttyä määritystä. Jokaiselta testisarjan jäseneltä testattiin vähintään 20 rinnakkaisnäytettä jokaisesta kolmesta reagenssierästä, jolloin saatiin vähintään 60 rinnakkaisnäytettä testisarjan jäsentä kohti. Probittianalyysi suoritettiin 95 %:n ennakoitujen havaitsemisrajojen luomiseksi. LoD-arvot, jotka Taulukko 3 esittää, ovat tuloksia reagenssierästä, jolla on korkein ennakoitu havaitsemisraja.

Taulukko 3: Havaitsemisraja HCV-genotyyppien kesken käytettäessä kliinisiä näytteitä

Genotyyppi	Ennakoitu havaitsemisraja	Pitoisuus (IU/mL)	
		Plasma	Seerumi
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

Lineaarinen alue

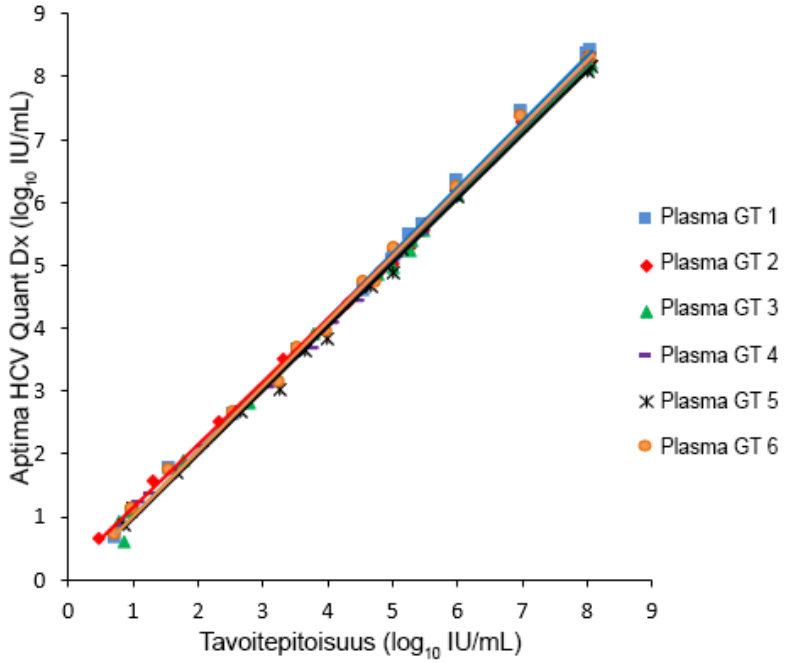
Lineaarinen alue määritettiin testaamalla testisarjat, jotka koostuivat HCV 1:n Armored RNA:sta (aRNA) laimennettuna HCV-negatiiviseen ihmisen plasmaan ja seerumiin CLSI EP06-A:n mukaisesti[19]. Testisarjojen pitoisuusalue oli 1,0–8,2 $\log_{10}$ IU/mL. Aptima HCV Quant Dx -määritys osoittautui lineaariseksi testatulla alueella, ja sen kvantitoinnin yläraja (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) oli 8,0 $\log_{10}$ IU/mL, kuten Kuva 6 esittää.



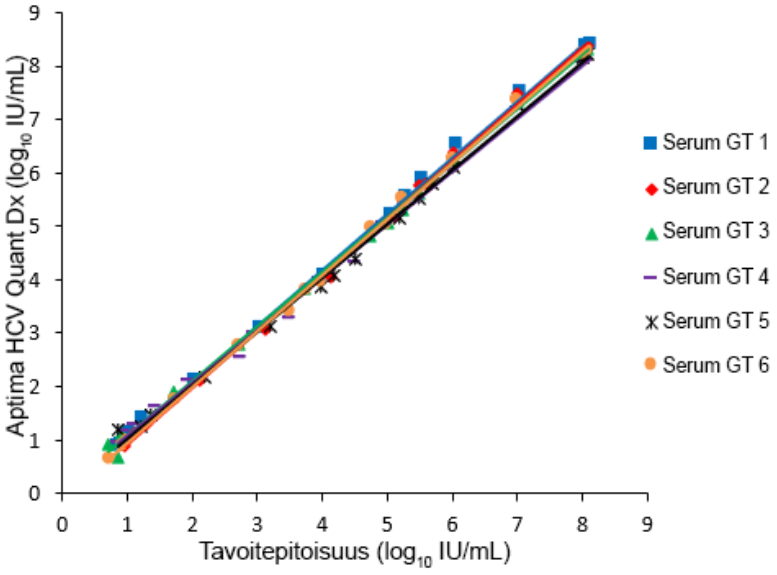
Kuva 6. Lineaarisuus plasmassa ja seerumissa

Lineaarisuus HCV-genotyyppien kesken

HCV-genotyyppien 1 (1a plasman tapauksessa ja 1b seerumin tapauksessa) – 6 lineaarisuus ja lineaarinen alue määritettiin testaamalla laimennettuja yksittäisiä kliinisiä positiivisia näytteitä, yhtä kunkin HCV-genotyypin osalta määrityksen alarajaa varten sekä yhdessä aRNA:n (HCV 1a) kanssa määrityksen ylärajaa varten (yli 100 000 IU/mL). Sekä negatiiviseen ihmisen plasmaan että seerumiin tehdyt laimennokset testattiin kaikkien genotyyppien osalta. Lineaarisuus osoitettiin testatulla alueella kaikille kuudelle testatulle genotyypille, kuten Kuva 7 esittää plasmalle ja Kuva 8 seerumille.



Kuva 7. Lineaarinen alue ja lineaarisuus (plasma)



Kuva 8. Lineaarinen alue ja lineaarisuus (seerumi)

Kvantitoinnin alaraja (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) käytettäessä WHO:n 2. kansainvälistä standardia

Kvantifioinnin alaraja (LLoQ) määritellään alimmaksi pitoisuudeksi, jolla HCV:n RNA kvantifioidaan luotettavasti kokonaisvirheen rajoissa CLSI EP17-A2:n mukaisesti.[18] Kokonaisvirhe arvioitiin kahdella menetelmällä: analyysin kokonaisvirhe (Total Analytical Error, TAE) = |poikkeama| + 2SD; ja kokonaisvirhe (Total Error, TE) = neliöjuuri(2) x 2SD. Mittausten tarkkuuden ja toistotarkkuuden varmistamista varten Aptima HCV Quant Dx -määrityksen kokonaisvirheeksi määritettiin 1 $\log_{10}$ IU/mL (eli LLoQ-rajalla kahden mittauksen välinen ero, joka on yli 1 $\log_{10}$ IU/mL, on tilastollisesti merkitsevä).

LLoQ määritettiin testaamalla WHO:n toisen kansainvälisen hepatiitti C -viruksen RNA:n standardin (NIBSC 96/798 -genotyyppi 1) testisarjat laimennettuina HCV-negatiiviseen ihmisen plasmaan ja seerumiin. Jokaista laimennosta testattiin 36 rinnakkaisnäytteenä jokaisella kolmesta reagenssierästä, jolloin saatiin vähintään 108 rinnakkaisnäytettä laimennosta kohti. Taulukko 4 (plasman osalta) ja Taulukko 5 (seerumin osalta) esittävät reagenssierän, jolla on suurin pitoisuus, joka on yhtä suuri tai suurempi kuin havaitsemisraja (LoD), ja joka täyttää TE- ja TAE-vaatimukset. WHO:n toisen kansainvälisen standardin mukaisesti määritetty LLoQ on 7 IU/mL (0,82 $\log_{10}$ IU/mL) plasmalle ja 9 IU/mL (0,93 $\log_{10}$ IU/mL) seerumille. Taulukko 6 sisältää yhteenvedon näistä tuloksista. LLoQ määritettiin genotyyppien kesken (ks. *Kvantitoinnin alarajan (LLoQ) määritys HCV-genotyyppien kesken*). Nämä genotyyppitiedot määrittävät määrityksen kokonais-LLoQ:ksi 10 IU/mL.

Taulukko 4: LLoQ käytettäessä WHO:n 2. kansainvälistä standardia plasmaan laimennetulle HCV:lle

Reagenssierä	Aptima HCV Quant Dx (IU/mL)	Aptima HCV Quant Dx ($\log_{10}$ IU/mL)	SD ($\log_{10}$ IU/mL)	Poikkeama ($\log_{10}$ IU/mL)	Laskettu TE ($\log_{10}$ IU/mL)	Laskettu TAE ($\log_{10}$ IU/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 = keskihajonta

Taulukko 5: LLoQ käytettäessä WHO:n 2. kansainvälistä standardia seerumiin laimennetulle HCV:lle

Reagenssierä	Aptima HCV Quant Dx (IU/mL)	Aptima HCV Quant Dx ($\log_{10}$ IU/mL)	SD ($\log_{10}$ IU/mL)	Poikkeama ($\log_{10}$ IU/mL)	Laskettu TE ($\log_{10}$ IU/mL)	Laskettu TAE ($\log_{10}$ IU/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 = keskihajonta

Taulukko 6: LLoQ-arvojen yhteenveto käytettäessä WHO:n 2. kansainvälistä standardia HCV:lle

Reagenssierä	Plasman LLoQ		Seerumin LLoQ	
	IU/mL	log_{10} IU/mL	IU/mL	log_{10} IU/mL
1	5	0,73	8	0,93
2	7	0,82	8	0,89
3	6	0,76	5	0,71

Kvantitoinnin alarajan (LLoQ) määritys HCV-genotyyppien kesken

Kvantitoinnin alaraja (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) määritettiin testaamalla HCV-positiivisten kliinisten näytteiden laimennokset genotyypeille 1, 2, 3, 4, 5 ja 6 HCV-negatiivisessa ihmisen plasmasta ja seerumista. Kliinisten näytteiden pitoisuuden määritys tehtiin käyttämällä vertailumääritystä. Jokaiselta testisarjan jäseneltä testattiin 36 rinnakkaisnäytettä jokaisesta kolmesta reagenssierästä, jolloin saatiin vähintään 108 rinnakkaisnäytettä testisarjan jäsentä kohti. Taulukko 7 (plasman osalta) ja Taulukko 8 (seerumin osalta) esittävät sen reagenssierän tulokset, jolla on suurin pitoisuus, joka on yhtä suuri tai suurempi kuin havaitsemisraja (LoD), ja joka täyttää TE- ja TAE-vaatimukset CLSI EP 17-A2:n mukaan laskettuna.[18] Jäljempänä Taulukko 7 ja Taulukko 8 esittävät vain yhden tuloksen, joka on suurempi ja pienempi kuin LLoQ, genotyyppiä kohden, sillä nämä tulokset vastaavat parhaiten odotettua LLoQ-arvoa. Taulukko 9 sisältää yhteenvedon genotyyppien 1–6 LLoQ-arvoista sekä plasman että seerumin osalta. Genotyypillä 6 oli korkein LLoQ seerumille: 10 IU/mL. Näin määrityksen kokonais-LLoQ:ksi määritettiin 10 IU/mL.

Taulukko 7: LLoQ:n määritys genotyyppien kesken plasmasta

Genotyyppi	Aptima HCV Quant Dx[a] (IU/mL)	Aptima HCV Quant Dx[a] (log_{10} IU/mL)	SD (log_{10} IU/mL)	Poikkeama (log_{10} IU/mL)	Laskettu TE (log_{10} IU/mL)	Laskettu TAE (log_{10} IU/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 = keskihajonta

[a]Lisäpitoisuuksia ajettiin, mutta näitä tietoja ei ilmoiteta taulukossa.

Taulukko 8: LLoQ:n määritys genotyyppien kesken seerumista

Genotyyppi	Aptima HCV Quant Dx[a] (IU/mL)	Aptima HCV Quant Dx[a] (log_{10} IU/mL)	SD (log_{10} IU/mL)	Poikkeama (log_{10} IU/mL)	Laskettu TE (log_{10} IU/mL)	Laskettu TAE (log_{10} IU/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 = keskihajonta

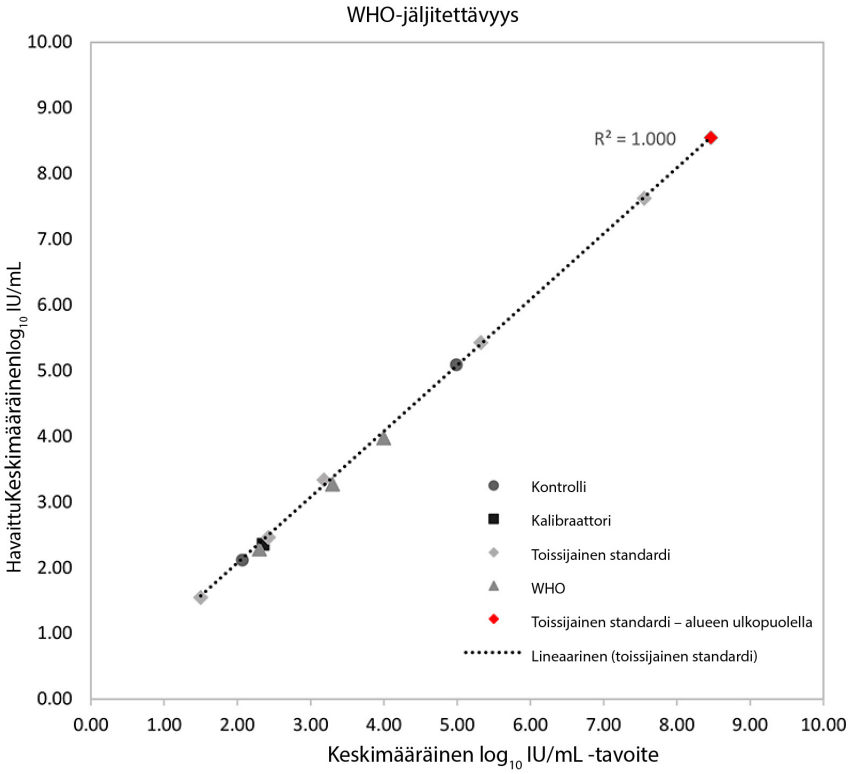
[a]Lisäpitoisuuksia ajettiin, mutta näitä tietoja ei ilmoiteta taulukossa.

Taulukko 9: LLoQ:n yhteenveto genotyyppien kesken plasman ja seerumin osalta

HCV-genotyyppi	Plasman LLoQ		Seerumin LLoQ	
	IU/mL	log_{10} IU/mL	IU/mL	log_{10} IU/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

Jäljitettävyys WHO:n standardiin

Tuotteen kehityksen ja valmistuksen aikana käytettiin sarjaa toissijaisia standardeja, joiden pitoisuudet tiedetään, jäljitettävyyden määrittämiseksi WHO:n standardin mukaan. HCV:n WHO-standardin suhteen testatut pitoisuudet olivat 4,00–2,30 $\log_{10}$ IU/mL, ja toissijaisten standardien pitoisuus oli 1,50–8,46 $\log_{10}$ IU/mL. Aptima HCV Quant Dx -määrityksen kontrollit ja kalibraattorit testattiin myös yhdessä toissijaisten standardien ja WHO-standardin kanssa. Kaikki testisarjat antoivat samankaltaisia tuloksia, ja ne jakautuivat lineaarisesti määrityksen lineaariselle alueelle, kuten Kuva 9 esittää.



Kuva 9. HCV:n toisen WHO-standardin tavoitepitoisuuksien ja Aptima HCV Quant Dx -määrityksestä havaittujen pitoisuuksien välinen jäljitettävyys

Toistotarkkuus

Aptima HCV Quant Dx -määrityksen toistotarkkuuden testisarja muodostettiin laimentamalla HCV-positiivinen plasma ja HCV 1a:n aRNA HCV-negatiiviseen kliiniseen plasmaan (kaksi korkeinta testisarjan jäsentä olivat aRNA:ta). Seitsemän testisarjan jäsentä kattoi määrityksen alueen (1,86–7,68 $\log_{10}$ IU/mL), ja yksi käyttäjä testasi ne kolmena rinnakkaisnäytteenä ajoa kohti käyttäen yhtä reagenssien kokeiluerää yhdessä Panther-järjestelmässä 21 päivän ajan, kaksi ajoa päivässä.

Taulukko 10 esittää määrityksen tulosten toistotarkkuuden (yksiköissä $\log_{10}$ IU/mL) ajojen välillä, ajojen sisällä ja yhteensä. Kokonaisvaihtelu oli ≤ 0,14 kaikkien testisarjan jäsenten kesken, pääasiassa ajon sisäisen vaihtelun (eli satunnaisvirheen) vuoksi.

Taulukko 10: Aptima HCV Quant Dx -määrityksen toistotarkkuus

N	Keskipitoisuus (IU/mL)	Keskipitoisuus ($\log_{10}$ IU/mL)	Päivien välillä SD	Ajojen välillä SD	Ajon sisällä SD	Yhteensä 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 = keskihajonta

[a] Kelvollisten tulosten määrä määrityksen lineaarisella alueella

Huomautus: Joidenkin tekijöiden aiheuttama vaihtelu voi olla numeerisesti negatiivista, mikä voi toteutua, jos näiden tekijöiden aiheuttama vaihtelu on erittäin pientä. Kun näin tapahtuu, keskihajontana näkyy 0,00.

Mahdollisesti häiritsevät aineet

Aptima HCV Quant Dx -määrityksen herkkyys endogeenisten aineiden tai HCV-infektion saaneille potilaille yleisesti määrättyjen lääkkeiden pitoisuuden kohoamisen aiheuttamille häiriöille arvioitiin. HCV-negatiiviset plasmanäytteet ja sellaiset näytteet testattiin, joihin oli lisätty HCV:tä pitoisuudella, joka oli noin 15 IU/mL (1,2 $\log_{10}$ IU/mL) tai 1 995 IU/mL (3,3 $\log_{10}$ IU/mL) HCV:n RNA:ta.

Määrityksen suorittamisessa ei havaittu mitään häiriöitä albumiinin (90 mg/mL), hemoglobiinin (5 mg/mL), triglyseridien (30 mg/mL) tai konjugoitumattoman bilirubiinin (0,2 mg/mL) läsnä ollessa.

Sellaisten potilaiden, joilla määritettyjen aineiden pitoisuudet olivat koholla, tai sellaisten potilaiden, joilla oli kyseiset sairaudet, kymmenen kliinistä plasmanäytettä kunkin aineen osalta (aineet luettelee Taulukko 11) testattiin Aptima HCV Quant Dx -määrityksellä. Määrityksen suorituskyvyssä ei havaittu mitään häiriöitä.

Taulukko 11: Testattujen kliinisten näytteiden tyypit

	Kliinisten näytteiden tyypit
1	Reumatekijä (RF)
2	Tumavasta-aine (ANA)
3	Jo-1:n vasta-aine (JO-1)
4	Systeeminen lupus erythematosus (SLE)
5	Nivelreuma (RA)
6	Multippeliskleroosi (MS)
7	Hyperglobulinemia
8	Kohonnut alaniiniaminotransferaasipitoisuus (ALT)
9	Kohonnut aspartaattiaminotransferaasipitoisuus (AST)
10	Alkoholin aiheuttama kirroosi (AC)
11	Multippeli myelooma (MM)
12	Lipemia (kohonnut lipidipitoisuus)
13	Keltatauti (kohonnut bilirubiinipitoisuus)
14	Hemolysoitu (kohonnut hemoglobiinipitoisuus)
15	Kohonnut albumiiniproteiinipitoisuus
16	HBV-vasta-aineet
17	HIV-1-vasta-aineet
18	HIV-2-vasta-aineet

Määrityksen suorittamisessa ei havaittu mitään häiriöitä, kun eksogeenisia aineita, jotka Taulukko 12 listaa, oli pitoisuuksilla, jotka olivat vähintään kolme kertaa C_{max} (ihmisen plasma).

Taulukko 12: Eksogeeniset aineet

Yhdistetyt eksogeeniset aineet	Testatut eksogeeniset aineet
1	Telapreviiri, klaritromysiini, interferoni alfa-2a, dolutegraviiri, atsitromysiini
2	Simepreviiri, sofosbuviiri
3	Efavirentsi, bosepreviiri, pegyloitu interferoni alfa-2b, emtrisitabiini, raltegraviiri, amoksisilliini
4	Abakaviirisulfaatti, ribaviriini, dasabuviiri, rilpiviriini, rifampiini/rifampisiini
5	Lopinaviiri, tenofoviiri, lamivudiini, valgansikloviiri
6	Hepariini, EDTA, natriumsitraatti

Suorituskyky HCV-negatiivisilla näytteillä

Tarkkuus määritettiin käyttämällä 198 tuoretta ja 538 jäädytettyä HCV-negatiivistä kliinistä näytettä. Yhteensä 370 plasma- ja 366 seeruminäytteen vahvistettiin olevan HCV-negatiivisia hyväksyttyjen määritysten perusteella. Tarkkuus laskettiin sellaisten HCV-negatiivisten näytteiden prosenttiosuutena, joiden tulos oli ”Ei havaittu”. HCV:n RNA:ta ei havaittu mistään 736 näytteestä. Tarkkuus oli 100 % (736/736, 95 %:n luottamusväli: 99,6–100 %).

Taulukko 13: Suorituskyky kliinisillä HCV-negatiivisilla plasma- ja seeruminäytteillä

	Tuore plasma	Jäädytetty plasma	Plasma Yhteensä	Tuore Seerumi	Jäädytetty seerumi	Seerumi Yhteensä	Yhdistetty
Kelvolliset monikerrat (n)	100	270	370	98	268	366	736
Ei havaittu	100	270	370	98	268	366	736
Tarkkuus (95 %:n CI)	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %
	(97,1–100)	(98,9–100)	(99,2–100)	(97,0–100)	(98,9–100)	(99,2–100)	(99,6–100)

CI = luotettavuusväli

Analyyttinen spesifisyys

Mahdollinen ristireaktiivisuus patogeenien (jotka Taulukko 14 luettelee) kanssa arvioitiin HCV-negatiivisella ihmisen plasmalla, kun läsnä oli tai ei ollut noin 15 IU/mL (1,2 $\log_{10}$ IU/mL) ja 1 995 (3,3 $\log_{10}$ IU/mL) HCV:tä. Ristireaktiivisuutta ei havaittu. Patogeenien läsnä ollessa ei havaittu mitään häiriöitä.

Taulukko 14: Analyyttisen spesifisyyden suhteen testatut patogeenit

Patogeeni	Pitoisuus	
Hepatiitti A -virus	100 000	kopiota/mL
Hepatiitti B -virus (HBV)	100 000	IU/mL[a]
Hepatiitti G -virus	1 470	genomi/mL
HIV-1	100 000	kopiota/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
Ihmisen herpesvirus 6B	100 000	kopiota/mL
Ihmisen herpesvirus 8	2 667	TCID50 U/mL[c]
Ihmisen T-solun lymfotrooppinen virus, tyyppi 1 (HTLV-1)	100 000	vp/mL[d]
Ihmisen T-solun lymfotrooppinen virus, tyyppi 2 (HTLV-2)	100 000	vp/mL
Parvovirus B19	100 000	IU/mL
Länsi-Niilin virus	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
Sytomegalovirus	100 000	PFU/mL
Epstein-Barr-virus	100 000	kopiota/mL
Vihurirokkovirus	100 000	PFU/mL
Ihmisen papilloomavirus	100 000	solua/mL
Adenovirus, tyyppi 5	100 000	TCID50 U / mL
Influenssa A -virus	100 000	TCID50 U / mL
Japanin aivotulehdusvirus	Ei sovellettavissa	Ei sovellettavissa
St. Louisin aivotulehdusvirus	Ei sovellettavissa	Ei sovellettavissa
Murray Valleyn enkefaliittivirus	2 643	LD50/mL[e]
Keltakuumevirus	100 000	solua/mL

Patogeeni	Pitoisuus	
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	solua/mL

[a]IU/mL = kansainväliset yksiköt millilitrassa

[b]PFU/mL = plakin muodostavat yksiköt millilitrassa

[c]TCID50 U/mL = kudosviljelmän infektiiviset annosyksiköt millilitrassa

[d]vp/mL = viruspartikkelit millilitrassa

[e]LD50/mL = tappava annos millilitrassa

[f]CFU/mL = pesäkkeen muodostavat yksiköt millilitrassa

[g]IFU/mL = inkluusion muodostavat yksiköt millilitrassa

Kliiniset näytteet, jotka sisältävät muita viruksia kuin HCV:ta

Kohdassa Taulukko 15 mainitut patogeenit arvioitiin hankkimalla yksilölliset luonnostaan infektoituneet kliiniset näytteet. Nämä testattiin, kun läsnä oli tai ei ollut noin 15 IU/mL (1,2 log_{10} IU/mL) tai 1 995 UI/mL (3,3 log_{10} IU/mL) HCV-virusta. Ristireaktiivisuutta ei havaittu. Mitään häiriöitä ei havaittu.

Taulukko 15: Analyyttisen spesifisyyden suhteen testatut kliiniset näytteet

Mikro-organismi	Matriisi	N (luovuttajat)
HBV	Seerumi	5
HBV	Plasma	5
Denguevirus	Plasma	10
Hepatiitti A -virus	Plasma	10
HTLV-1	Plasma	10
HTLV-2	Plasma	10
HIV-1	Plasma	10
Länsi-Niilin virus	Plasma	10

Matriisin ekvivalenssi

Sataseitsemänkymmentäkuusi näytejoukkoa, jotka koostuivat täsmäävistä verinäytteiden keruuputkista (seerumiputket, SST, PPT, ACD, K2 EDTA, K3 EDTA) arvioitiin matriisin ekvivalenssin osalta. Näistä näytejoukoista 68 oli luonnollisesti infektoituneita HCV-positiivisia ja 108 joukkoa HCV-negatiivisia. Kaksikymmentä kuusi 68 positiivisesta näytteestä laimennettiin 13 negatiivisella näytteellä, jotka olivat vastaavanlaisissa näytteenottoputkissa, pitoisuuteen 1:10, 1:100 ja 1:1 000 tai 1:100, 1:10 000 ja 1:100 000, jolloin pitoisuudet kattoivat määrityksen dynaamisen alueen (146 positiivista rinnakkaisnäytettä näytteenottoputkea kohti). Korrelaatio mitattiin käyttämällä seeruminäytteenottoputkea vertailutuotteena.

Taulukko 16: Matriisin ekvivalenssin tutkimus

Verinäyteputki	Demingin regressio	Kulmakertoimen 95 %:n LV		Leikkauskohdan 95 %:n LV		R^2	Keskiero (log_{10})
		Ala- raja	Yläraja	Alaraja	Ylä- raja		
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

Näytteen laimentaminen Aptima-näytteenlaimentimella (1:3)

Jotta voitiin arvioida HCV:n RNA:n tunnistustarkkuus näytteissä, jotka oli laimennettu Aptima-näytteenlaimentimella ja jotka oli otettu plasmaan tai seerumiin, pitoisuuksien 1,67–6,34 log_{10} IU/mL näytteet laimennettiin suhteessa 1:3 Aptima-näytteenlaimentimella (240 µL näytettä ja 480 µL:n Aptima-näytteenlaimenninta). Jokainen näyte testattiin sekoittamattomana ja laimennettuna (1:3) kolmena rinnakkaisnäytteenä. Testaus suoritettiin käyttämällä yhtä määritysreagenssierää yhdessä Panther-järjestelmässä kahdella Aptima-näytteenlaimentimen erällä. Taulukko 17 (plasman osalta) ja Taulukko 18 (seerumin osalta) esittävät sekoittamattomien ja laimennettujen näytteiden testitulosten välisen eron kullekin näytejoukolle.

Taulukko 17: Plasmanäytteen 1:3-laimennoksen matriisien vertailun yhteenveto pitoisuudella (log_{10} IU/mL)

Plasmamatriisi Ilmoitettu keskipitoisuus (log_{10} IU/mL) n = 3	Laimennin Ilmoitettu keskipitoisuus (log_{10} IU/mL) n = 6	Ero Laimennin plasmamatriisista (log_{10} IU/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]Tulos kahdesta rinnakkaisnäytteestä: yhden tulos oli ”Havaittu”, mutta sitä ei kvantifioitu.
[b]Tulos neljästä rinnakkaisnäytteestä: kahden tulos oli ”Havaittu”, mutta niitä ei kvantifioitu.

Taulukko 18: Seeruminäytteen 1:3-laimennoksen matriisien vertailun yhteenveto (log_{10} IU/mL)

Seerumimatriisi Ilmoitettu keskipitoisuus (log_{10} IU/mL) n = 3	Laimennin Ilmoitettu keskipitoisuus (log_{10} IU/mL) n = 6	Ero Laimennin seerumimatriisista (log_{10} IU/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]Tulos kahdesta rinnakkaisnäytteestä: yhden tulos oli ”Havaittu”, mutta sitä ei kvantifioitu.

Näytteen laimentaminen Aptima-näytteenlaimentimella (1:100)

Jotta voitiin arvioida HCV:n RNA:n tunnistuksen tarkkuus Aptima-näytteenlaimentimella laimennetuissa plasma- tai seeruminäytteissä, viisi luonnollisesti infektoitua plasmanäytettä ja viisi luonnollisesti infektoitua seeruminäytettä yhdessä kymmenen sekä HCV-negatiivisen plasman että seerumin näytteen, joihin oli lisätty HCV aRNA:ta ULoQ-pitoisuuden ylittävällä tavoitepitoisuudella, 8–8,30 $\log_{10}$ IU/mL, kanssa testattiin kolmena rinnakkaisnäytteenä. 1:100-laimennus suoritettiin yhdelle näytteen osalle ja 99 osalle Aptima-näytteenlaimenninta juuri ennen testausta. Testaus suoritettiin käyttämällä yhtä määritysreagenssierää yhdessä Panther-järjestelmässä kahdella Aptima-näytteenlaimentimen erällä. Taulukko 19 (plasman osalta) ja Taulukko 20 (seerumin osalta) esittävät sekoittamattomien ja laimennettujen näytteiden testitulosten välisen eron kullekin näytejoukolle.

Taulukko 19: Plasmanäytteen 1:100-laimennoksen matriisien vertailun yhteenveto ($\log_{10}$ IU/mL)

Matriisi	Laimennos	Plasmamatriisi Ilmoitettu keskipitoisuus ($\log_{10}$ IU/mL) n = 3	Laimennin Ilmoitettu keskipitoisuus ($\log_{10}$ IU/mL) n = 6	Ero
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]Näyte, johon on lisätty HCV:tä

Taulukko 20: Seeruminäytteen 1:100-laimennoksen matriisien vertailun yhteenveto (log_{10} IU/mL)

Matriisi	Laimennos	Seerumimatriisi Ilmoitettu keskipitoisuus (log_{10} IU/mL) n = 3	Laimennin Ilmoitettu keskipitoisuus (log_{10} IU/mL) n = 6	Ero
Seerumi	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]Näyte, johon on lisätty HCV:tä

[b]Tulos kahdesta kolmesta testatusta rinnakkaisnäytteestä: yksi rinnakkaisnäyte, jonka tulos oli muista poikkeava, poistettiin tuloksista.

LLoQ:n vahvistaminen kliinisillä näytteillä, jotka on laimennettu näytteenlaimentimella

Aptima HCV Quant -määrityksen LLoQ vahvistettiin HCV-genotyypin 1 kliinisillä näytteillä, jotka oli laimennettu Aptima-näytteenlaimentimella. Näytteet valmistettiin HCV-negatiiviseen ihmisen plasmaan ja seerumiin pitoisuuksilla 21, 30 ja 45 IU/mL. Jokainen testisarja laimennettiin 1:3 Aptima-näytteenlaimentimella juuri ennen testausta siten, että loppupitoisuudeksi saatiin noin 7, 10 ja 15 IU/mL. Yhdellä reagenssierällä testattiin yhteensä 36 kunkin testisarjan jäsenen rinnakkaisnäytettä kolmen päivän aikana. LLoQ ≤ 10 IU/mL vahvistettiin HCV-plasmalle ja -seerumille, joka oli laimennettu Aptima-näytteenlaimentimella, kuten Taulukko 21 osoittaa.

Taulukko 21: LLoQ:n vahvistaminen – kliiniset näytteet Aptima-näytteenlaimentimessa

Matriisi	Tavoitepitoisuus (IU/mL)	Tavoitepitoisuus (log_{10} IU/mL)	% Havaittu	Aptima HCV Quant Dx (IU/mL)	Aptima HCV Quant Dx (log_{10} IU/mL)	SD (log_{10} IU/mL)	Poikkeama (log_{10} IU/mL)	Laskettu TE (log_{10} IU/mL)	Laskettu TAE (log_{10} IU/mL)
Plasma	7	0,85	100 %	9	0,94	0,25	0,10	0,71	0,60
Seerumi	7	0,85	100 %	9	0,96	0,21	0,12	0,60	0,54

Laimennettujen näytteiden toistotarkkuus

Aptima HCV Quant Dx -määrityksen toistotarkkuuden testisarja muodostettiin laimentamalla HCV-positiivinen kliininen plasma ja HCV:n aRNA HCV-negatiiviseen kliiniseen plasmaan. Näitä laimennettiin lisää Aptima-näytteenlaimentimella. Positiiviset testisarjat laimennettiin Aptima-näytteenlaimentimella. Yksi käyttäjä testasi ne kolmena rinnakkaisnäytteenä ajoa kohti käyttäen yhtä reagenssien kokeilluerää yhdessä Panther-järjestelmässä 21 päivän ajan, kaksi ajoa päivässä.

Taulukko 22 esittää määrityksen tulosten toistotarkkuuden (yksiköissä $\log_{10}$ IU/mL) ajojen välillä, ajojen sisällä, päivien välillä ja yhteensä. Kokonaisvaihtelu oli ≤ 0,15 kaikkien testisarjan jäsenten kesken, pääasiassa ajon sisäisen vaihtelun (eli satunnaisvirheen) vuoksi.

Taulukko 22: Aptima-näytteenlaimentimella laimennettujen testisarjojen toistotarkkuus

Laimennos	N	Keskipitoisuus ($\log_{10}$ IU/mL)	Standard Deviation (Keskihajonta)			
			Päivien välillä	Ajojen välillä	Ajon sisällä	Yhteensä
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]Kelvollisten tulosten määrä määrityksen lineaarisella alueella

Huomautus: *Joidenkin tekijöiden aiheuttama vaihtelu voi olla numeerisesti negatiivista, mikä voi toteutua, jos näiden tekijöiden aiheuttama vaihtelu on erittäin pientä. Kun näin tapahtuu, SD- ja CV-arvoina esitetään 0.*

Näytteiden välinen kontaminaatio

Käyttämällä kolmea Panther-järjestelmä -järjestelmää ja testisarjoja, joihin oli lisätty HBV:ta, määritettiin, että Panther-järjestelmä vähentää näytteiden välisen kontaminaation aiheuttamien virheellisten positiivisten tulosten riskiä. Näytteiden välinen kontaminaatio arvioitiin käyttämällä väkeviä plasmanäytteitä, joihin oli lisätty aRNA:ta (7 $\log_{10}$ IU/mL), HCV-negatiivisten näytteiden joukkoon shakkilautakuvion tavoin siroteltuina. Testaus suoritettiin viidellätoista ajolla. Näytteiden välisen kontaminaation kokonaisosuus oli 0,14 % (1/704).

Serokonversion testisarja

Testauksessa testattiin yksitoista HCV:n serokonversion testisarjaa, joissa oli yhteensä 72 näytettä. Aptima HCV Quant Dx -määrityksen tuloksia verrattiin HCV-vasta-aineen testituloksiin. Ensimmäisen reaktiivisen tuloksen saamiseen kuluneiden päivien määrät esittää Taulukko 23. Aptima HCV Quant Dx -määrityksessä havaittiin HCV keskimäärin 20 päivää vasta-ainetestejä aiemmin.

Taulukko 23: Serokonversion testisarjan tietojen yhteenveto

Testisarjan tunnus	Testattujen testisarjan jäsenten määrä	Reaktiivisten testisarjan jäsenten määrä			Päiviä ensimmäiseen reaktiiviseen tulokseen			Ero päivissä ensimmäiseen reaktiiviseen tulokseen (verinäytteen ottamispäivän perusteella)	
		Aptima HCV Quant Dx	HCV-vasta-ainetesti 1	HCV-vasta-ainetesti 2	Aptima HCV Quant Dx	HCV-vasta-ainetesti 1	HCV-vasta-ainetesti 2	Päivää aiemmin kuin HCV:n vasta-ainetesti 1	Päivää aiemmin kuin HCV:n vasta-ainetesti 2
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
Yhteensä	72	66	35	32			Keskimääräinen	19,36	20,73
							Mediaani	14	18

HCV-vasta-ainetesti 1 suoritettiin käyttämällä Abbott Prism -HCV-määritystä.
HCV:n vasta-ainetesti 2 suoritettiin Ortho Enhanced SAVE -määrityksellä seuraavin poikkeuksin:
testisarjat 6227 ja 6229, jotka testattiin kumpikin Ortho ELISA Anti-HCV 3.0 -määrityksellä.
[a] Ensimmäistä verinäytettä ei testattu, koska toimittajalta ei saatu näytettä.
[b] Kaikki tämän testisarjan verinäytteet olivat ei-reaktiivisia HCV-vasta-aineen suhteen. Viimeisen verinäytteen päivää käytettiin ”Päiviä ensimmäiseen reaktiiviseen tulokseen” -arvon määritykseen.
[c] Toista verinäytettä ei testattu, koska toimittajalta ei saatu näytettä.

Toistettavuustutkimus

Toistettavuus arviointiin Panther-järjestelmällä kolmessa ulkopuolisessa yhdysvaltalaisessa tutkimuspaikassa. Kussakin tutkimuspaikassa testauksen suoritti kaksi käyttäjää. Jokainen käyttäjä suoritti kaksi ajoa päivässä kolmen päivän ajan käyttäen kolmea reagenssierää koko testauksen ajan. Jokaisessa suorituserässä oli kolme rinnakkaisnäytettä kustakin testisarjan jäsenestä. Kukin testisarjan jäsen testattiin 108 rinnakkaisnäytteellä.

Toistettavuus testattiin käyttäen HCV-negatiivisesta plasmasta tehtyjä testisarjan jäseniä. Positiiviset testisarjan jäsenet olivat positiivisia HCV-genotyypin 1, 2 tai 3 suhteen. HCV:n RNA-pitoisuudet kattoivat määrityksen lineaarisen alueen.

Taulukko 24 esittää kunkin positiivisen testisarjan jäsenen määrityksen tulosten toistettavuuden ja toistotarkkuuden tutkimuspaikkojen, käyttäjien, erien, päivien ja ajojen välillä sekä ajojen sisällä ja yhteensä sekä Aptima HCV Quant Dx -määrityksen raportoitavan alueen ulkopuolisia tuloksia tuottaneiden rinnakkaisnäytteiden osuuden.

Variaatiokerroin laskettiin käyttäen seuraavaa yhtälöä, jossa σ^2 on tietojen näytteen vaihtelu $\log_{10}$-muunnoksen jälkeen.

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

HCV-negatiivisen testisarjan jäsenen osalta testattiin 108 rinnakkaisnäytettä, eikä HCV:n RNA:ta havaittu missään 108 rinnakkaisnäytteestä (negatiivinen yhdenmukaisuus = 100 %, 95 %:n luottamusväli: 96,6–100 %). Kaikkien HCV-positiivisten testisarjan jäsenten tapauksessa yhdenmukaisuusarvot olivat 100 %.

Taulukko 24: Aptima HCV Quant Dx -määrityksen HCV:n RNA-pitoisuuksien toistettavuus Panther-järjestelmällä positiivisten testisarjan jäsenten osalta

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

GT	N	Havaittu keskimääräinen		Paikkojen välillä	Erien välillä	Käyttäjien/päivien välillä[a]	Ajojen välillä	Ajojen sisällä	Yhteensä		
		IU/mL	Log_{10} IU/mL	SD (%CV)	SD (%CV)	SD (%CV)	SD (%CV)	SD (%CV)	SD (%CV)	Alla LLoQ n (%)	Yllä 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 = lognormaalinen variaatiokerroin, GT = genotyyppi, SD = keskihajonta (log_{10} IU/mL)

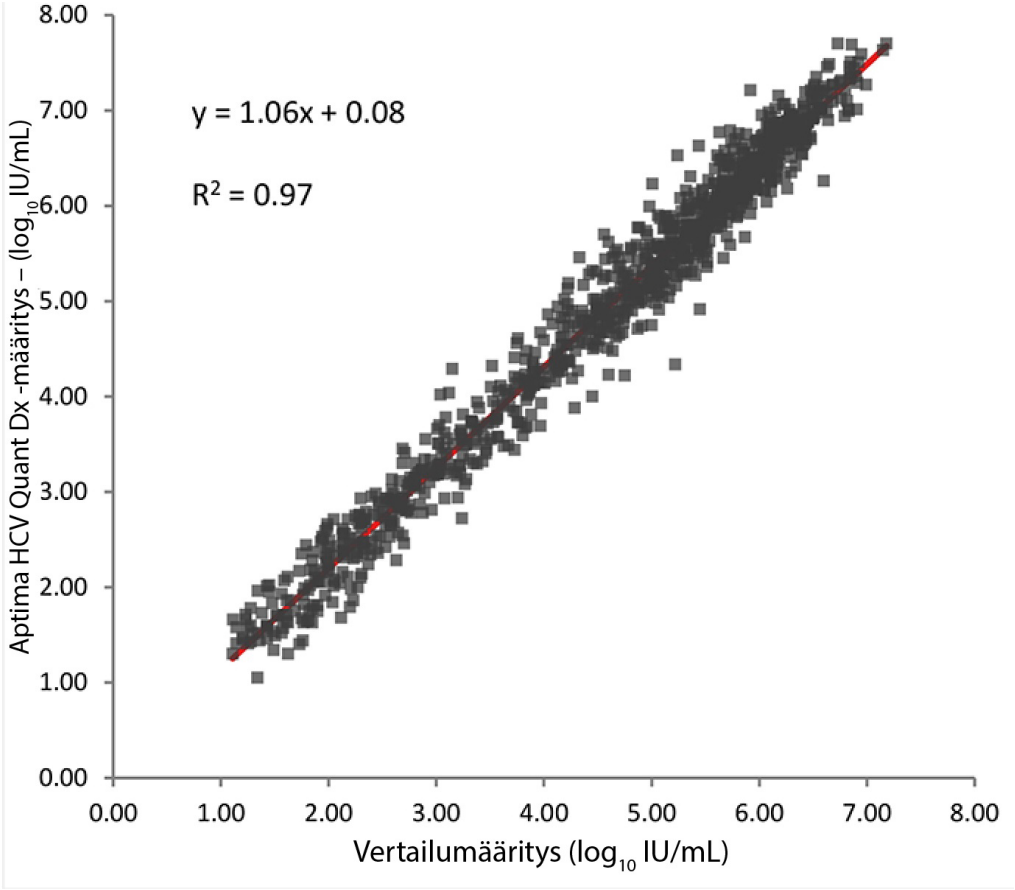
Huomautus: Joidenkin tekijöiden aiheuttama vaihtelu voi saada negatiivisen numeroarvon. Näin voi käydä, jos näiden tekijöiden aiheuttama vaihtelu on erittäin pientä. Näissä tapauksissa keskihajonnan ja variaatiokertoimen arvoina esitetään 0.

[a] Käyttäjien välillä -arvio voi sekoittua päivien välillä -arvion kanssa; siksi käyttäjien välillä- ja päivien välillä -arviot on yhdistetty käyttäjien/päivien välillä -arvioiksi.

Kliininen suorituskyky

Menetelmän korrelaatio

Aptima HCV Quant Dx -määrityksen toimintakyky arvioitiin verrattuna CE-merkittyyn vertailumääritykseen testaamalla laimentamattomat kliiniset näytteet, jotka oli saatu HCV-infektoiduilta potilailta, kolmella Panther-järjestelmällä käyttämällä neljää reagenssierää. Lineaariseen regressioon käytettiin yhteensä 1 058 plasma- ja seeruminäytettä (872 plasma- ja 186 seeruminäytettä) kaikkien HCV-genotyyppien kesken lineaarisella alueella, joka oli sama kummassakin määrityksessä, kuten Kuva 10 esittää.



Kuva 10. Aptima HCV Quant Dx määrityksen ja vertailumäärityksen välinen korrelaatio

Kliinisen käytettävyyden tutkimus

Tutkimuksen tarkoituksena oli osoittaa kliininen käytettävyys arvioimalla suorituskykyominaisuudet pitkäaikaisen virusvasteen (Sustained Virologic Response, SVR) tai ei-pitkäaikaisen virusvasteen (Nonsustained Virologic Response, NSVR) saavuttamisen suhteen määritettyinä kliinisesti oleellisina ajankohtina 8, 12 tai 24 viikon viruslääkehoidon aikana. Tutkimuksessa arvioitiin myös kovariaattien (eli iän, sukupuolen, rodun, lähtötilanteen HCV:n RNA-tason, kirroosin tai kirroosin puuttumisen) vaikutusta SVR-vasteeseen.

Näytteitä kerättiin prospektiivisesti genotyyppien 1, 2 ja 3 tutkittavilta, joilla oli krooninen HCV-infektio ja jotka olivat aloittamassa 8, 12 tai 24 viikkoa kestävää sofosbuviiripohjaisia hoitoja käyttäen FDA:n hyväksymiä lääkkeitä, jotka oli määrätty FDA:n hyväksymien merkintöjen ja/tai AASLD/IDSA:n HCV-hoitosuositusten mukaisesti.[20,21] HCV-hoitoa aiemmin saamattomat tai saaneet tutkittavat ja tutkittavat, joilla ei ollut kirroosia tai joilla oli kompensoitu kirroosi, soveltuivat osallistumaan, soveltuvin osin kunkin hoito-ohjelman tapauksessa.

HCV:n RNA:n viruskuormituksen määritys suoritettiin lähtötilanteessa ja viikoilla 1, 2, 4, 8, 12 ja 24 käyttäen Aptima HCV Quant Dx -määritystä. Hoidon päättymisen (End Of Treatment, EOT) ja hoidon jälkeisten viikkojen 4 ja 12 seurantatulokset määritettiin käyttäen Aptima HCV Quant Dx -määritystä ja kahta hyväksyttyä kvantitatiivista HCV:n RNA:n määritystä. SVR määritettiin HCV:n RNA-tasona, joka oli < LLoQ ja joka määritettiin hyväksytyllä kvantitatiivisella määrityksellä hoidon jälkeisen viikon 12 näytteestä.

352 tutkittavasta, jotka osallistuivat tutkimukseen 35 yhdysvaltalaisessa kliinisessä tutkimuspaikassa, 274:n SVR-tila oli selvä ja arvioitavissa analyysillä. 56 tutkittavan SVR-tilaa ei voitu arvioida, eikä heitä sisällytetty analyysiin. Vielä 22 tutkittavalla oli selkeä SVR-tila, mutta heitä ei voitu arvioida, koska hoitoa edeltävä ja lähtötilanteen tulos puuttuivat, koska kaikki hoidon aikaiset tulokset olivat alle LLoQ:n tai tuloksena oli ”Ei havaittu” tai koska genotyyppejä ei ollut määritetty hyväksytyllä määrityksellä. Tässä tutkimuksessa 90,5 % (248/274) tutkittavista saavutti SVR:n ja 9,5 % (26/274) saavutti NSVR:n (Taulukko 31–Taulukko 33 esittävät lukumäärät genotyypin ja DRA:n mukaan). Suurin lähtötilanteen viruskuormitus oli 7,58 $\log_{10}$ IU/mL, joka määritettiin Aptima HCV Quant Dx -määrityksellä. Kaikki arvioitavissa olevat tutkittavat kävivät hoidon loppuun, eikä hoidon aikaisia epäonnistumisia (esim. vasteen puuttumista) ilmennyt. Yhteensä 2 449 näytettä kerättiin eri ajankohtina kultakin tutkittavalta, ja ne testattiin kolmessa yhdysvaltalaisessa testauspaikassa.

Taulukko 25 esittää tutkittavien väestötiedot ja kliiniset ominaisuudet 274 arvioitavan tutkittavan osalta.

Taulukko 25: Väestötiedot ja kliiniset ominaisuudet

Ominaisuudet		
Yhteensä	N	274
Sukupuoli	Nainen, n (%)	112 (40,9)
	Mies, n (%)	162 (59,1)
Ikä (vuotta)	n	274
	Keskimääräinen	55,1
	Mediaani	56,0
	SD	10,40
	Minimi	23
	Maksimi	83
	21–49, n (%)	61 (22,3)
	50–70, n (%)	203 (74,1)
	> 70, n (%)	10 (3,6)
Etninen ryhmä	n	274
	Hispaani tai latino, n (%)	65 (23,7)
	Ei hispaani eikä latino, n (%)	202 (73,7)
	Tuntematon, n (%)	6 (2,2)
	Kieltäytyi, n (%)	1 (0,4)
Rotu[a]	n	274
	Valkoihoinen, n (%)	223 (81,4)
	Mustaihoinen tai afroamerikkalainen, n (%)	43 (15,7)
	Aasialainen, n (%)	1 (0,4)
	Amerikan intiaani tai Alaskan alkuperäiskansaa, n (%)	3 (1,1)
	Havaijin tai Tyynenmeren saarten alkuperäiskansaa, n (%)	0 (0,0)
	Muu, n (%)	3 (1,1)
	Tuntematon, n (%)	1 (0,4)
	Kieltäytyi, n (%)	0 (0,0)
Genotyyppi	n	274
	Genotyyppi 1, n (%)	158 (57,7)
	Genotyyppi 2, n (%)	66 (24,1)
	Genotyyppi 3, n (%)	50 (18,2)
HCV-hoitotila	n	274
	Hoitoa aiemmin saamaton, n (%)	232 (84,7)
	Aiemmin hoitoa saanut, n (%)	42 (15,3)
	Uusiutunut, n (%)	32 (76,2)
	Nollavaste, n (%)	1 (2,4)
	Ei vastetta, n (%)	2 (4,8)
	Osittainen vaste, n (%)	3 (7,1)
	Läpäisyinfektio, n (%)	1 (2,4)
	Rebound-infektio, n (%)	0 (0,0)
	Hoidon vaste tuntematon, n (%)	3 (7,1)
	Puuttuu, n (%)	0 (0,0)
Kirroositila	n	274
	Kirroosi, n (%)	98 (35,8)
	Ei kirroosia, n (%)	176 (64,2)

[a] Tutkittavat voivat ilmoittaa useita rotuja.

Taulukko 26 esittää lopulliset lääkehoito-ohjelman määräämiset 274 arvioitavan tutkittavan osalta.

Taulukko 26: Yhteenveto tutkittavien lopullisista lääkeohjelmaan määräämisistä genotyypeittäin

Määrätty lääkeohjelma	HCV-genotyyppi, n (%)		
	1	2	3
Sofosbuviiri ja peginterferoni ja ribaviriini 12 viikkoa	25 (15,8)	-	3 (6,0)
Sofosbuviiri ja simepreviiri ja/tai ribaviriini 12 viikkoa	63 (39,9)	-	-
Sofosbuviiri ja simepreviiri ja/tai ribaviriini 24 viikkoa	4 (2,5)	-	-
Sofosbuviiri ja ribaviriini 12 viikkoa	-	66 (100)	-
Sofosbuviiri ja ribaviriini 24 viikkoa	6 (3,8)	-	47 (94,0)
Ledipasviiri ja sofosbuviiri 8 viikkoa	14 (8,9)	-	-
Ledipasviiri ja sofosbuviiri 12 viikkoa	39 (24,7)	-	-
Ledipasviiri ja sofosbuviiri 24 viikkoa	7 (4,4)	-	-
Kelvollisia tutkittavia yhteensä	158	66	50

Taulukko 27 arvioi kovariaattien (ikä, rotu, sukupuoli, lähtötilanteen HCV-viruskuormitus [binaarinen muuttuja] ja kirroositila) yhteenliittyvyyden SVR:n kanssa käyttäen kerroinsuhdetta (Odds Ratio, OR) ja yksiulotteista (korjaamatonta) logaritmista regressioanalyysiä. 274 arvioitavan tutkittavan tulokset arvioitiin HCV-genotyypin mukaan. Genotyyppien 1 ja 2 tapauksessa kirroosia sairastavat tutkittavat saavuttivat SVR:n vähemmän todennäköisesti kuin ne, joilla ei kirroosia ollut (OR = 0,16 [95 %:n Waldin luottamusväli: 0,04–0,63], P = 0,009 ja vastaavasti OR = 0,13 [95 %:n Waldin luottamusväli: 0,02–0,70], P = 0,017). 95 %:n luottamusvälin arvot muiden kovariaattien osalta genotyyppien 1 ja 2 tapauksessa ja kaikkien kovariaattien osalta genotyypin 3 tapauksessa sisälsivät arvon 1, eivätkä ne olleet tilastollisesti merkitseviä.

Taulukko 27: SVR:tä lähtötilanteessa ennakoivien tekijöiden arviointi lähtötilanteessa

GT	Luokka	N	Ryhmittely	N (%)	SVR:n saavuttaneiden %-osuus	Kerroinsuhde (95 %:n Waldin LV) käyttäen yksiulotteista logaritm. regressioanalyysiä	P-arvo
1	Ikä	158	≥ 40 vuotta	146 (92,4)	91,8	0 [0–∞)	Ei laskettavissa
			< 40 vuotta	12 (7,6)	100		
	Sukupuoli	158	Mies	92 (58,2)	90,2	0,44 (0,11–1,69)	0,231
			Nainen	66 (41,8)	95,5		
	Rotu	158	Valkoihoinen	116 (73,4)	94,0	2,10 (0,63–7,03)	0,227
			Ei-valkoihoinen	42 (26,6)	88,1		
	HCV:n RNA:n viruskuormitus lähtötilanteessa[a]	156	> 740 000 IU/mL	111 (71,2)	92,8	1,26 (0,36–4,40)	0,721
			≤ 740 000 IU/mL	45 (28,8)	91,1		
	Kirroositila	158	Kirroosi	57 (36,1)	84,2	0,16 (0,04–0,63)	0,009
			Ei kirroosia	101 (63,9)	97,0		
2	Ikä	66	≥ 40 vuotta	60 (90,9)	88,3	1,51 (0,15–14,91)	0,722
			< 40 vuotta	6 (9,1)	83,3		
	Sukupuoli	66	Mies	36 (54,5)	86,1	0,69 (0,15–3,15)	0,631
			Nainen	30 (45,5)	90,0		
	Rotu	66	Valkoihoinen	61 (92,4)	86,9	0 [0–∞)	Ei laskettavissa
			Ei-valkoihoinen	5 (7,6)	100		
	HCV:n RNA:n viruskuormitus lähtötilanteessa	66	> 740 000 IU/mL	44 (66,7)	84,1	0,25 (0,03–2,19)	0,211
			≤ 740 000 IU/mL	22 (33,3)	95,5		
	Kirroositila	66	Kirroosi	22 (33,3)	72,7	0,13 (0,02–0,70)	0,017
			Ei kirroosia	44 (66,7)	95,5		
3	Ikä	50	≥ 40 vuotta	44 (88,0)	86,4	0 [0–∞)	NC
			< 40 vuotta	6 (12,0)	100		
	Sukupuoli	50	Mies	34 (68,0)	85,3	0,39 (0,04–3,62)	0,405
			Nainen	16 (32,0)	93,8		
	Rotu	50	Valkoihoinen	46 (92,0)	87,0	0 [0–∞)	Ei laskettavissa
			Ei-valkoihoinen	4 (8,0)	100		
	HCV:n RNA:n viruskuormitus lähtötilanteessa[a]	49	> 740 000 IU/mL	30 (61,2)	83,3	0,28 (0,03–2,59)	0,261
			≤ 740 000 IU/mL	19 (38,8)	94,7		
	Kirroositila	50	Kirroosi	19 (38,0)	78,9	0,26 (0,04–1,58)	0,143
			Ei kirroosia	31 (62,0)	93,5		

LV = luottamusväli, GT = genotyyppi

[a]HCV:n RNA:n viruskuormitus lähtötilanteessa -kovariaatti ei sisällä tutkittavia, joilta ei saatu kvantitatiivista HCV:n RNA:n viruskuormitusta ennen hoidon aloittamista.

Viruslääkehoidon vaste

Määrityksen suorituskykyominaisuudet on määritetty henkilöille, jotka ovat saaneet hoitoa tietyillä DAA-hoito-ohjelmilla. Määrityksen ennakoivasta arvosta ei ole saatavissa tietoja, kun käytetään muita DAA-yhdistelmähoitoja.

Määritelmät:

Viikon 1 viruskuormitus (VL) = HCV:n RNA < LLoQ = 10 IU/mL viruslääkehoidon viikolla 1

Viikon 2 VL = HCV:n RNA < LLoQ = 10 IU/mL viruslääkehoidon viikolla 2

Viikon 4 VL = HCV:n RNA < LLoQ = 10 IU/mL viruslääkehoidon viikolla 4

Viikon 8 VL = HCV:n RNA < LLoQ = 10 IU/mL viruslääkehoidon viikolla 8

Viikon 8 VL (EOT): HCV:n RNA < LLoQ viruslääkehoidon viikolla 8

Viikon 12 VL = HCV:n RNA < LLoQ = 10 IU/mL viruslääkehoidon viikolla 12

Viikon 12 VL (EOT): HCV:n RNA < LLoQ viruslääkehoidon viikolla 12

Viikon 24 VL (EOT): HCV:n RNA < LLoQ viruslääkehoidon viikolla 24

Pitkäaikainen virusvaste (SVR)12: HCV:n RNA < LLoQ viikolla 12 viruslääkehoidon päättymisen jälkeen mitattuna itsenäisellä HCV:n RNA-kokeella.

Taulukko 28 ja Taulukko 29 esittävät SVR-vasteen ja SVR-vasteen puuttumisen yleisyyden vastaavasti genotyypin ja lääkehoito-ohjelman mukaan kokonaisuudessaan sekä kirroottisten, ei-kirroottisten, hoitoa aiemmin saamattomien ja hoitoa saaneiden tutkittavien osalta. Useimmat tutkittavat saavuttivat SVR:n genotyyppien kesken: 92,4 % genotyypin 1 tapauksessa, 87,9 % genotyypin 2 tapauksessa ja 88,0 % genotyypin 3 tapauksessa. Genotyyppien kesken SVR-osuudet olivat yleensä korkeampia ei-kirroottisilla tutkittavilla kuin kirroosia sairastavilla ja samankaltaiset hoitoa aiemmin saamattomien ja aiemmin saaneiden kesken.

Taulukko 28: SVR-vasteen esiintyvyys genotyypin ja lääkehoito-ohjelman mukaan

GT	DRA	SVR-vasteen saaneet tutkittavat n (%)				
		Yhteensä	Kirroosi	Ei kirroosia	Aiemmin hoito saamaton	Aiemmin hoitoa saanut
1	Ledipasviiri ja sofosbuviiri 8 viikkoa	13/14 (92,9)	-	13/14 (92,9)	13/14 (92,9)	-
	Ledipasviiri ja sofosbuviiri 12 viikkoa	39/39 (100)	9/9 (100)	30/30 (100)	34/34 (100)	5/5 (100)
	Ledipasviiri ja sofosbuviiri 24 viikkoa	6/7 (85,7)	6/7 (85,7)	-	-	6/7 (85,7)
	Sofosbuviiri ja peginterferoni ja ribaviriini 12 viikkoa	24/25 96,0)	7/7 (100)	17/18 (94,4)	22/23 (95,7)	2/2 (100)
	Sofosbuviiri ja ribaviriini 24 viikkoa	6/6 (100)	1/1 (100)	5/5 (100)	5/5 (100)	1/1 (100)
	Sofosbuviiri ja simepreviiri ja/tai ribaviriini 12 viikkoa	54/63 (85,7)	21/29 (72,4)	33/34 (97,1)	45/54 (83,3)	9/9 (100)
	Sofosbuviiri ja simepreviiri ja/tai ribaviriini 24 viikkoa	4/4 (100)	4/4 (100)	-	2/2 (100)	2/2 (100)
2	Sofosbuviiri ja ribaviriini 12 viikkoa	58/66 (87,9)	16/22 (72,7)	42/44 (95,5)	53/60 (88,3)	5/6 (83,3)
3	Sofosbuviiri ja peginterferoni ja ribaviriini 12 viikkoa	3/3 (100)	3/3 (100)	-	1/1 (100)	2/2 (100)
	Sofosbuviiri ja ribaviriini 24 viikkoa	41/47 (87,2)	12/16 (75,0)	29/31 (93,5)	35/39 (89,7)	6/8 (75,0)

DRA = lääkehoito-ohjelman määräys, GT = genotyyppi, - = lääkehoito-ohjelma ei sovellu tälle potilasryhmälle

Taulukko 29: SVR-vasteen puuttumisen esiintyvyys genotyypin ja lääkehoito-ohjelman mukaan

GT	DRA	Tutkittavat, joilla ei ollut SVR-vastetta n (%)				
		Yhteensä	Kirroosi	Ei kirroosia	Aiemmin hoito saamaton	Aiemmin hoitoa saanut
1	Ledipasviiri ja sofosbuviiri 8 viikkoa	1/14 (7,1)	-	1/14 (7,1)	1/14 (7,1)	-
	Ledipasviiri ja sofosbuviiri 12 viikkoa	0/39 (0,0)	0/9 (0,0)	0/30 (0,0)	0/34 (0,0)	0/5 (0,0)
	Ledipasviiri ja sofosbuviiri 24 viikkoa	1/7 (14,3)	1/7 (14,3)	-	-	1/7 (14,3)
	Sofosbuviiri ja peginterferoni ja ribaviriini 12 viikkoa	1/25 (4,0)	0/7 (0,0)	1/18 (5,6)	1/23 (4,3)	0/2 (0,0)
	Sofosbuviiri ja ribaviriini 24 viikkoa	0/6 (0,0)	0/1 (0,0)	0/5 (0,0)	0/5 (0,0)	0/1 (0,0)
	Sofosbuviiri ja simepreviiri ja/tai ribaviriini 12 viikkoa	9/63 (14,3)	8/29 (27,6)	1/34 (2,9)	9/54 (16,7)	0/9 (0,0)
	Sofosbuviiri ja simepreviiri ja/tai ribaviriini 24 viikkoa	0/4 (0,0)	0/4 (0,0)	-	0/2 (0,0)	0/2 (0,0)
2	Sofosbuviiri ja ribaviriini 12 viikkoa	8/66 (12,1)	6/22 (27,3)	2/44 (4,5)	7/60 (11,7)	1/6 (16,7)
3	Sofosbuviiri ja peginterferoni ja ribaviriini 12 viikkoa	0/3 (0,0)	0/3 (0,0)	-	0/1 (0,0)	0/2 (0,0)
	Sofosbuviiri ja ribaviriini 24 viikkoa	6/47 (12,8)	4/16 (25,0)	2/31 (6,5)	4/39 (10,3)	2/8 (25,0)

DRA = lääkehoito-ohjelman määräys, GT = genotyyppi, - = lääkehoito-ohjelma ei sovellu tälle potilasryhmälle

Taulukko 30 esittää niiden tutkittavien prosenttiosuuden, jotka saivat virusvasteen (määritellään Aptima HCV Quant Dx -määrityksen tulokseksi, joka on alle LLoQ:n), kunkin genotyypin ja lääkehoidon määräämisen mukaan kullakin hoidonaikaisen ja hoidon jälkeisen viikon käynnillä. Useimmat tutkittavat saavuttivat SVR:n viikkoon 4 mennessä kaikkien genotyyppien kesken, ja kaikki tutkittavat saavuttivat SVR:n viikkoon 8 mennessä.

Taulukko 30: SVR:n saavuttamisen todennäköisyys hoidon aikaisten ja hoidon jälkeisten viikkojen kesken

GT	DRA	N	%-osuus Vaste % (n)	Ei SVR-vastetta % (n)	Virusvasteen saaneiden tutkittavien osuus käynneittäin[a] n (%)						
					Viikkoa					EOT	PT04
					1	2	4	8	12		
1	LDV + SOF (8 viikkoa)	14	92,9 (13/14)	7,1 (1/14)	42,9 (6/14)	76,9 (10/13)	100 (14/14)	-	-	100 (14/14)	90 (9/10)
	LDV + SOF (12 viikkoa)	39	100 (39/39)	0,0 (0/39)	11,1 (4/36)	52,6 % (20/38)	92,1 (35/38)	100 (36/36)	-	100 (39/39)	100 (33/33)
	LDV + SOF (24 viikkoa)	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 viikkoa)	25	96,0 (24/25)	4,0 (1/25)	40,0 (10/25)	80,0 (20/25)	100 (25/25)	100 (25/25)	-	100 (25/25)	100 (25/25)
	SOF+RBV (24 viikkoa)	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 viikkoa)	63	85,7 (54/63)	14,3 (9/63)	20,7 (12/58)	67,9 (38/56)	98,4 (62/63)	100 (57/57)	-	96,6 (57/59)	90,0 (54/60)
	SOF+SIM+RBV (24 viikkoa)	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 viikkoa)	66	87,9 (58/66)	12,1 (8/66)	22,2 (12/54)	69,4 (43/62)	95,4 (62/65)	100 (64/64)	-	98,5 (64/65)	93,5 (58/62)
3	SOF+PEG+RBV (12 viikkoa)	3	100 (3/3)	0,0 (0/3)	33,3 (1/3)	100 (2/2)	100 (3/3)	100 (2/2)	-	100 (3/3)	100 (3/3)
	SOF+RBV (24 viikkoa)	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 = lääkehoito-ohjelman määräys, EOT = hoidon päättyminen, - = ei sovellu, koska käynti vastaa hoidon päättymistä tietyn hoidon tapauksessa tai se ei ole hoitoajanjakson sisällä, PT04 = hoidon jälkeinen viikko 4

[a]Hoidon aikainen ja hoidon jälkeinen virusvaste, joksi on määritelty < 10 IU/mL

Huomautus: EOT ei sisälly hoitoviikkoon

Genotyypin 1 tutkittavien osalta 95,5 % (150/157) arvioiduista tutkittavista sai hoidonaikaisen virusvasteen viikkoon 4 mennessä. Ne seitsemän genotyypin 1 tutkittavaa, jotka eivät olleet saaneet vastetta viikkoon 4 mennessä (3 tutkittavaa, joiden hoito oli LDV + SOF [12 viikkoa], 2 tutkittavaa, joiden hoito oli LDV + SOF [24 viikkoa], 1 tutkittava, jonka hoito oli SOF + RBV [24 viikkoa] tai SOF + SIM ± RBV [12 viikkoa]), saivat hoidon aikaisen vasteen viikkoon 8 mennessä. Kaksi (2) tutkittavaa, joiden hoito oli SOF + SIM ± RBV (12 viikkoa), sairaus uusiutui hoidon päättymiseen mennessä, ja kuuden tutkittavan (1 tutkittava, jonka hoito oli LDF + SOF [8 viikkoa], 1 tutkittava, jonka hoito oli LDF + SOF [24 viikkoa], ja 4 tutkittavaa, joiden hoito oli SOF + SIM ± RBV [12 viikkoa]) sairaus uusiutui hoidon jälkeiseen viikkoon 4 mennessä.

Genotyypin 2 tutkittavien osalta 95,4 % (62/65) arvioiduista tutkittavista sai hoidonaikaisen virusvasteen viikkoon 4 mennessä. Ne kolme genotyypin 2 tutkittavaa, jotka eivät olleet saaneet vastetta viikkoon 4 mennessä, saivat hoidon aikaisen virusvasteen viikkoon 8 mennessä. Yhden (1) tutkittavan, jonka hoito oli SOF + RBV (12 viikkoa), sairaus uusiutui hoidon päättymiseen mennessä, ja neljän tutkittavan, joilla oli sama lääkehoito-ohjelman määräys, sairaus uusiutui hoidon jälkeiseen viikkoon 4 mennessä.

Genotyypin 3 tutkittavien osalta 100 % (49/49) arvioiduista tutkittavista sai hoidonaikaisen virusvasteen viikkoon 4 mennessä. Kenenkään (0) tutkittavan sairaus ei uusiutunut hoidon

päättymiseen mennessä, ja viiden tutkittavan, joiden hoito oli SOF + RBV (24 viikkoa), sairaus uusiutui hoidon jälkeiseen viikkoon 4 mennessä.

Tämän tutkimuksen tulosten perusteella Aptima HCV Quant Dx -määritystä voidaan käyttää apuna HCV-infektion saaneiden, sofosbuviiriviruslääkkeeseen perustuvaa hoitoa saavien potilaiden hallinnassa, ja sitä voidaan määrittää SVR-vasteen ja SVR-vasteen puuttumisen määrittämisessä. Määrityksen tuloksia voidaan käyttää HCV:n RNA-tasojen mittaamiseen kvantitatiivisesti ihmisen plasmasta lähtötilanteessa ja hoidon aikana.

Diagnostisen käytettävyyden tutkimus

Herkkyys arvioitiin 338 HCV-vasta-ainepositiivisella tutkittavalla, jotka kuuluivat korkean riskin populaatioon. Taulukko 31 esittää väestötiedot ja kliiniset ominaisuudet.

Taulukko 31: HCV-vasta-ainepositiivisten tutkittavien väestötiedot ja kliiniset ominaisuudet

Ominaisuudet		
Yhteensä	*N*	338
Sukupuoli	Nainen, n (%)	80 (23,7)
	Mies, n (%)	258 (76,3)
Ikä (vuotta)	Keskimääräinen	48,2
	Mediaani	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)
Rotu/etnisyys[a]	Valkoihoinen, n (%)	86 (25,4)
	Mustaihoinen, n (%)	118 (34,9)
	Aasialainen, n (%)	1 (0,3)
	Hispaani, n (%)	123 (36,4)
	Sekalainen etninen tausta, n (%)	4 (1,2)
	Muu, n (%)	10 (3,0)
	Tuntematon, n (%)	0 (0,0)
Riskitekijät[b]	Käyttää injektiolääkettä, n (%)	294 (87,0)
	Ennen vuotta 1990 tehtyjen hyytymistekijöiden vastaanottajat, n (%)	0 (0,0)
	Hepatiitti diagnosoitu/hoidettu, n (%)	172 (50,9)
	HIV diagnosoitu/hoidettu, n (%)	13 (3,8)
	Ollut vankilassa, n (%)	311 (92,0)
	Saanut verensiirtoa tai veren aineosia, n (%)	39 (11,5)
	Saanut siirteen, n (%)	0 (0,0)
	Hemodialyysi, n (%)	3 (0,9)
	Pitkäaikaisesti koholla olevat ALT-tasot, n (%)	2 (0,6)
	Syntynyt vuosina 1945–1965, n (%)	192 (56,8)
HCV-infektiotila	HCV:n RNA:n suhteen positiivinen, n (%)	259 (76,6)
	HCV:n RNA:n suhteen negatiivinen, n (%)	79 (23,4)

ALT = alaniiniaminotransferaasi, HIV = ihmisen immuunikatovirus
[a]Voi ilmoittaa useita rotuja.
[b]Voi ilmoittaa useista riskitekijöistä.

Näytteet testattiin hyväksytyllä kvalitatiivisella HCV:n RNA-testillä, hyväksytyllä HCV-vasta-ainetestillä ja Aptima HCV Quant Dx -määrityksellä. Tutkimus sisälsi 338 HCV-vasta-ainereaktiivista tutkittavaa. Nykyisten AASLD-suositusten mukaan FDA:n hyväksymää NAAT-testiä, joka pystyy havaitsemaan pitoisuuden 25 IU/mL tai tätä alemman pitoisuuden[20], pitää käyttää positiivisen HCV-infektiotilan vahvistamiseen reaktiivisen HCV-vasta-ainetestin tuloksen jälkeen. Yhdenmukaisuus potilaan infektiotilan ja Aptima HCV Quant Dx -määrityksen tulosten välillä määritettiin käyttäen raja-arvona pitoisuutta 25 IU/mL. Näytteet, joilla tulos oli < 25 IU/mL, katsottiin ”Ei havaittu” -kategoriaan kuuluviksi, ja näytteet, joiden tulos oli ≥ 25 IU/mL, katsottiin ”Havaittu”-kategoriaan kuuluviksi. Katso Taulukko 32.

Aptima HCV Quant Dx -määrityksen tuloksia verrattiin potilaan infektiotilaan hyväksytyn HCV-vasta-ainetestin tulosten ja hyväksytyn kvalitatiivisen RNA-testin tulosten perusteella. Potilaan infektiotila katsottiin HCV-positiiviseksi, jos sekä hyväksytyn HCV-vasta-ainetestin että hyväksytyn kvalitatiivisen testin tulokset ilmaisivat reaktiivisuudesta. Potilaan infektiotila katsottiin HCV-negatiiviseksi, jos hyväksytyn HCV-vasta-ainetestin tuloksena oli ei-reaktiivinen tulos.

338 tutkittavasta, joilla oli HCV-vasta-aineen reaktiiviset tulokset, 256 tunnistettiin Aptima HCV Quant Dx -määrityksellä (prosentuaalinen positiivinen yhdenmukaisuus = 98,8 %). Kolmesta tutkittavasta, joiden tapauksessa HCV:n RNA:n kvantifioitu tulos oli alle 25 IU/mL tai joilla ei havaittu sitä, kahdella tutkittavalla oli havaittu mutta kvantifioimaton tulos (HCV:N RNA < 10 IU/mL) ja yhdellä kvantitatiivisena HCV:n RNA-tuloksena 12 IU/mL.

Taulukko 32: Yhdenmukaisuus Aptima HCV Quant Dx -määrityksen tulosten ja potilaan infektiotilan välillä käytettäessä raja-arvona pitoisuutta 25 IU/mL

Aptima HCV Quant Dx -määrityksen tulos	**Potilaan infektiotila**		**Yhteensä**
	HCV-positiivinen	**HCV-negatiivinen**	
HCV:n RNA kvantitoitu vähintään pitoisuudella 25 IU/mL	256	0	256
HCV:n RNA kvantitoitu tai havaittu alle 25 IU/mL -pitoisuudella tai ei havaittu	3[a]	79	82
Yhteensä	259	79	338
Positiivisen yhdenmukaisuuden % (Pistemäärän 95 %:n LV)	98,8 (96,7-99,6)	-	-
Negatiivisen yhdenmukaisuuden % (Pistemäärän 95 %:n LV)	-	100 (95,4–100)	-

LV = luottamusväli, - = ei sovellu

[a] Aptima HCV Quant Dx -määritys havaitsi mutta ei kvantitoinut HCV:n RNA:ta (< 10 IU/mL) kahdella tutkittavalla, ja kolmannella tutkittavalla HCV:n RNA:n kvantitoitu tulos oli 12 IU/mL.

Tämä tutkimus osoittaa Aptima HCV Quant Dx -määrityksen kliinisen käytettävyyden sellaisten tutkittavien asianmukaisessa diagnosoinnissa, joilla oli meneillään oleva aktiivinen HCV:n RNA:n infektio, ja heidän erottelussaan tutkittavista, joiden infektio ei ollut aktiivinen, aiemmin HCV:lle altistuneiden populaatiossa (HCV-vasta-ainepositiivinen serologia).

Ristireaktiivisuus tutkittavilla, joilla oli HCV:hen liittymätön maksasairaus

Seerumi- ja plasmanäytteet (n = 214) otettiin henkilöiltä, joilla oli muita maksasairauksia (joilla perussyyksi ei ollut määritetty aktiivista HCV-infektiota). Näytteet testattiin hyväksytyllä kvalitatiivisella HCV-vasta-ainetestillä ja hyväksytyllä HCV:n RNA-testillä, jotta näytteiden HCV-negatiivisuus voitiin vahvistaa. Seitsemäntoista (17) HCV-positiivista näytettä (joiden HCV-vasta-ainetulos oli positiivinen ja /tai joiden kvalitatiivisen HCV:n RNA:n testin tulos oli reaktiivinen) ja kolme epäkelpoa näytettä suljettiin pois. Aptima HCV Quant Dx -määrityksen testaus suoritettiin yrityksen sisällä kolmella reagenssipakkauksen erällä. Taulukko 33 esittää tutkittavien väestötiedot ja maksasairauden tilan 194 arvioitavan tutkittavan osalta.

Taulukko 33: Tutkittavien väestötiedot ja maksasairauden tila

Ominaisuudet		Kaikki
Yhteensä	N	194
Sukupuoli	n	193
	Nainen, n (%)	116 (60,1)
	Mies, n (%)	77 (39,9)
Ikä (vuotta)	n	194
	Keskimääräinen	55,2
	Mediaani	56,0
	SD	12,19
	Minimi	25
	Maksimi	82
	21–49, n (%)	60 (30,9)
	50–70, n (%)	114 (58,8)
	> 70, n (%)	20 (10,3)
Etninen ryhmä	n	194
	Hispaani tai latino, n (%)	9 (4,6)
	Ei hispaani eikä latino, n (%)	147 (75,8)
	Tuntematon, n (%)	38 (19,6)
	Kieltäytyi, n (%)	0 (0,0)
Rotu[a]	n	194
	Valkoihoinen, n (%)	122 (62,9)
	Mustaihoinen tai afroamerikkalainen, n (%)	20 (10,3)
	Aasialainen, n (%)	17 (8,8)
	Amerikan intiaani tai Alaskan alkuperäiskansaa, n (%)	0 (0,0)
	Havaijin tai Tyynenmeren saarten alkuperäiskansaa, n (%)	1 (0,5)
	Muu, n (%)	34 (17,5)
	Tuntematon, n (%)	2 (1,0)
	Kieltäytyi, n (%)	0 (0,0)
Maksasairaus[b]	n	194
	Autoimmuunihepatiitti, n (%)	31 (16,0)
	Alkoholin aiheuttama maksasairaus, n (%)	51 (26,3)
	Krooninen HBV, n (%)	34 (17,5)
	Primaarinen sappikirroosi, n (%)	37 (19,1)
	NASH, n (%)	39 (20,1)
	Raportoi useita maksasairauksia, n (%)	2 (1,0)

HBV = hepatiitti B -virus, NASH = muu kuin alkoholin aiheuttama hepatiitti

[a] Tutkittavat voivat ilmoittaa useita rotuja.

[b] Tutkittavat, joilla oli useita maksasairauksia, raportoivat sekä autoimmuunihepatiitista että primaarisesta sappikirroosista.

Taulukko 34 esittää Aptima HCV Quant Dx -määrityksen spesifisyyden maksasairauden mukaan ja Aptima HCV Quant Dx -määrityksen tulosten jakauman eri viruskuormituskategorioiden kesken. Tarkkuus oli 100 % tutkittavilla, joilla raportoitiin krooninen hepatiitti B -virus (HBV), primaarinen sappikirroosi, muu kuin alkoholin aiheuttama steatohepatiitti (NASH) ja useita maksasairauksia. HCV:n RNA:ta havaittiin erittäin alhaisilla tasoilla 1 tutkittavalla, jolla oli autoimmuunihepatiitti (< 10 IU/mL), ja 4 tutkittavalla, joilla oli alkoholin aiheuttama maksasairaus (< 10 IU/mL kolmen tutkittavan osalta ja 16 IU/mL yhden tutkittavan osalta). Yhdellä viidestä tutkittavasta HCV:n RNA havaittiin hyväksytyllä kvantitatiivisella HCV-määrityksellä.

Taulukko 34: Aptima HCV Quant Dx -määrityksen tarkkuus ja tulosten jakautuminen HCV-vasta-aine- ja RNA-negatiivisilla tutkittavilla, joilla oli HCV:hen liittymätön maksasairaus

Maksasairaus	Tarkkuus (%) (95 %:n LV)[a]	Ei havaittu	< 10 IU/mL	10 – < 25 IU/mL	25–100 000 000 IU/mL	> 100 000 000 IU/mL	Yhteensä
Autoimmuunihepatiitti	96,8 (83,8-99,4)	30 (96,8)	1 (3,2)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	31
Alkoholin aiheuttama maksasairaus	92,2 (81,5-96,9)	47 (92,2)	3 (5,9)[b]	1 (2,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	51
Krooninen HBV	100 (89,8–100)	34 (100)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	34
Primaarinen sappikirroosi	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
Useita maksasairauksia[c]	100 (34,2–100)	2 (100)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	2
Yhteensä	97,4 (94,1-98,9)	189 (97,4)	4 (2,1)	1 (0,5)	0 (0,0)	0 (0,0)	194

HBV = hepatiitti B -virus, NASH = muu kuin alkoholin aiheuttama steatohepatiitti

[a]Pistemäärän luottamusväli

[b]Yhdellä tutkittavalla HCV:n RNA havaittiin FDA:n hyväksymällä kvantitatiivisella HCV-määrityksellä.

[c]Tutkittavilla oli sekä autoimmuunihepatiitti että primaarinen sappikirroosi.

Lähdeluettelo

1. Averhoff FM, Glass N and Holtzman D. Global Burden of Hepatitis C: Considerations for Healthcare Providers in the United States. Clinical Infectious Diseases 2012; 55 (S1): S10-15.
2. Zalesak M, Francis K, Gedeon A, et al. Current and Future Disease Progression of the Chronic HCV Population in the United States. PLoS One. 2013 May 21;8(5):e63959
3. Engle RE, Bukh J, Alter HJ et al., Transfusion-associated hepatitis before the screening of blood for hepatitis risk factors.Transfusion. 2014 May 5.
4. Lee M-H, Yang, H-I, Yuan Y et al., Epidemiology and natural history of hepatitis C virus infection. World J Gasteroenterology 2014: 20 (28): 9270-9280.
5. Tan SL, editor. Hepatitis C Viruses: Genome and Molecular Biology. Norfolk (UK): Horizon Bioscience; 2006.
6. Smith DB, Bukh J, Kuiken C, et al, P. Expanded classification of hepatitis C virus into 7 genotypes and 67 subtypes: updated criteria and genotype assignment web resource.Hepatology. 2014 Jan;59(1):318-27.
7. EASL Recommendations on treatment of Hepatitis C 2014: www.easl.eu/_clinical-practice-guideline.
8. AASLD and the Infectious Diseases Society of America (IDSA), in collaboration with the International Antiviral Society-USA (IAS-USA). HCV Guidance: Recommendations for Testing, Managing, and Treating Hepatitis C. 2014: www.hcvguidelines.org.
9. CDC. Testing for HCV infection: An update for clinicians and laboratories. MMWR 2013; 62 (18).
10. Sidharthan, S., Kohli, A., Sims, Z., Nelson, A., Osinusi, A., Masur, H., Kottilil, S. Utility of Hepatitis C Viral Load Monitoring on Directly Acting Antiviral Therapy. Clinical Infectious Diseases, 2015.
11. Kohli, A., Shaffer, A., Sherman, A., Kottilil, S. Treatment of hepatitis C: a systematic review. JAMA, 2014.
12. AASLD. Recommendations for Testing, Managing, and Treating Hepatitis C. 2015. Published on hcvguidelines.org, accessed Feb 11, 2016.
13. Simmons, B., Saleem, J., Heath, K., Cooke, G., Hill, A. Long-term treatment outcomes of patients infected with Hepatitis C virus: a systematic review and meta-analysis of the survival benefit of achieving a Sustained Virological Response. Clinical Infectious. 2015 Sep 1;61(5):730-40.
14. **Clinical and Laboratory Standards Institute.** 2005. Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods; Approved Guideline. CLSI Document MM13-A. Wayne, PA.
15. **29 CFR Part 1910.1030.** Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens; current version.
16. **Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health.** Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL); current version.
17. **Clinical and Laboratory Standards Institute.** 2002. Clinical Laboratory Waste Management. CLSI Document GP5-A2. Villanova, PA.
18. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)**. 2012. Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline—Second Edition. CLSI Document EP17-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
19. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)**. 2003. Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline. CLSI document EP06-A. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
20. AASLD/IDSA. Recommendations for testing, managing, and treating hepatitis C. AASLD and IDSA. http://www.hcvguidelines.org/fullreport. Updated 21 March 2014. Accessed 01 March 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.

Yhteystiedot ja versiohistoria

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

Saat maakohtaisen teknisen tuen ja asiakaspalvelun sähköpostiosoitteen ja puhelinnumeron sivustosta www.hologic.com/support.

Kaikista laitteeseen liittyvistä vakavista tapahtumista Euroopan unionin alueella on ilmoitettava valmistajalle ja sen jäsenvaltion toimivaltaiselle viranomaiselle, jossa käyttäjä ja/tai potilas on.

Hologic, Aptima, Panther, Panther Fusion sekä niihin liittyvät logot ovat Hologic Inc:n ja/tai sen tytäryhtiöiden tavaramerkkejä tai rekisteröityjä tavaramerkkejä Yhdysvalloissa ja/tai muissa maissa.

Armored RNA on Asuragen, Inc:n tavaramerkki.

Kaikki muut tässä pakkausselosteessa olevat tavaramerkit ovat omistajiensa omaisuutta.

Yksi tai useampi osoitteessa www.hologic.com/patents mainituista US-patenteista saattaa kattaa tämän tuotteen.

©2016-2025 Hologic, Inc. Kaikki oikeudet pidätetään.

AW-28216-1701, versio 001

2025-12

Versiohistoria	Päivämäärä	Kuvaus
AW-28216-1701 versio 001	Joulukuu 2025	• Alkuperäinen julkaisu.