Aptima® HCV Quant Dx Assay

Brugsvejledning
Til *in vitro* diagnostisk brug
Kun til eksport fra USA

Generelle oplysninger 2
Tilsigtet anvendelse 2
Resumé og forklaring af testen 2
Procedureprincipper 3
Oversigt over sikkerhed og præstation 3
Advarsler og forholdsregler 4
Krav til opbevaring og håndtering af reagens 7
Udtagning og opbevaring af prøve 9
Prøver på Panther System 12
Prøvetransport 12
Panther System 13
Medølgende reagenser og materialer 13
Nødvendige materialer, der skal anskaffes separat 15
Valgfri materialer 16
Testprocedure til Panther System 16
Bemærkninger til proceduren 20
Kvalitetskontrol 21
Kalibrering af assayet 21
Negative og positive kontroller 21
Intern kalibrator/intern kontrol 21
Tolkning af resultater 22
Begrænsninger 23
Analytisk præstation 24
Detektionsgrænse (LoD) i henhold til WHO's 2. internationale standard 24
Detektionsgrænse på tværs af HCV-genotyper 24
Lineært område 25
Linearitet på tværs af HCV-genotyper 26
Nedre kvantiteringsgrænse ved brug af WHO's 2. internationale standard 27
Bestemmelse af den nedre kvantiteringsgrænse (LLoQ) på tværs af HCV-genotyper 28
Sporbarhed til WHO-standarden 30
Præcision 31
Potentielt interfererende stoffer 31
Præstation med HCV-negative prøver 33
Analytisk specificitet 34
Kliniske prøver bestående af andre vira end HCV 35
Matrixækvivalens 35
Fortynding af prøve ved brug af Aptima prøvefortynder (1:3) 36
Fortynding af prøve ved brug af Aptima prøvefortynder (1:100) 37
Bekræftelse af LLoQ i kliniske prøver fortyndet i prøvefortynder 38
Præcision af fortyndede prøver 39
Overførsel 39
Serokonversionspanel 40
Reproducerbarhedsundersøgelse 40
Klinisk præstation 42
Korrelation mellem metoder 42
Undersøgelse af klinisk anvendelighed 43
Respons på antiviral behandling 47
Undersøgelse af diagnostisk anvendelighed 50
Krydsreaktivitet hos forsøgspersoner med ikke-HCV-relateret leversygdom 52
Bibliografi 54
Kontaktinformation og revisionshistorik 55

Generelle oplysninger

Tilsigtet anvendelse

Aptima® HCV Quant Dx assay er en transkriptionsmedieret amplifikationstest i realtid. Dette assay anvendes til både detektion og kvantitering af hepatitis C virus (HCV) RNA i friskt og frossent humant serum og plasma fra HCV-inficerede personer.

Plasma kan klargøres i ethylenediamintetraeddikesyre (EDTA), antikoagulans med syre-citrat-dextrose (ACD)-opløsning og rør til klargøring af plasma (PPT). Serum kan klargøres i serumrør og SST-rør (Serum Separator Tubes). Prøver testes på Panther™ systemet til automatisk prøvebehandling, amplifikation og detektion og kvantitering. Prøver, som indeholder HCV-genotyper 1 til 6, er godkendt til detektion og kvantitering i assayet.

Aptima HCV Quant Dx assay er beregnet til brug som en hjælp ved diagnosticering af HCV-infektion. Assayet kan anvendes til at bekræfte aktiv HCV-infektion hos patienter med et positivt HCV-antistofresultat. Detektion af HCV-RNA viser, at virusset replikerer sig og derfor er tegn på aktiv infektion.

Aptima HCV Quant Dx assay er beregnet til brug som en hjælp ved håndteringen af HCV-inficerede patienter, som behandles med HCV-antivirale lægemidler. Assayet måler HCV-RNA-niveauerne ved baseline, under og efter behandlingen for at bestemme vedvarende virologisk respons (SVR). Resultaterne fra Aptima HCV Quant Dx assay skal fortolkes inden for konteksten af alle relevante kliniske resultater og laboratorieresultater.

Aptima HCV Quant Dx assay er ikke beregnet til brug som en screeningstest for tilstedeværelse af HCV i blod eller blodprodukter.

Resumé og forklaring af testen

HCV er et blodbårent patogen og en offentlig sundhedsbyrde i hele verden med op til 170 millioner smittede personer på globalt plan og 350.000 årlige dødsfald, som skyldes HCV-relaterede lidelser, herunder cirrose og levercancer.[1,2] Overførsel af HCV sker ved udsættelse for blod, blodprodukter eller aktiviteter med risiko for perkutan udsættelse.[3,4] HCV indeholder genetisk et genom i en positiv streng af RNA på omtrent 9500 nukleotider, som koder for strukturproteiner (kerne, E1 og E2 glykoproteiner, p7 ion-kanal protein) og ikke-strukturproteiner (NS2, NS3, NS4A/B, NS5A/B), sidstnævnte er vigtige virale replikative proteiner og target for direkte virkende antiviraler.[4,5] To ikke-translaterede regioner (UTR) af genomet, 5'UTR og 3'UTR, fungerer henholdsvis i genomtranslation og replikations-/indpakningsroller.[5] 5'-UTR er den højest konserverede genomiske region på tværs af de seks vigtigste HCV-genotyper.[6]

Klinisk er der en høj prævalens af asymptomatisk HCV-infektion, og kronisk HCV-infektion forekommer hos op til 75 % af patienterne.[2] Algoritmer for HCV-laboratorietestning kræver diagnosticering af aktive HCV-infektioner hos antistof-positive personer via detektion af HCV-RNA i plasma eller serum for at muliggøre et passende link til behandling.[7,8,9]

Kvantitering af HCV-RNA (viral load) har spillet en afgørende rolle i fastlægningen og overvågningen af succesfuld HCV-behandling. Vedvarende virologisk respons (SVR), defineret som uopdaget HCV-RNA efter succesfuld behandling, er en vigtig markør for en kur til HCV.[10,11] I interferon-baseret behandling viste tidlig virologisk respons (EVR), defineret som 2 log eller større reduktion i HCV viral load efter 12 ugers behandling og en hurtig virologisk respons (RVR), defineret som uopdagede niveauer af HCV-RNA efter 4 ugers behandling at være positive indikatorer for SVR.[10,12,13] Disse markører for viral kinetik bruges i responsstyrede tilgange, der bruges til at udvikle tilpassede behandlingsmuligheder for at stoppe eller forlænge behandlingen med henblik på at opnå SVR.[14] Desuden har opfølgningsstudier over langt sigt påvist varighed af SVR efter vellykket behandling, og at virusudryddelse forhindrer progression af leversygdom.[10]

I æraen af direkte virkende antivirale midler (DAA) har kvantitering af HCV-RNA (viral load) spillet en afgørende rolle i fastlægningen og overvågningen af vellykket HCV-behandling. Vedvarende virologisk respons (SVR) defineres som ikke-detekterbart HCV-RNA (med et assay, der har en detektionsgrænse på <25 IU/mL) efter behandling.[10,11] De nyeste retningslinjer fra AASLD foreslår, at man ikke kun tester HCV-RNA ved baseline, men også med jævne mellemrum under behandlingen (dvs. 4 uger) og 12 uger efter endt behandling.[10,12,13]

Procedureprincipper

Aptima HCV Quant Dx Assay er en nukleinsyreamplifikationstest, som anvender realtids transkriptionsmedieret amplifikationsteknologi (TMA) i til at detektere og kvantitere HCV-RNA for at hjælpe med diagnosticeringen eller for at fastsætte baseline viral load, såvel som for at måle respons under og efter behandling. Assayet målretter en konserveret region af HCV-genomet og detekterer og kvantiterer genotyperne 1, 2, 3, 4, 5 og 6. Assayet er standardiseret i henhold til WHO's 2. internationale standard for hepatitis C-virus (NIBSC-kode 96/798).[12]

Aptima HCV Quant Dx assay omfatter tre primære trin, som alle finder sted i et enkelt reagensglas på Panther systemet: target capture, targetamplifikation med transkriptionsmedieret amplifikation (TMA) og detektion af amplifikationsprodukterne (amplikon) med de fluorescensmærkede prober (torches).

Under target capture isoleres virus-RNA fra prøverne. Prøven behandles med en sæbe for at fortynde viruskappen, denaturere proteiner og frigøre viralt genomisk RNA. Capture-oligonukleotider hybridiserer til stærkt bevarede regioner af HCV-RNA, hvis til stede, i testprøven. Det hybridiserede target indfanges derefter på magnetiske mikropartikler, der separeres fra prøven i et magnetisk felt. Vasketrinene fjerner uvedkommende komponenter fra reaktionsrøret.

Targetamplifikation sker via TMA, som er en transkriptionsbaseret nukleinsyreamplifikationsmetode, der benytter to enzymer, Moloney murint leukæmivirus (MMLV) revers transkriptase og T7 RNA-polymerase. Revers transkriptase bruges til at danne en DNA-kopi (indeholdende en promotersekvens for T7 RNA-polymerase) af targetsekvensen. T7 RNA-polymerase producerer flere kopier af RNA-amplikon fra DNA-kopiskabelonen. Aptima HCV Quant Dx assay bruger TMA-metoden til at amplificere en portion af HCV-genomets 5’ UTR. Amplifikation af denne region opnås ved hjælp af specifikke primere, udviklet til amplifikation af HCV-genotyper 1, 2, 3, 4, 5 og 6.

Detektion opnås ved brug af enkeltstrengede nukleinsyre-torches, som er til stede under amplifikation af target, og som hybridiserer specifikt til amplikonet i realtid. Hver torch har en fluorofor og en quencher. Når torch'en ikke er hybridiseret til amplikonet, ligger quencheren tæt på fluoroforen og undertrykker fluorescensen. Når torchen bindes til amplikonet, bevæger quencheren sig længere væk fra fluoroforen, og den udsender et signal ved en bestemt bølgelængde, når den aktiveres af en lyskilde. Samtidig med at flere torches hybridiserer til amplikonet, dannes der et højere fluorescenssignal. Den tid det tager fluorescenssignalet at nå en bestemt tærskel er proportional med den indledende HCV-koncentration. Hver reaktion har en intern kalibrator/intern kontrol (IC), der kontrollerer variationer i prøvebehandling, amplifikation og detektion. En prøves koncentration bestemmes af Panther systemsoftwaren ved at sammenligne HCV- og IC-signalerne for hver reaktion med kalibreringsoplysningerne.

Oversigt over sikkerhed og præstation

SSP (Summary of Safety and Performance) (Sammenfatning af sikkerhed og præstation) er tilgængelig i den europæiske database for medicinsk udstyr (Eudamed), hvor den er knyttet til udstyrsidentifikationer (Basis UDI-DI). Se Basic Unique Device Identifier (BUDI) (Basis unik udstyrsidentifikation) for at finde SSP for Aptima HCV Quant Dx assay: 54200455DIAGAPTHCVAJ.

Advarsler og forholdsregler

A. Til *in vitro* diagnostisk brug.

B. Til professionel brug.

C. For at reducere risikoen for ugyldige resultater skal hele indlægssedlen og brugervejledningen til *Panther*/*Panther Fusion*™ *System* læses omhyggeligt igennem for information om proceduren, før assayet udføres på Panther systemet.

D. for yderligere specifikke advarsler, forholdsregler og procedurer til at kontrollere kontaminering, læs brugervejledningen til *Panther/Panther Fusion System*.

Vedrørende laboratoriet

E. FORSIGTIG: Kontrollerne til dette assay indeholder humant plasma. Plasmaet er non-reaktivt for hepatitis B overfladeantigen (HBsAg), antistoffer mod HCV, antistoffer mod HIV-1- og HIV-2- og HIV-antigen ved testning med procedurer godkendt af USA's Food and Drug Administration. Plasmaet er endvidere ikke-reaktivt over for HCV-RNA og HIV-1 RNA ved testning med godkendte nukleinsyretests, der benytter poolede prøver. Alle materialer, der stammer fra humant blod, skal anses for at være potentielt smittefarlige og skal håndteres i overensstemmelse med generelle forholdsregler.[14,15,16]

F. Kun personale med tilstrækkelig uddannelse i brugen af Aptima HCV Quant Dx assay og i håndtering af potentielt smittefarlige materialer må udføre denne procedure. Hvis der forekommer spild, skal området straks desinficeres ifølge gældende procedurer på laboratoriet eller hospitalet.

G. Brug kun medfølgende eller specificeret laboratoriemateriale til engangsbrug.

H. Rutinemæssige laboratorieforholdsregler skal følges. Der må ikke pipetteres med munden. Der må hverken spises, drikkes eller ryges i arbejdsområdet. Brug engangshandsker uden pudder, beskyttelsesbriller og laboratoriekittel ved håndtering af prøver og kitreagenser. Vask hænderne grundigt efter håndtering af prøver og kitreagenser.

I. Arbejdsflader, pipetter og andet udstyr skal regelmæssigt dekontamineres med 2,5 % til 3,5 % (0,35 M til 0,5 M) natriumhypochloritopløsning.

J. Alle materialer, der har været i kontakt med prøver og reagenser, skal bortskaffes i overensstemmelse med lokale, statslige og føderale vedtægter.[14,15,16,17] Rengør, og desinficér alle arbejdsoverflader grundigt.

K. Kontrollerne indeholder natriumazid som konserveringsmiddel. Brug ikke metalrør til overførsel af reagens. Hvis opløsninger, der indeholder natriumazidforbindelser, skal bortskaffes i en vvs-installation, skal de fortyndes og skylles med rigelige mængder rindende vand fra hanen. Disse forholdsregler anbefales for at undgå ophobning af aflejringer i metalrør, hvor der kan opstå eksplosionsfarlige forhold.

L. God standardpraksis for molekylærlaboratorier inkluderer miljøovervågning. Til overvågning af miljøet på laboratoriet anbefales følgende:

1. Benyt en podepind med vatspids og Aptima rør til prøvealikvot (SAT).
2. Forsyn hvert SAT med en etiket.
3. Fyld hvert SAT med 1 ml Aptima-prøvefortynder.
4. Til indsamling af overfladeprøver fugtes en podepind let med nukleasefrit demineraliseret vand.

5. Pod den pågældende overflade med en lodret bevægelse fra top til bund. Drej podepinden ca. en halv omgang, samtidig med at stedet podes.
6. Placér straks prøven i røret, og hvirvl forsigtigt podepinden i fortynderen for at ekstrahere potentielt podede materialer. Klem podepinden op imod siden af transportrøret for at udtrække så meget væske som muligt. Bortskaf podepinden, og sæt hætte på røret.
7. Gentag disse trin for de resterende podninger.
8. Test podningen med et molekylært assay.

Vedrørende prøve

M. Prøver kan være smittefarlige. Overhold de generelle forholdsregler[14,15,16] ved udførelse af assayet. Korrekte håndterings- og bortskaffelsesmetoder bør fastlægges i overensstemmelse med lokale bestemmelser.[17] Kun personale med tilstrækkelig uddannelse i brugen af Aptima HCV Quant Dx assay og i håndtering af potentielt smittefarlige materialer må udføre denne procedure.

N. Under forsendelse af prøver skal korrekte opbevaringsforhold bevares for at sikre prøvens integritet. Prøvestabilitet under forsendelsesforhold, der er anderledes end de anbefalede forhold, er ikke blevet vurderet.

O. Undgå krydskontaminering under prøvehåndteringstrinnene. Udvis især forsigtighed for at undgå kontaminering fra spredning af aerosoler ved løsning eller fjernelse af hætter fra prøver. Prøver kan indeholde meget høje niveauer af organismer. Pas på, at prøvebeholdere ikke rører hinanden, og bortskaf brugte materialer uden at føre dem hen over åbne beholdere. Skift handsker, hvis de kommer i kontakt med prøvemateriale.

Vedrørende assay

P. Brug ikke reagenskittet, kalibratoren eller kontrollerne efter udløbsdatoen.

Q. Assayreagenser fra kit med forskellige hovedlotnumre må ikke udskiftes, blandes eller kombineres. Assayvæsker kan være fra forskellige lotnumre. Kontroller og kalibratoren kan være fra forskellige lotnumre.

R. Undgå mikrobiel og nukleasekontaminering af reagenser.

S. Sæt hætte på, og opbevar alle assayreagenser ved de specificerede temperaturer. Assayets præstation kan påvirkes, hvis der anvendes forkert opbevarede assayreagenser. Se *Krav til opbevaring og håndtering af reagens* og *Testprocedure til Panther System* for flere oplysninger.

T. Kombinér ikke assayreagenser og væsker uden specifikke anvisninger. Tilføj ikke yderligere reagens eller væske. Panther systemet verificerer reagensniveauerne.

U. Visse af reagenserne i dette kit er mærket med risiko- og faresymboler.

Bemærkning: *Farekommunikation afspejler EU-sikkerhedsdatabladenes (SDS) klassificeringer. For fareoplysninger, der er specifikke for en given region, henvises der til de regionsspecifikke sikkerhedsdatablade i Safety Data Sheet Library (Arkivet med sikkerhedsdataark) på www.hologicsds.com. For mere information om symbolerne henvises til symbolforklaringen på www.hologic.com/package-inserts.*

Fareerklæring EU

—	**Amplification Reagent** *MAGNESIUMCHLORID 60-65 %* — H412 – Skadelig for vandlevende organismer med langvarige virkninger. P273 – Undgå udledning til miljøet. P501 – Indholdet/beholderen bortskaffes på et godkendt affaldsanlæg.
—	**Promoter Reagent** *MAGNESIUMCHLORID 60-65 %* — H412 – Skadelig for vandlevende organismer med langvarige virkninger. P273 – Undgå udledning til miljøet. P501 – Indholdet/beholderen bortskaffes på et godkendt affaldsanlæg.
—	**Enzyme Reagent** *Triton X-100 1-5 %* *HEPES 1-5 %* — H412 – Skadelig for vandlevende organismer med langvarige virkninger. P273 – Undgå udledning til miljøet. P501 – Indholdet/beholderen bortskaffes på et godkendt affaldsanlæg.
  	**HCV VL Kit Controls** *NATRIUMAZID <1 %* — **FARE** H300 – Livsfarlig ved indtagelse. H410 – Meget giftig for vandlevende organismer, med langvarige virkninger. P264 – Vask ansigtet, hænderne og andre blottede hudområder grundigt efter brug. P273 – Undgå udledning til miljøet. P301 + P310 – I TILFÆLDE AF INDTAGELSE: Ring omgående til en GIFTINFORMATION eller en læge. P321 – Særlig behandling (se supplerende anvisninger vedrørende førstehjælp på denne etiket). P330 – Skyl munden. P391 – Opsaml spild.
—	**HCV VL Kit Calibrators** *HEPES 15-20 %* *Laurylsulfatlithiumsalt 5-10 %* *Lithiumhydroxid, Monohydrat 1-5 %* *Succinsyre 1-5 %* — H412 – Skadelig for vandlevende organismer med langvarige virkninger. P273 – Undgå udledning til miljøet. P501 – Indholdet/beholderen bortskaffes på et godkendt affaldsanlæg.

—	**Enzyme Reconstitution Solution** *Glycerol 20-25 %* *Triton X-100 5-10 %* *HEPES 1-5 %* — H412 – Skadelig for vandlevende organismer med langvarige virkninger. P273 – Undgå udledning til miljøet. P501 – Indholdet/beholderen bortskaffes på et godkendt affaldsanlæg.
—	**Target Capture Reagent** *HEPES 15-20 %* *Laurylsulfatlithiumsalt 5-10 %* *Lithiumhydroxid, Monohydrat 1-5 %* *Succinsyre 1-5 %* — H412 – Skadelig for vandlevende organismer med langvarige virkninger. P273 – Undgå udledning til miljøet. P501 – Indholdet/beholderen bortskaffes på et godkendt affaldsanlæg.

Krav til opbevaring og håndtering af reagens

A. Følgende tabel viser opbevaringsbetingelser og stabilitet for reagenser, kontroller og kalibrator.

Reagens	Opbevaring i uåbnet stand	Åbnet kit (rekonstitueret)	
		Opbevaring	Stabilitet
qHCV-amplifikationsreagens	2°C til 8°C		
qHCV-amplifikationsrekonstitutionsopløsning	2 °C til 8 °C	2°C til 8°C	30 dage[a]
qHCV-enzymreagens	2 °C til 8 °C		
qHCV-enzymrekonstitutionsopløsning	2 °C til 8 °C	2°C til 8°C	30 dage[a]
qHCV-promoterreagens	2 °C til 8 °C		
qHCV-promoterrekonstitutionsopløsning	2 °C til 8 °C	2°C til 8°C	30 dage[a]
qHCV-target capture reagens	2 °C til 8 °C	2°C til 8°C	30 dage[a]
qHCV NC CONTROL – (negativ kontrol)	-15 °C til -35 °C	15 °C til 30 °C	Hætteglas til engangsbrug Bruges inden 24 timer
qHCV LPC CONTROL + (lav positiv kontrol)	-15 °C til -35 °C	15 °C til 30 °C	Hætteglas til engangsbrug Bruges inden 24 timer
qHCV HPC CONTROL + (høj positiv kontrol)	-15 °C til -35 °C	15 °C til 30 °C	Hætteglas til engangsbrug Bruges inden 24 timer
qHCV PCAL (positiv kalibrator)	-15 °C til -35 °C	15 °C til 30 °C	Hætteglas til engangsbrug Bruges inden 24 timer

[a] Når reagenserne fjernes fra Panther systemet, skal de straks returneres til deres korrekte opbevaringstemperaturer.

B. Bortskaf alle ubrugte rekonstituerede reagenser og target capture reagens (TCR) efter 30 dage eller efter hovedlottets udløbsdato, alt efter hvilket, der kommer først.

C. Reagenser opbevaret i Panther systemet er stabile i 72 timer i systemet. Reagenser kan sættes i Panther systemet op til 8 gange. Panther systemet registrerer hver gang, der isættes reagenser.

D. Efter kalibratoren er optøet, skal opløsningen være klar, dvs. den må ikke være uklar eller have udfældninger.



E. Promoterreagens og rekonstitueret promoterreagens er lysfølsomme. Beskyt disse reagenser mod lys under opbevaring og klargøring til brug.

Udtagning og opbevaring af prøve

Bemærkning: *Håndtér alle prøver, som om de indeholder potentielt smitsomme stoffer. Overhold de generelle forholdsregler.*

Bemærkning: *Udvis forsigtighed for at undgå krydskontaminering under prøvehåndtering. Bortskaf fx brugte materialer uden at føre dem hen over åbne rør.*

Bemærkning: *Der anbefales kun sekundærplastrør til opbevaring.*

Fuldblodsprøver opsamlet i følgende typer glas- eller plastrør må anvendes:

- Rør indeholdende ethylendinitrilotetraeddikesyre (EDTA) eller antikoagulans med syre-citrat-dextrose (ACD) eller
- Plasma-forberedelsesglas (Plasma Preparation Tubes, PPT'er).
- Serumrør
- Serumseparatorrør (SST'er)

Ved serum skal der være dannet koagel, inden behandlingen fortsættes.

A. Prøveudtagning

Fuldblod kan lagres ved 2 °C til 30 °C og skal centrifugeres inden for 6 timer fra prøveudtagningen. Plasma eller serum skal separeres fra de pelleterede røde blodlegemer ifølge brugsanvisningen fra producenten af det anvendte rør. Plasma eller serum kan testes på Panther systemet i et primærrør eller overføres til et sekundærrør, f.eks. et Aptima rør til prøvealikvot (SAT). Den minimale mængde af serum eller plasma for primærprøvetagningsrør er 1200 µL, og for sekundærprøvetagningsrør er den minimale mængde 700 µL for at kunne opnå en reaktionsmængde på 500 µL. Nedenstående tabel angiver kravene til dødvolumen for hver type primær- og sekundærrør.

Rør (størrelse og type)	Dødvolumen på Panther
Aptima-rør til prøvealikvot (SAT)	0,2 mL
12 x 75 mm	0,5 ml
13 x 100 mm	0,5 mL
13 x 100 mm med gel	0,3 ml
16 x 100 mm med gel	0,7 mL

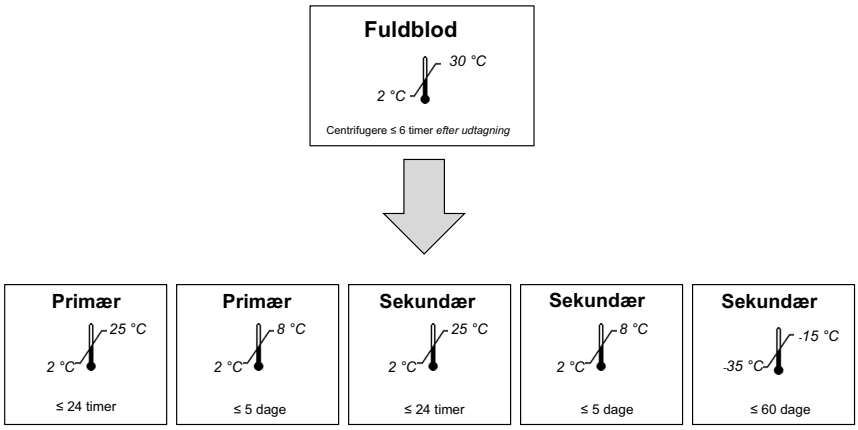
Hvis det ikke skal testes med det samme, kan plasma og serum opbevares i overensstemmelse med nedenstående specifikationer. Hvis plasma eller serum overføres til et sekundærrør, kan det nedfryses til -20 °C. Overstig ikke 3 nedfrysnings-/optøningscyklusser. Nedfrys ikke prøver i EDTA, ACD eller primære prøvetagningsrør til serum.

B. Prøveopbevaringsbetingelser

1. Plasmaprøver i EDTA og ACD

   Fuldblod kan lagres ved 2 °C til 30 °C og skal centrifugeres inden for 6 timer fra prøvetagningen. Plasma kan derefter opbevares under én af de følgende betingelser:

   - I primærprøvetagningsrør eller sekundærrør ved 2 °C til 25 °C i op til 24 timer
   - I primærprøvetagningsrør eller sekundærrør ved 2 °C til 8 °C i op til 5 dage eller
   - I sekundærrør ved -20 °C i op til 60 dage.

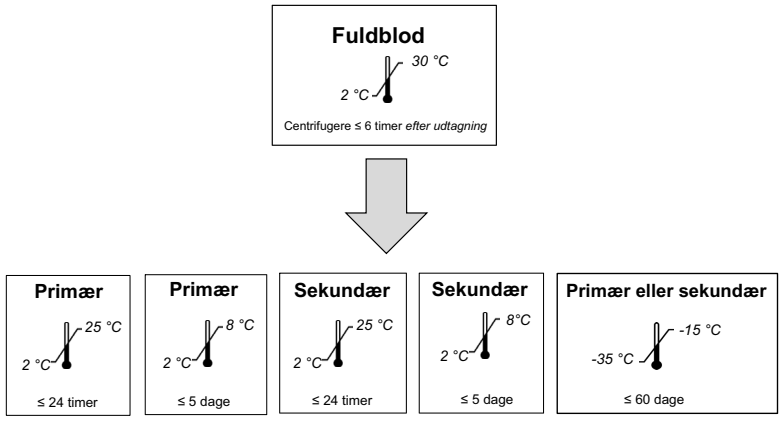


Figur 1. Betingelser for opbevaring af EDTA-/ACD-rør

2. PPT-prøver

   Fuldblod kan lagres ved 2 °C til 30 °C og skal centrifugeres inden for 6 timer fra prøveudtagningen. Plasma kan derefter opbevares under én af de følgende betingelser:

   - I primærprøvetagningsrør eller sekundærrør ved 2 °C til 25 °C i op til 24 timer
   - I primærprøvetagningsrør eller sekundærrør ved 2 °C til 8 °C i op til 5 dage eller
   - I primærprøvetagningsrør eller sekundærrør ved -20 °C i op til 60 dage.

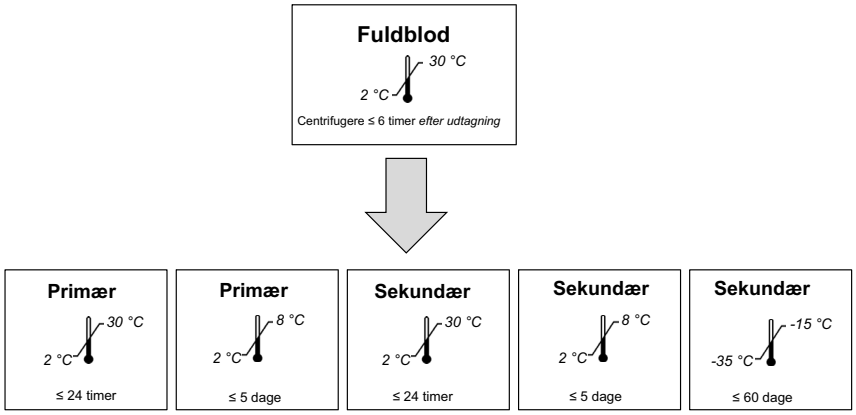


Figur 2. Opbevaringsbetingelser for PPT'er

3. Prøver i serumrør

   Fuldblod kan opbevares ved 2 °C til 30 °C og skal centrifugeres inden for 6 timer fra prøveudtagningen. Serum kan derefter opbevares under én af de følgende betingelser:

   - I primærprøvetagningsrør eller sekundærrør ved 2 °C til 30 °C i op til 24 timer
   - I primærprøvetagningsrør eller sekundærrør ved 2 °C til 8 °C i op til 5 dage eller
   - I sekundærrør ved -20 °C i op til 60 dage.

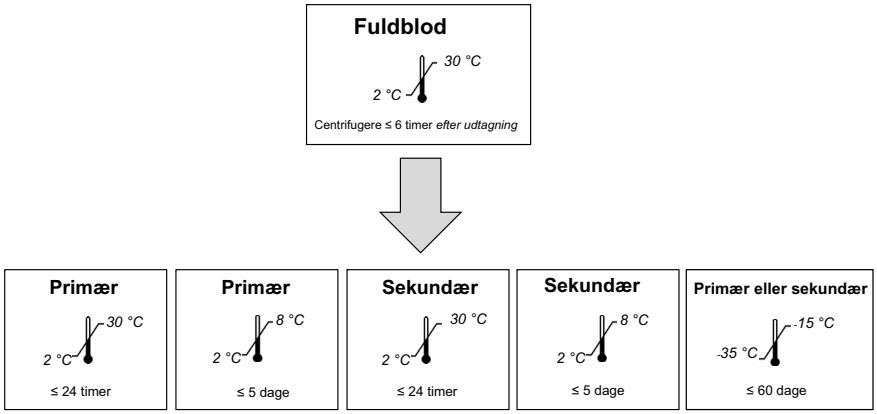


Figur 3. Opbevaringsbetingelser for serumrør

4. SST-prøver

   Fuldblod kan opbevares ved 2 °C til 30 °C og skal centrifugeres inden for 6 timer fra prøveudtagningen. Serum kan derefter opbevares under én af de følgende betingelser:

   - I primærprøvetagningsrør eller sekundærrør ved 2 °C til 30 °C i op til 24 timer
   - I primærprøvetagningsrør eller sekundærrør ved 2 °C til 8 °C i op til 5 dage eller
   - I primærprøvetagningsrør eller sekundærrør ved -20 °C i op til 60 dage.



Figur 4. Opbevaringsbetingelser for SST'er

C. Langtidsopbevaring i frossen tilstand

Plasma- eller serumprøver kan opbevares ved -65 °C -70 °C i op til 60 dage i SAT'er.

D. Fortynding af plasma- og serumprøver

Plasma- og serumprøver kan fortyndes i SAT eller et sekundørrør med henblik på testning på Panther systemet. Se *Testprocedure til Panther System*, trin E.5 herunder for flere oplysninger.

⚠ *Der bør ikke foretages en diagnostisk tolkning ud fra et "Ikke detekteret"-resultat for serum- eller plasmaprøver, der er blevet fortyndet. Tag en ny, ufortyndet prøve, og test derefter igen.*

Bemærkning: *Hvis en prøve fortyndes, skal den testes straks efter fortyndingen. En fortyndet prøve må ikke nedfryses.*

Prøver på Panther System

Prøver kan efterlades på Panther systemet uden hætte i op til 8 timer. Prøver kan fjernes fra Panther systemet og testes, så længe den samlede tid på systemet ikke overstiger 8 timer, før Panther systemet pipetterer prøven.

Prøvetransport

Overhold betingelserne for opbevaring af prøver, som beskrevet i *Udtagning og opbevaring af prøve*.

Bemærkning: *Prøver skal forsendes i henhold til gældende nationale, internationale og regionale transportregler.*

Panther System

Reagenserne til Aptima HCV Quant Dx assay er angivet herunder for Panther systemet. Reagensidentifikationssymbolerne er ligeledes angivet ved siden af reagensbetegnelsen.

Medølgende reagenser og materialer

Aptima HCV Quant Dx Assay Kit, 100 tests kat. nr. PRD-03506
(1 assayæske, 1 kalibratorkit og 1 kontrolkit)
Der kan bestilles ekstra kalibratorer og kontroller separat. Se de respektive katalognumre nedenfor.

Æske med Aptima HCV Quant Dx Assay
(opbevares ved 2 °C til 8 °C ved modtagelsen)

Symbol	Komponent	Kvantitet
A	**qHCV-amplifikationsreagens** *Ikke-infektiøse nukleinsyrer tørret i bufferopløsning.*	1 hætteglas
E	**qHCV-enzymreagens** *Revers transkriptase og RNA-polymerase tørret i HEPES bufferopløsning.*	1 hætteglas
PRO	**qHCV-promoterreagens** *Ikke-infektiøse nukleinsyrer tørret i bufferopløsning.*	1 hætteglas
AR	**qHCV-amplifikationsrekonstitutionsopløsning** *Vandig opløsning indeholdende glycerol og konserveringsmidler.*	1 x 7,2 mL
ER	**qHCV-enzymrekonstitutionsopløsning** *HEPES bufferopløsning, der indeholder et overfladeaktivt stof og glycerol.*	1 x 5,8 mL
PROR	**qHCV-promoterrekonstitutionsopløsning** *Vandig opløsning indeholdende glycerol og konserveringsmidler.*	1 x 4,5 mL
TCR	**qHCV-target capture reagens** *Nukleinsyrer i en buffersaltopløsning indeholdende fastfase, ikke-infektiøse nukleinsyrer og intern kalibrator.*	1 x 72,0 mL
	Rekonstitueringsmanchetter	3
	Stregkodeliste for hovedlot	1 liste

Aptima HCV Quant Dx kalibratorkit (kat. nr. PRD-03507)
(opbevares ved -15 °C til -35 °C ved modtagelsen)

Symbol	Komponent	Kvantitet
PCAL	**qHCV-positiv kalibrator** *Transkript i bufferopløsning.*	5 x 2,5 mL
	Kalibratorens stregkode	—

Aptima HCV Quant Dx kontrolkit (kat. nr. PRD-03508)
(opbevares ved -15 °C til -35 °C ved modtagelsen)

Symbol	Komponent	Kvantitet
NC	**qHCV negativ kontrol** *HCV-negativt defibrineret humant plasma indeholdende gentamicin og 0,2 % natriumazid som konserveringsmidler.*	5 x 0,8 mL
LPC	**qHCV lav positiv kontrol** *Ikke-infektiøs HCV Armored RNA i defibrineret humant plasma indeholdende gentamicin og 0,2 % natriumazid som konserveringsmidler.*	5 x 0,8 mL
HPC	**qHCV høj positiv kontrol** *Ikke-infektiøs HCV Armored RNA i defibrineret humant plasma indeholdende gentamicin og 0,2 % natriumazid som konserveringsmidler.*	5 x 0,8 mL
	Kontrollens stregkode	—

Nødvendige materialer, der skal anskaffes separat

Bemærkning: *For materialer, der fås fra Hologic, er katalognummeret anført, medmindre andet er angivet.*

Materiale	Kat. nr.
Panther™ System	303095
Panther Fusion™ System	PRD-04172
Panther™ System, kontinuerlig væske og affald (Panther Plus)	PRD-06067
Aptima® HCV Quant Dx kontrolkit	PRD-03508
Aptima® HCV Quant Dx kalibratorkit	PRD-03507
Panther kørselskit for Assays i realtid (kun til assays i realtid)	-03455 (5000 tests)
Aptima® Assay væskekit (også kendt som universelt væskekit) *indeholder Aptima® vaskeopløsning, Aptima® buffer til deaktiveringsvæske og Aptima® oliereagens*	303014 (1000 tests)
enheder med flere rør (Multi-tube units - MTU'er)	104772-02
Panther™ Waste Bag Kit (affaldsposekit)	902731
Panther™ Waste Bin Cover (Panther affaldsbin-afdækning)	504405
Eller Panther™ System kørselskit *(ved kørsel af ikke-realtids TMA-assays parallelt med realtids TMA-assays) indeholder MTU, affaldsposer, afdækningsstykker til affaldsbeholder og assayvæsker*	303096 (5000 tests)
Spidser,1000 µL, filtrerede, væskeregistrering, ledende og til engangsbrug *Ikke alle produkter er tilgængelige i alle regioner. Kontakt din repræsentant for regionsspecifik information.*	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Blegemiddel 5 % til 8,25 % (0,7 M til 1,16 M) natriumhypochloritopløsning	—
Engangshandsker uden pudder	—
Uigennemtrængelige udskiftningshætter	103036A
Udskiftningshætter til reagens *Flasker til rekonstituering af amplifikations-, enzym- og promoterreagens* *TCR-flaske*	 CL0041 (100 hætter) CL0040 (100 hætter)
Beskyttelsespapir til laboratoriebord med plastikbagside	—
Fnugfri servietter	—
Pipette	—
Spidser	—
Der kan anvendes følgende primærprøvetagningsrør: *13 mm x 100 mm* *13 mm x 75 mm* *16 mm x 100 mm*	 — — —
Centrifuge	—
Vortexmixer	—

Valgfri materialer

Materiale	Kat. nr.
Der kan anvendes følgende sekundærrør:	
12 mm x 75 mm	—
13 mm x 100 mm	—
16 mm x 100 mm	—
Rør til prøvealikvot (Specimen Aliquot Tubes, SAT'er) (100 stk.)	FAB-18184
Hætte til transportrør (100 stk.) *hætte til SAT*	504415
Aptima® prøvefortynder	PRD-03003
Aptima® prøvefortynderkit *indeholder prøvefortynder, 100 SAT'er og 100 hætter*	PRD-03478
Overførselspipetter	—
Kommercielt tilgængelige paneler	—
Podepinde med bomuldsspidser	—
Reagensglasryster	PRD-03488

Testprocedure til Panther System

Bemærkning: *Se Panther/Panther Fusion System Operator's Manual (Brugervejledningen til Panther/Panther Fusion System) for yderligere oplysninger om proceduren.*

A. Klargøring af arbejdsområde

1. Rengør de arbejdsoverflader, hvor reagenser skal klargøres. Tør arbejdsoverfladerne af med 2,5 % til 3,5 % (0,35 M til 0,5 M) natriumhypochloritopløsning. Lad natriumhypochloritopløsningen blive på overfladerne i mindst 1 minut, og skyl dernæst efter med demineraliseret (DI) vand. Natriumhypochloritopløsningen må ikke tørre. Dæk bordoverfladen med rene, absorberende afdækningsstykker med plastbagbeklædning til laboratoriebord.
2. Rengør en separat arbejdsflade, hvor prøverne skal klargøres. Følg proceduren, beskrevet herover (trin A.1).
3. Rengør eventuelle pipetter. Følg rengøringsproceduren, beskrevet herover (trin A.1).

B. Klargøring af kalibrator og kontroller

Lad kalibratoren og kontrollerne nå 15 °C til 30 °C før behandling, som følger:

1. Fjern kalibrator og kontroller fra opbevaring (-15 °C til -35 °C), og placér dem i temperaturer fra 15 °C til 30 °C. Vend forsigtigt op og ned på hvert reagensglas under optøningen, så de blandes grundigt. Sørg for, at rørenes indhold er tøet helt op inden brug.

   Valgmulighed. Kalibrator og kontrolrør kan lægges i en reagensglasryster, så de blandes grundigt. Sørg for, at rørenes indhold er tøet helt op inden brug.

   Bemærkning: *Sørg for, at der ikke dannes for kraftigt skum, når kalibratoren og kontrollerne vendes op og ned. Skum påvirker niveauregistreringen i Panther systemet.*
2. Når rørets indhold er tøet op, skal røret tørres af udvendigt med en ren og tør engangsserviet.
3. Åbn ikke rørene endnu for at undgå kontaminering.

C. Reagensrekonstituering/klargøring af et nyt kit

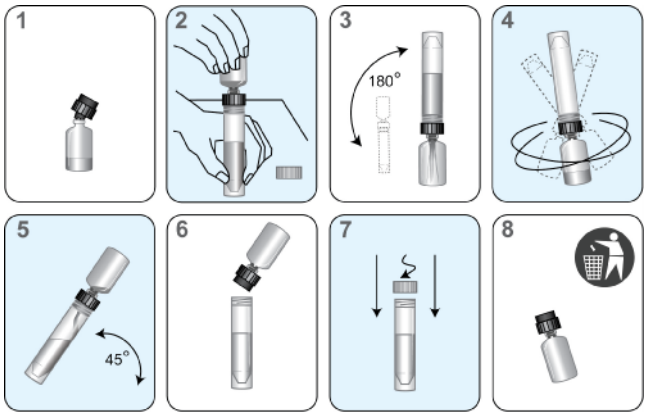
Bemærkning: *Rekonstituering af reagenser bør udføres, inden der påbegyndes arbejde på Panther systemet.*

1. Target capture reagens (TCR) klargøres på følgende måde:
   a. Fjern TCR fra opbevaring (2 °C til 8 °C). Kontrollér lotnummeret på TCR-flasken for at sikre, at det stemmer overens med lotnummeret på stregkodelisten for hovedlot.
   b. Ryst straks TCR-flasken kraftigt 10 gange. Lad TCR-flasken blive ved temperaturer på 15 °C til 30 °C for at varme flasken op i mindst 45 minutter. Inden for dette tidsrum skal TCR-flasken vendes op og ned mindst hver 10. minutter.

      Valgmulighed. TCR-flasken kan klargøres på en reagensglasryster på følgende måde: Fjern TCR fra opbevaring (2 °C til 8 °C), og ryst straks kraftigt 10 gange. Placér TCR-flasken i en reagensglasryster, og efterlad TCR-flasken ved 15 °C til 30 °C til opvarmning i mindst 45 minutter.
   c. Sørg for, at alle udfældninger opløses, og at de magnetiske partikler suspenderes før brug.
2. Til rekonstituering af amplifikations-, enzym- og promoterreagens gøres følgende:
   a. Fjern de frysetørrede reagenser og tilhørende rekonstitutionsopløsninger fra opbevaring (2 °C til 8 °C). Anbring hver enkelt rekonstitutionsopløsning parvist med det tilhørende frysetørrede reagens.
   b. Kontrollér, at rekonstitutionsopløsningen og det frysetørrede reagens har matchende etiketfarver. Kontrollér lotnumrene på stregkodelisten for hovedlot for at sikre, at de korrekte reagenser er grupperet.
      i. Åbn hætteglasset med frysetørret reagens ved at fjerne metalforseglingen og gummiproppen.
      ii. Indsæt rekonstitueringsmanchettens (sort) ende med fordybning med et fast tryk på hætteglasset (Figur 5, trin 1).
      iii. Åbn den tilhørende flaske med rekonstitutionsopløsning, og læg låget på et rent, afdækket arbejdsbord.
      iv. Placér flasken med rekonstitutionsopløsning på en stabil flade (dvs. et arbejdsbord). Vend derpå hætteglasset med frysetørret reagens over flasken med rekonstitutionsopløsning, og sæt manchetten fast på flasken med rekonstitutionsopløsning (Figur 5, trin 2).
      v. Vend langsomt de samlede flasker (hætteglas sat på flasken med opløsning), så opløsningen kan løbe ned i hætteglasset (Figur 5, trin 3).
      vi. Tag fat i de samlede flasker, og hvirvl dem rundt i mindst 10 sekunder (Figur 5, trin 4).
      vii. Vent i mindst 30 minutter på, at det frysetørrede reagens blandes med opløsningen.
      viii. Efter det frysetørrede reagens er blevet blandet med opløsningen, hvirvles de samlede flasker i mindst 10 sekunder, og derpå vippes opløsningen let frem og tilbage i hætteglasset, så indholdet blandes grundigt.
   c. Vend langsomt de samlede flasker igen, så hele opløsningen kan løbe tilbage i flasken med rekonstitutionsopløsning (Figur 5, trin 5).
   d. Fjern forsigtigt rekonstitueringsmanchetten og hætteglasset (Figur 5, trin 6).
   e. Sæt låget på flasken igen. Registrér operatørinitialer og rekonstitueringsdato på etiketten (Figur 5, trin 7).

f. Bortskaf rekonstitueringsmanchetten og hætteglasset (Figur 5, trin 8).

Advarsel: *Undgå, at der dannes kraftigt skum, når reagenserne rekonstitueres. Skum påvirker niveauregistreringen i Panther systemet.*



Figur 5. Reagensets rekonstitueringsproces

D. Klargøring af reagens for tidligere klargjorte reagenser

1. Fjern de tidligere klargjorte reagenser fra opbevaring (2 °C til 8 °C).
2. Tidligere klargjort amplifikation, enzym, promoterreagenser og TCR skal nå 15 °C til 30 °C før start af assayet.
3. For tidligere klargjort TCR udføres trin C.1 ovenfor før isætning i systemet.
4. Hvirvl, og vend amplifikations-, enzym- og promoterreagens op og ned for at blande det grundigt før isætning i systemet. Undgå, at der dannes kraftigt skum, når reagenserne vendes op og ned.

   Valgmulighed: Tidligere klargjorte reagenser kan klargøres på reagensglasryster på følgende måde: Fjern reagenserne fra opbevaring (2 °C til 8 °C). Placér reagenserne på en reagensglasryster, og lad dem stå ved 15 °C til 30 °C for at varme dem op i mindst 30 minutter.
5. Der må ikke tilføjes reagens til reagensflaskerne. Panther systemet registrerer og afviser flasker, der har fået tilføjet reagens.

E. Prøvehåndtering

1. Kontrollér, at de behandlede prøver i primærrør eller ufortyndede prøver i sekundærrør er opbevaret korrekt i henhold til *Udtagning og opbevaring af prøve*.
2. Sørg for, at frosne prøver er tøet helt op. Bland de optøede prøver i vortexmixer i 3 til 5 sekunder, så de blandes omhyggeligt.
3. Lad prøverne nå 15 °C til 30 °C før behandlingen. Se *Prøver på Panther System* for yderligere oplysninger.
4. Kontrollér, at hvert primærprøvetagningsrør indeholder op til 1200 µL prøve, eller at hvert SAT indeholder mindst 700 µL prøve. Se tabellen i *Prøveudtagning* vedrørende kravene til dødvolumen for hver type primær- og sekundærrør. Hvis fortynding af prøven er nødvendigt, se trin E.5 herunder for yderligere oplysninger.
5. Fortynd en plasma- eller serumprøve i forholdet 1:3 i et SAT eller i forholdet 1:100 i et sekundærrør.

   En prøve kan fortyndes i et sekundærrør med henblik på testning på Panther systemet.

⚠ *Der bør ikke foretages en diagnostisk tolkning ud fra et "Ikke detekteret"-resultat for serum- eller plasmaprøver, der er blevet fortyndet. Tag en ny, ufortyndet prøve, og test derefter igen.*

Bemærkning: *Hvis en prøve fortyndes, skal den testes straks efter fortyndingen.*

a. Fortynding af prøver med lav mængde

Mængden af prøver kan øges til den påkrævede minimumsmængde (700 µL) ved brug af Aptima prøvefortynder. Prøver med mindst 240 µL kan fortyndes med to dele prøvefortynder (1:3) på følgende måde:

i. Placér 240 µL prøve i et SAT.

ii. Tilsæt 480 µL Aptima-prøvefortynder.

iii. Sæt hætte på røret.

iv. Vend røret forsigtigt op og ned 5 gange.

Prøver, der er fortyndet 1:3, kan testes ved brug af 1:3 valgmuligheden på Panther systemet (se *Brugervejledning til Panther/Panther Fusion System* for flere oplysninger). Softwaren rapporterer automatisk de ufortyndede resultater med denne fortyndingsfaktor. Disse prøver markeres som værende fortyndede prøver.

b. Fortynding af prøver med høj titer

Hvis en prøves resultat ligger over den øvre kvantiteringsgrænse (ULoQ), kan den fortyndes med 99 dele Aptima prøvefortynder (1:100) på følgende måde:

i. Placer 30 µL prøve i et SAT eller et sekundærrør.

ii. Tilsæt 2970 µL Aptima-prøvefortynder.

iii. Sæt hætte på røret.

iv. Vend røret forsigtigt op og ned 5 gange.

Prøver, der er fortyndet 1:100, kan testes ved brug af 1:100 valgmuligheden på Panther systemet (se *Panther/Panther Fusion System Operator's Manual* (Brugervejledning til Panther/Panther Fusion System) for flere oplysninger). Softwaren rapporterer automatisk de ufortyndede resultater med denne fortyndingsfaktor. Disse prøver markeres som værende fortyndede prøver.

Bemærk: *For fortyndede prøver med ufortyndede koncentrationer større end ULoQ rapporteres resultaterne ved hjælp af et videnskabeligt notat.*

6. Umiddelbart inden isætning af prøverne i et prøvestativ centrifugeres hver prøve ved 1000 til 3000*g* i 10 minutter. Fjern ikke hætterne. Bobler i reagensglasset påvirker niveaumålingen i Panther systemet.

   Se *Klargøring af systemet*, trin F.2 herunder for information om isætning af prøver i stativet og fjernelse af hætter.

F. Klargøring af systemet

1. Sæt systemet op ifølge anvisningerne i brugervejledning til *Panther/Panther Fusion Systemog Bemærkninger til proceduren*. Sørg for, at der anvendes reagensstativer og TCR-adaptere af passende størrelse.
2. Isæt prøverne i prøvestativet. Udfør de følgende trin for hvert prøverør (prøve og, hvor nødvendigt, kalibrator og kontroller):
   a. Løsn én hætte til prøvereagensglas, men fjern den ikke endnu.

      Bemærk: *Vær især forsigtig med at undgå kontaminering fra spredning af aerosoler. Løsn forsigtigt hætterne på prøverne.*

b. Isæt prøvereagensglasset i prøvestativet.

c. Gentag trin 2.a og 2.b for hver resterende prøve.

d. Når prøverne er sat i prøvestativet, fjernes og bortskaffes hver prøvereagensglashætte i ét prøvestativ. For at undgå kontaminering må en hætte ikke føres hen over andre prøvestativer eller prøvereagensglas.

e. Brug om nødvendigt en ny engangs overførselspipette til at fjerne eventuelle bobler eller skum.

f. Når den sidste hætte er fjernet, skal prøvestativet sættes i en prøvebås.

Bemærkning: *Hvis der køres andre assays og prøvetyper på samme tid, skal prøveholderen sikres, før prøvestativet sættes i en prøvebås.*

g. Gentag trin 2.a og 2.f for det næste prøvestativ.

Bemærkninger til proceduren

A. Kalibrator og kontroller

1. Rørene til qHCV positiv kalibrator, qHCV lav positiv kontrol, qHCV høj positiv kontrol og qHCV negativ kontrol kan sættes i en vilkårlig position i prøvestativet og i et vilkårligt prøvebåsspor på Panther systemet. Pipettering af prøver begynder, når ét af de to følgende forhold er blevet opfyldt:
   a. Kalibratoren og kontrollerne behandles aktuelt af systemet.
   b. Gyldige resultater for kalibratoren og kontrollerne er blevet registreret på systemet.
2. Når kalibrator- og kontrolrørene er blevet pipetteret og behandles til Aptima HCV Quant Dx assay-reagenskittet, kan prøver testes med det tilhørende, rekonstituerede kit i op til 24 timer, **medmindre:**
   a. Kalibrator- eller kontrolresultaterne er ugyldige.
   b. Det tilknyttede assayreagenskit fjernes fra systemet.
   c. Det tilknyttede assayreagenskit har overskredet stabilitetsgrænserne.
3. Kalibratoren og hvert kontrolrør kan anvendes én gang. Forsøg på at bruge reagensglasset mere end én gang kan føre til fejl i behandlingen.

B. Handskepudder

Som i alle reagenssystemer kan for meget pudder på visse handsker forårsage kontaminering af åbnede reagensglas. Det anbefales at bruge handsker uden pudder.

Kvalitetskontrol

En kørsel eller et prøveresultat kan blive ugyldiggjort af en operatør, hvis der observeres tekniske problemer, problemer hos operatøren eller med instrumentet under udførelsen af assayet, og de er dokumenteret. Hvis det er tilfældet, skal prøverne gentestes.

Kalibrering af assayet

For at få gyldige resultater skal en assaykalibrering være afsluttet. En enkelt, positiv kalibrator køres i triplikat, hver gang et reagenskit sættes i Panther systemet. Når kalibreringen er fastsat, gælder den op til 24 timer. Software i Panther systemet giver operatøren en meddelelse, når en kalibrering er nødvendig. Operatøren scanner en kalibreringskoefficient fundet på stregkodelisten for hovedlot, der følger med hvert reagenskit.

Under behandlingen verificeres kriterierne for godkendelse af kalibratoren automatisk af softwaren i Panther systemet. Hvis færre end to kalibratorreplikater er gyldige, ugyldiggør softwaren automatisk kørslen. Prøver i en ugyldiggjort kørsel skal testes igen med en netop klargjort kalibrator og netop klargjorte kontroller.

Negative og positive kontroller

For at danne gyldige resultater er det nødvendigt at teste et sæt assaykontroller. Ét replikat af den negative kontrol, af den lave positive kontrol og af den høje positive kontrol skal testes hver gang et reagenskit sættes i Panther systemet. Når kontrollerne er fastsat, er de gyldige op til 24 timer. Software i Panther systemet gør operatøren opmærksom på, når der kræves kontroller.

Under behandlingen verificeres kriterierne for godkendelse af kontrollerne automatisk af softwaren i Panther systemet. For at opnå gyldige resultater skal den negative kontrol udvise resultatet “Not Detected” (Ikke detekteret), og de positive kontroller skal udvise resultater, der ligger inden for de foruddefinerede parametre (LPC Nominelt target: 2,36 $\log_{10}$ IU/mL, HPC Nominelt target: 5,36 $\log_{10}$ IU/mL). Hvis en af kontrollerne udviser et ugyldigt resultat, ugyldiggør softwaren automatisk kørslen. Prøver i en ugyldiggjort kørsel skal testes igen med en netop klargjort kalibrator og netop klargjorte kontroller.

Intern kalibrator/intern kontrol

Hver prøve indeholder en intern kalibrator/intern kontrol (IC). Under behandlingen verificeres IC-godkendelseskriterierne automatisk af Panther systemsoftwaren. Hvis et IC-resultat er ugyldigt, bliver prøveresultatet ugyldiggjort. Hver prøve med et ugyldigt IC-resultat skal testes igen for at opnå et gyldigt resultat.

Panther systemsoftwaren er udviklet til at verificere processerne nøjagtigt, når procedurerne udføres efter anvisningerne på denne indlægsseddel og i *Panther/Panther Fusion System Operator's Manual* (Brugervejledningen til Panther/Panther Fusion System).

Tolkning af resultater

Panther systemet bestemmer automatisk koncentrationen af HCV-RNA for prøver og kontroller ved at sammenligne resultaterne med en kalibreringskurve. HCV-RNA-koncentrationer rapporteres i IU/mL og log_{10} IU/mL. Fortolkningen af resultater er vist i Tabel 1. Hvis fortyndingen 1:3 eller 1:100 bruges til fortyndede prøver, beregner Panther systemet automatisk HCV-RNA-koncentrationen for den ufortyndede prøve ved at gange den fortyndede koncentration med fortyndingsfaktoren, og de fortyndede prøver markeres som værende fortyndet.

Bemærkning: *For fortyndede prøver kan resultater, vist som "Not detected" (Ikke detekteret) eller "<10 detected" (10 detekteret) blive genereret ved fortynding af en prøve med en koncentration over, men tæt på LoD eller LLoQ (detektionsgrænse eller nedre grænse for kvantitering). Det anbefales at indsamle og teste en anden ufortyndet prøve, hvis et kvantitativt resultat ikke kan opnås.*

Panther systemet giver ikke et kvalitativt resultat (dvs. "Reaktiv" eller "Ikke-reaktiv") til diagnostisk brug. Operatøren skal fortolke den rapporterede HCV-RNA-koncentration i form af et kvalitativt resultat (Tabel 1). Prøver med resultater angivet som "Not detected" (Ikke detekteret) er ikke-reaktive over for HCV-RNA. Prøver med resultater angivet som "<10 detected" (10 detekteret) eller prøver med resultater vist inden for det lineære område og >100.000.000 (øvre grænse for kvantitering) angiver, at der blev detekteret HCV-RNA, og at disse prøver er reaktive over for HCV-RNA.

Tabel 1: Tolkning af resultat

Rapporteret Aptima HCV Quant Dx Assay-resultat		Fortolkning af HCV-RNA-koncentration	Brugerens diagnostiske kvalitative fortolkning[a]
IU/mL	Log_{10} værdi[b]		
Ikke detekteret	Ikke detekteret	HCV-RNA ikke detekteret.	Ikke-reaktiv over for HCV-RNA
<10 detekteret	<1,00	HCV-RNA detekteres, men på et niveau, der ligger under den nedre kvantiteringsgrænse (LLoQ)	Reaktiv for HCV-RNA
10 til 100.000.000	1,00 til 8,00	HCV-RNA-koncentrationen ligger inden for det lineære område på 10 til 100.000.000 IU/mL	Reaktiv for HCV-RNA
>100.000.000	>8,00	HCV- RNA-koncentration er over ULoQ	Reaktiv for HCV-RNA
Ugyldig[c]	Ugyldig[c]	Der opstod en fejl under udarbejdelsen af resultatet. Prøven skal testes igen.	Ugyldig

[a] En diagnostisk fortolkning kan udarbejdes på grundlag af enten serum- eller plasmaprøver, der ikke er blevet fortyndet.
[b] Værdien er afkortet til to decimaler.
[c] Ugyldige resultater vises med blå skrift.

Godkendelseskriterierne for hver af Aptima HCV Quant Dx assaykontrollerne er angivet i Tabel 2.

Bemærkning: *Inddrivelsesintervallet nedenfor skifter baseret på den tildelte værdi af hvert enkelt lot. Se den tildelte koncentration, der er angivet på indlægssedlen til kontrollens stregkodeliste, der leveres med hver kontrolæske.*

Tabel 2: Godkendelseskriterier for genfindingsområde for Aptima HCV Quant Dx Assay-kontroller

Komponent	Indvindingsområde for gyldige kørsler
Negativ kontrol	N/A
Lav positiv kontrol	+/- 0,5 log_{10} IU/mL
Høj positiv kontrol	+/- 0,5 log_{10} IU/mL

Begrænsninger

A. Kun personale, som er oplært i fremgangsmåden, må anvende dette assay. Hvis anvisningerne på denne indlægsseddel ikke følges, kan det føre til fejlagtige resultater.

B. Pålidelige resultater er afhængige af tilstrækkelig prøvetagning og korrekt transport, opbevaring og behandling af prøver.

C. Selv om det er sjældent, kan mutationer i de højt konserverede regioner af virusgenomet, der er dækket af primere og/eller prober i Aptima HCV Quant Dx assay, resultere i manglende evne til at detektere virusset.

Analytisk præstation

Detektionsgrænse (LoD) i henhold til WHO's 2. internationale standard

Detektionsgrænsen (LoD) for dette assay defineres som koncentrationen af HCV-RNA, der detekteres med 95 % eller større sandsynlighed ifølge CLSI EP17-A2.[18]

LoD blev bestemt ved testning af paneler i henhold til WHO's 2. internationale standard for hepatitis C virus RNA (NIBSC 96/798 genotype 1), fortyndet i HCV-negativt humant EDTA-plasma og -serum. Der blev testet mindst 36 replikater af hver fortynding med hvert af tre reagenslot for mindst 108 replikater for hver fortynding. Der blev udført probit-analyser for at generere de forventede detektionsgrænser. LoD værdierne er resultaterne fra det reagenslot, der har den højeste forventede detektionsgrænse. 95 % LoD for Aptima HCV Quant Dx assayet ved brug af WHO's 2. internationale standard er 4,3 IU/mL for plasma og 3,9 IU/mL for serum.

Detektionsgrænse på tværs af HCV-genotyper

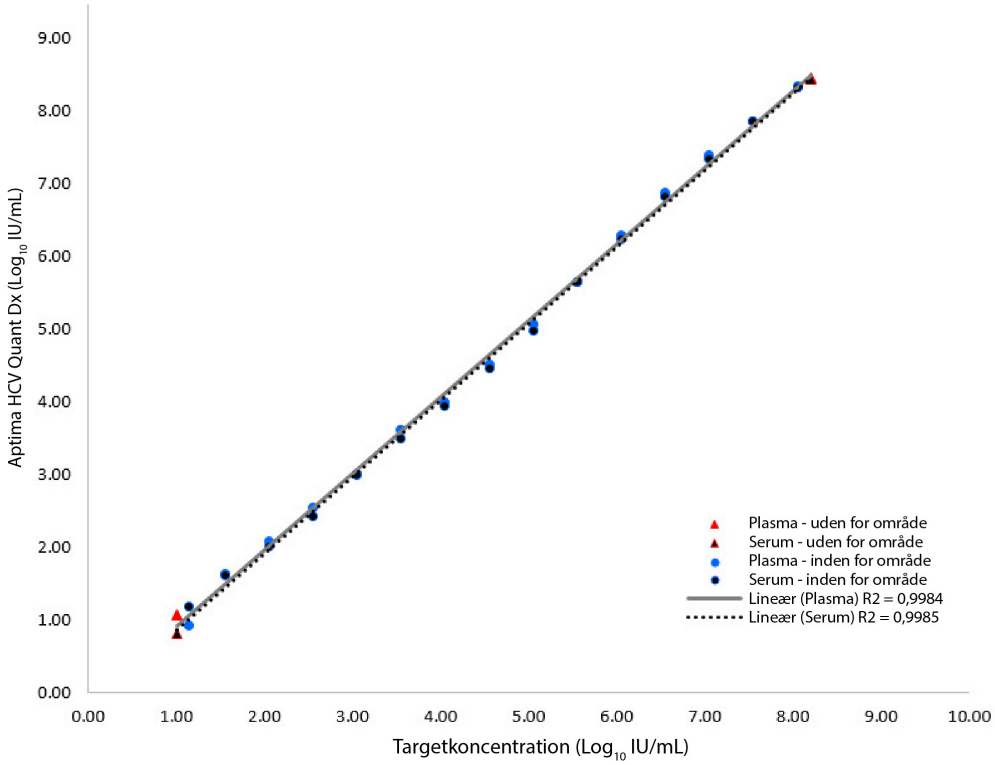
LoD blev bestemt ved at teste fortyndinger af HCV-positive kliniske prøver for genotyper 1, 2, 3, 4, 5 og 6 i HCV-negativt humant plasma og serum. Koncentrationerne blev bestemt med et godkendt assay. Der blev testet mindst 20 replikater for hvert panelmedlem med hvert af tre reagenslot for mindst 60 replikater pr. panelmedlem. Der blev udført probit-analyser for at generere forventede detektionsgrænser på 95 %. LoD værdierne, som vises i Tabel 3, er resultaterne fra det reagenslot, der har den højeste forventede detektionsgrænse.

Tabel 3: Detektionsgrænse på tværs af HCV-genotyper ved brug af kliniske prøver

Genotype	Forventet detektionsgrænse	Koncentration (IU/mL)	
		Plasma	Serum
1	95 %	4,0	5,2
2	95 %	2,8	4,0
3	95 %	4,3	3,4
4	95 %	4,8	2,3
5	95 %	2,1	3,3
6	95 %	4,1	3,9

Lineært område

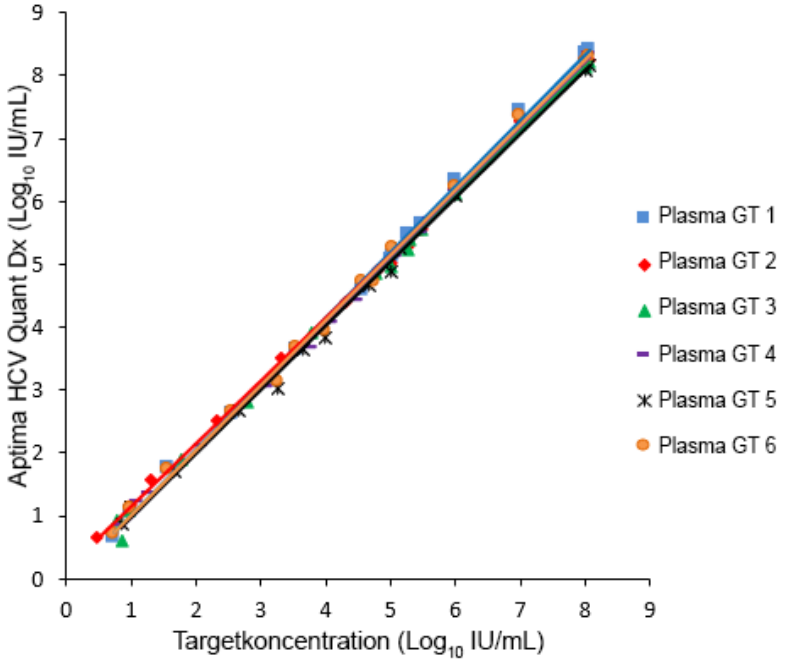
Det lineære område blev fastlagt ved testning af paneler, bestående af HCV 1a Armored RNA (aRNA) fortyndet i HCV-negativt humant plasma og serum ifølge CLSI EP06-A.[19] Paneler varierede i koncentration fra 1,0 log_{10} IU/mL til 8,2 log_{10} IU/mL. Aptima HCV Quant Dx assayet udviste linearitet på tværs af det testede område med en øvre kvantiteringsgrænse (ULoQ) på 8,0 log_{10} IU/mL, som vist i Figur 6.



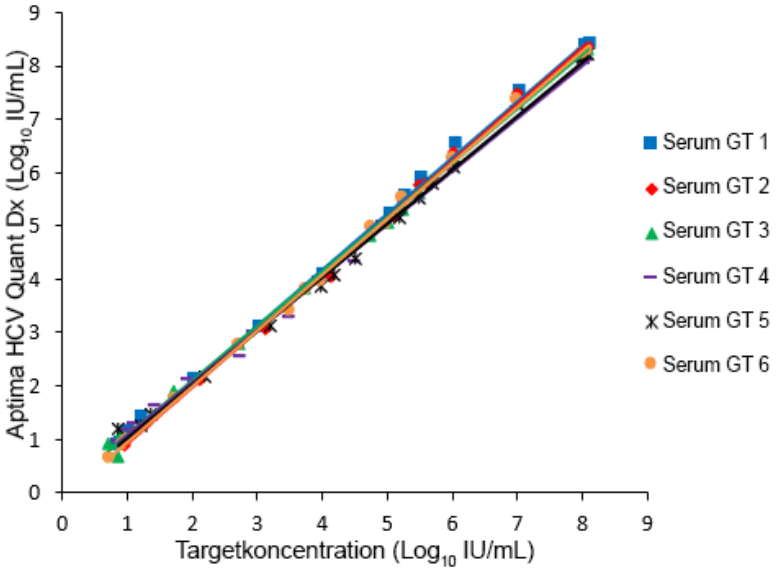
Figur 6. Linearitet i plasma og serum

Linearitet på tværs af HCV-genotyper

Lineariteten og det lineære område for HCV-genotype 1 (1a for plasma og 1b for serum) til 6 blev fastsat ved at teste fortyndede individuelle klinisk positive, én for hver HCV-genotype for assayets lavere område af assayet kombineret med aRNA (HCV 1a) for assayets højere område (over 100.000 IU/mL). Fortyndinger i både negativt humant plasma og serum blev testet for alle genotyper. Linearitet blev påvist for alle seks genotyper i hele det testede område, som vist i Figur 7 for plasma og Figur 8 for serum.



Figur 7. Lineært område og linearitet (Plasma)



Figur 8. Lineært område og linearitet (Serum)

Nedre kvantiteringsgrænse ved brug af WHO's 2. internationale standard

Den nedre kvantiteringsgrænse (LLoQ) defineres som den laveste koncentration ved hvilken, HCV-RNA kvantiteres pålideligt inden for en samlet fejlprocent i henhold til CLSI EP17-A2.[18] Total fejl blev beregnet ved hjælp af to metoder: Total Analytical Error (TAE) (analytisk usikkerhed) = |bias| + 2SD og Total Error (TE) (Total fejl) = SQRT(2) x 2SD. For at sikre nøjagtighed og præcision af målinger blev den samlede fejlprocent for Aptima HCV Quant Dx assayet sat til 1 log_{10} IU/mL (dvs. at ved LLoQ er forskellen mellem to målinger på mere end 1 log_{10} IU/mL statistisk signifikant).

LLoQ blev bestemt ved testning af paneler i henhold til WHO's 2. internationale standard for hepatitis C virus RNA (NIBSC 96/798 genotype 1), fortyndet i HCV-negativt humant plasma og serum. Der blev testet seks og tredive (36) replikater af hver fortynding med hvert af tre reagenslot for mindst 108 replikater pr. fortynding. Resultaterne fra reagenslottet med den højeste koncentration lig med eller større end LoD, og som opfylder TE- og TAE-kravene, vises i Tabel 4 for plasma og Tabel 5 for serum. LLoQ for WHO's 2. internationale standard er 7 IU/mL (0,82 log_{10} IU/mL) for plasma og 9 IU/mL (0,93 log_{10} IU/mL) for serum, som sammenfattet i Tabel 6. LLoQ blev fastslået på tværs af genotyper (se *Bestemmelse af den nedre kvantiteringsgrænse (LLoQ) på tværs af HCV-genotyper*). Disse genotypedata fastsætter den samlede LLoQ for assayet som 10 IU/mL.

Tabel 4: LLoQ ved brug af WHO's 2. internationale standard for HCV fortyndet i plasma

Reagenslot	Aptima HCV Quant Dx	Aptima HCV Quant Dx	SD	Bias	Beregnet TE	Beregnet TAE
	(IU/mL)	(log_{10} IU/mL)	(log_{10} IU/mL)	(log_{10} IU/mL)	(log_{10} IU/mL)	(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=standardafvigelse

Tabel 5: LLoQ ved brug af WHO's 2. internationale standard for HCV fortyndet i serum

Reagenslot	Aptima HCV Quant Dx	Aptima HCV Quant Dx	SD	Bias	Beregnet TE	Beregnet TAE
	(IU/mL)	(log_{10} IU/mL)	(log_{10} IU/mL)	(log_{10} IU/mL)	(log_{10} IU/mL)	(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=standardafvigelse

Tabel 6: Oversigt over LLoQ ved brug af WHO's 2. internationale standard for HCV

Reagenslot	Plasma LLoQ		Serum 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

Bestemmelse af den nedre kvantiteringsgrænse (LLoQ) på tværs af HCV-genotyper

LLoQ blev bestemt ved at teste fortyndinger af HCV-positive kliniske prøver for genotyper 1, 2, 3, 4, 5 og 6 i HCV-negativt humant plasma og serum. Tildelingen af koncentrationen for kliniske prøver blev bestemt med et komparatorassay. Der blev testet 36 replikater for hvert panelmedlem med hvert af tre reagenslot for mindst 108 replikater pr. panelmedlem. Resultaterne fra reagenslottet med den højeste koncentration lig med eller større end LoD, og som opfylder TE- og TAE-kravene, beregnet i henhold til CLSI EP 17-A2,[18] vises i Tabel 7 for plasma og Tabel 8 for serum. Kun ét resultat, der er større end og mindre end LLoQ pr. genotype, er rapporteret i Tabel 7 og Tabel 8 nedenfor, da disse resultater i høj grad afspejler den forventede LLoQ. LLoQ for genotyper 1 til 6 i plasma og serum er sammenfattet i Tabel 9. Genotype 6 havde den højeste LLoQ for serum på 10 IU/mL. Disse fastsatte den samlede LLoQ for assayet som 10 IU/mL.

Tabel 7: Bestemmelse af LLoQ på tværs af genotyper i plasma

Genotype	Aptima HCV Quant Dx[a] (IU/mL)	Aptima HCV Quant Dx[a] (log_{10} IU/mL)	SD (log_{10} IU/mL)	Bias (log_{10} IU/mL)	Beregnet TE (log_{10} IU/mL)	Beregnet 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=standardafvigelse

[a]Yderligere niveauer blev kørt, men disse data rapporteres ikke i tabellen.

Tabel 8: Bestemmelse af LLoQ på tværs af genotyper i serum

Genotype	Aptima HCV Quant Dx[a] (IU/mL)	Aptima HCV Quant Dx[a] (log_{10} IU/mL)	SD (log_{10} IU/mL)	Bias (log_{10} IU/mL)	Beregnet TE (log_{10} IU/mL)	Beregnet 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=standardafvigelse

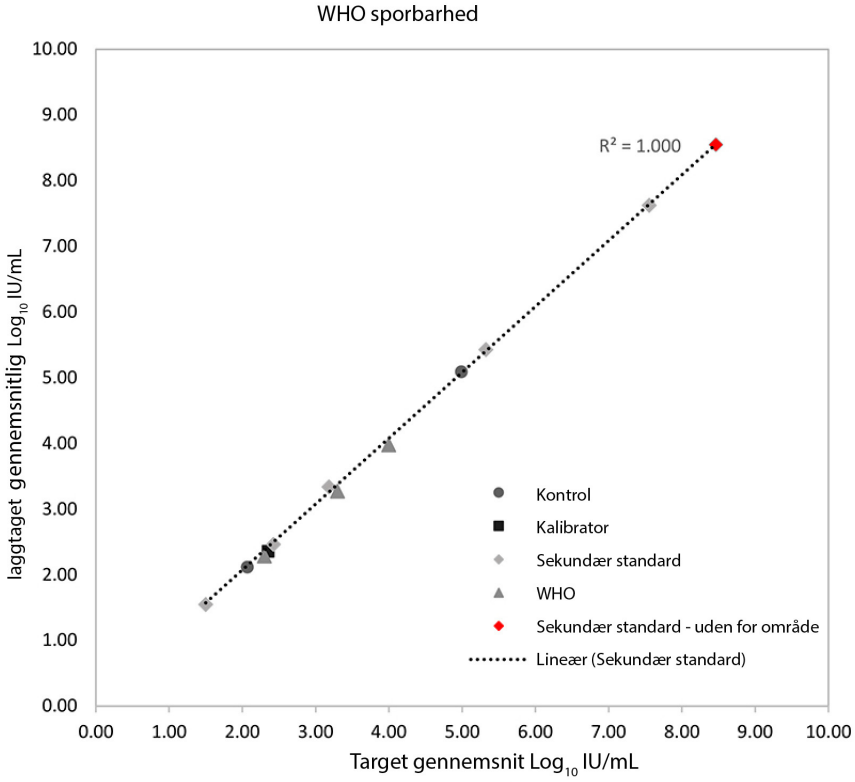
[a]Yderligere niveauer blev kørt, men disse data rapporteres ikke i tabellen.

Tabel 9: Oversigt over LLoQ på tværs af genotyper i plasma og serum

HCV-genotype	Plasma LLoQ		Serum 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

Sporbarhed til WHO-standarden

En række sekundære standarder med kendte koncentrationer blev brugt gennem hele produktudviklingen og produktfremstillingen for at fastsætte sporbarheden til WHO-standarden. De koncentrationer, der blev testet for HCV WHO-standarden, var mellem 4,00 og 2,30 log_{10} IU/mL, de sekundære standarder varierede i koncentration fra 1,50 til 8,46 log_{10} IU/mL. Aptima HCV Quant Dx assaykontrollerne og kalibratorerne blev også testet sammen med de sekundære standarder og WHO-standarden. Alle panelerne havde tilsvarende resultater, og de blev fordelt lineært over assayets lineære område, som vist i Figur 9.



Figur 9. Sporbarhed mellem 2. HCV WHO-standard targetkoncentrationer og iaggtaget koncentration fra Aptima HCV Quant Dx Assay

Præcision

Aptima HCV Quant Dx-præcisionspanelet blev etableret ved at fortynde HCV-positivt klinisk plasma og HCV 1a aRNA til HCV-negativt klinisk plasma (de to højeste panelmedlemmer var aRNA). Syv positive panelmedlemmer strakte sig over assayets område (1,86 log_{10} IU/mL til 7,68 log_{10} IU/mL) og blev testet i tre replikater pr. kørsel af én operatør ved hjælp af ét pilotlot af reagenser på ét Panther system over 21 dage, to kørsler om dagen.

Tabel 10 viser præcisionen af assayresultaterne (i log_{10} IU/mL) mellem kørsler, inden for kørsler og i alt. Samlet variabilitet var ≤0,14 på tværs af alle panelmedlemmer, primært pga. variabilitet inden for samme kørsel (dvs. tilfældig fejl).

Tabel 10: Præcision af Aptima HCV Quant Dx Assay

N	Middelkoncentration (IU/mL)	Middelkoncentration (log_{10} IU/mL)	Mellem dage SD	Mellem kørsler SD	Inden for en kørsel SD	I alt 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=standardafvigelse

[a] Antallet af ugyldige resultater inden for assayets lineære område.

Bemærkning: Variabilitet pga. visse faktorer kan være numerisk negativ, hvilket kan forekomme, hvis variabiliteten pga. disse faktorer er meget lille. Når dette forekommer, vises SD som 0,00.

Potentielt interfererende stoffer

Følsomheden af Aptima HCV Quant Dx assay for interferens fra eleverede niveauer af endogene stoffer og fra lægemidler, der normalt ordineres til HCV-inficerede personer, blev evalueret. HCV negative plasmaprøver og prøver tilsat HCV til en koncentration af ca. 15 IU/mL (1,2 log_{10} IU/mL) og 1995 IU/mL (3,3 log_{10} IU/mL) af HCV-RNA blev testet.

Der blev ikke iagttaget nogen interferens i assayets præstation ved tilstedeværelse af albumin (90 mg/mL), hæmoglobin (5 mg/mL), triglycerider (30 mg/mL) eller ukonjugeret bilirubin (0,2 mg/mL).

Kliniske plasmaprøver fra patienter med eleverede niveauer af definerede stoffer eller fra patienter med de sygdomme, 10 prøver for hvert stof, som angives i Tabel 11, blev testet med Aptima HCV Quant Dx assay. Der blev ikke observeret interferens af assayets præstation.

Tabel 11: Testede kliniske prøvetyper

	Kliniske prøvetyper
1	Rheumatoidfaktor (RF)
2	Antinukleært antistof (ANA)
3	Anti-Jo-1 antistof (JO-1)
4	Systemisk Lupus Erythematosus (SLE)
5	Rheumatoid arthritis (RA)
6	Multipel sklerose (MS)
7	Hyperglobulinæmi
8	Eleveret alanin-aminotransferase (ALT)
9	Eleveret aspartat-aminotransferase (ALT)
10	Alkoholisk cirrhose (AC)
11	Multipelt myelom (MM)
12	Lipæmisk (eleveret lipid)
13	Ikterisk (eleveret bilirubin)
14	Hæmolyseret (eleveret hæmoglobin)
15	Eleveret protein/albumin
16	HBV-antistoffer
17	HIV-1-antistoffer
18	HIV-2-antistoffer

Der blev ikke iagttaget interferens af assayets præstation ved tilstedeværelse af de eksogene stoffer, vist i Tabel 12 ved koncentrationer mindst tre gange højere end $C_{maks.}$ (humant plasma).

Tabel 12: Eksogene stoffer

Pool af eksogent stof	Testede eksogene stoffer
1	Telaprevir, clarithromycin, interferon alpha-2a, dolutegravir, azithromycin
2	Simeprevir, sofosbuvir
3	Efavirenz, boceprevir, pegyleret interferon alfa-2b, emtricitabin, raltegravir, amoxicillin
4	Abacavir-sulfat, ribavirin, dasabuvir, rilpivirin, rifampin/rifampicin
5	Lopinavir, tenofovir, lamivudin, valganciclovir
6	Heparin, EDTA, natriumcitrat

Præstation med HCV-negative prøver

Specificiteten blev bestemt ved brug af 198 friske og 538 frosne HCV-negative kliniske prøver. Samlet set blev 370 plasma- og 366 serumprøver bekræftet som værende HCV-negative ved anvendelse af godkendte assays. Specificiteten blev beregnet som procentdelen af HCV-negative prøver med resultater for "Ikke detekteret." HCV-RNA blev ikke detekteret i alle 736 prøver. Specificiteten var 100 % (736/736, 95 % CI: 99,6-100 %).

Tabel 13: Præstation i HCV-negative, kliniske plasma- og serumprøver

	Friskt plasma	Frossent plasma	Plasma I alt	Friskt Serum	Frossent serum	Serum I alt	Kombineret
Gyldige replikater (n)	100	270	370	98	268	366	736
Ikke detekteret	100	270	370	98	268	366	736
Specificitet (95 % 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=confidence interval (konfidensinterval)

Analytisk specificitet

Potentiel krydsreaktivitet over for patogener, som vises i Tabel 14, blev evalueret i HCV negativt humant plasma ved tilstedeværelse eller fravær af omtrent 15 IU/mL (1,2 $\log_{10}$ IU/mL) og 1995 (3,3 $\log_{10}$ IU/mL) HCV. Der blev ikke iagttaget krydsreaktivitet. Der blev ikke iagttaget interferens ved tilstedeværelse af patogenerne.

Tabel 14: Patogener testet for analytisk specificitet

Patogen	Koncentration	
Hepatitis A virus	100.000	copies/mL
Hepatitis B virus (HBV)	100.000	IU/mL[a]
Hepatitis G virus	1.470	genom/mL
HIV-1	100.000	copies/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
Humant herpes virus 6B	100.000	copies/mL
Human herpes virus 8	2.667	TCID50 U/mL[c]
Human T-celle lymfotrofisk virus-type 1 (HTLV-1)	100.000	vp/mL[d]
Human T-celle lymfotrofisk virus-type 2 (HTLV-2)	100.000	vp/mL
Parvovirus B19	100.000	IU/mL
Vestnilvirus	100.000	PFU/mL
Denguevirus 1	100.000	PFU/mL
Denguevirus 2	100.000	PFU/mL
Denguevirus 3	100.000	PFU/mL
Denguevirus 4	100.000	PFU/mL
Cytomegalovirus	100.000	PFU/mL
Epstein-Barr virus	100.000	copies/mL
Rubella virus	100.000	PFU/mL
Human papillomavirus	100.000	celler/mL
Adenovirus type 5	100.000	TCID50 U/mL
Influenza A virus	100.000	TCID50 U/mL
Japansk encephalitis-virus	NA	NA
St. Louis encephalitis virus	NA	NA
Murray Valley encephalitis virus	2.643	LD50/mL[e]
Gul feber-virus	100.000	celler/mL

Patogen	Koncentration	
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	celler/mL

[a]IU/mL = Internationale enheder pr. mL.
[b]PFU/mL = Plaque Forming Units (Plakdannende enheder) pr. mL.
[c]TCID50 U/mlL= Infektiøse enheder i vævskultur pr. mL
[d]vp/mL = Viruspartikler pr. mL.
[e]LD50/mL = Letaldosis pr. ml
[f]CFU/mL = Colony Forming Units (Kolonidannende enheder) pr. mL.
[g]IFU/mL = Inclusion Forming Units (Inklusionsdannende enheder) pr. mL.

Kliniske prøver bestående af andre vira end HCV

De viste patogener i Tabel 15 blev evalueret ved at opnå individuelle naturligt inficerede kliniske prøver. Disse blev testet ved tilstedeværelse eller fravær af ca. 15 IU/mL (1,2 log_{10} IU/mL) eller 1995 IU/mL(3,3 log_{10} IU/mL) HCV-virus Der blev ikke iagttaget krydsreaktivitet. Der blev ikke iagttaget interferens.

Tabel 15: Kliniske prøver testet for analytisk specificitet

Mikroorganisme	Matrix	N (donorer)
HBV	Serum	5
HBV	Plasma	5
Denguevirus	Plasma	10
Hepatitis A virus	Plasma	10
HTLV-1	Plasma	10
HTLV-2	Plasma	10
HIV-1	Plasma	10
Vestnilvirus	Plasma	10

Matrixækvivalens

Et hundrede seksoghalvfjerds prøvesæt af matchede blodprøvetagningsrør (serumrør, SST, PPT, ACD, K2 EDTA, K3 EDTA) blev vurderet for matrixækvivalens. Af disse prøvesæt var 68 naturligt inficerede HCV-positive, og 108 var HCV-negative. Seksogtyve af de 68 positive blev yderligere fortyndet med 13 negative prøver fra matchende blodprøvetagningsrør i forholdet 1:10, 1:100 og 1:1000 eller 1:100, 1:10.000 og 1:100.000, med koncentrationer på tværs af assayets dynamiske område (146 positive replikater pr. prøvetagningsrør). Korrelationen blev målt ved at bruge prøvetagningsrøret til serum som komparator

Tabel 16: Undersøgelse af matrixækvivalens

Blodprøvetagningsrør	Demings regression	95 % af hældning		95 % af skæringspunkt		R^2	Middeldifferens (log_{10})
		Nedre Begrænsning	Øvre grænse	Nedre grænse	Øvre Begrænsning		
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

Fortynding af prøve ved brug af Aptima prøvefortynder (1:3)

For at vurdere detektionsnøjagtigheden af HCV-RNA i prøver fortyndet med Aptima prøvefortynderplasma eller -serum, blev prøver fra 1,67 log_{10} IU/mL til 6,34 log_{10} IU/mL fortyndet 1:3 med Aptima prøvefortynder (240 µL prøve kombineret med 480 µL Aptima prøvefortynder). Hver prøve blev testet ufortyndet og fortyndet (1:3) i triplikat. Testning blev udført ved brug af ét lot af assayreagenser på ét Panther system med to lot af Aptima prøvefortynder. Forskellen mellem de ufortyndede og fortyndede testresultater blev beregnet for hvert prøvesæt, som vist i Tabel 17 for plasma og Tabel 18 for serum.

Tabel 17: Plasmaprøve 1:3 fortyndingsmatrix – sammenligningsoversigt af Log_{10} IU/mL

Plasmamatrix Gennemsnitlig rapporteret koncentration (log_{10} IU/mL) n = 3	Fortynder Gennemsnitlig rapporteret koncentration (log_{10} IU/mL) n = 6	Forskel Fortynder fra plasmamatrix (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]Resultat fra to replikater. Ét resultat er "Detekteret", men ikke kvantificeret.
[b]Resultat fra fire replikater. To resultater er "Detekteret", men ikke kvantificeret.

Tabel 18: Serumprøve 1:3 fortyndingsmatrix – sammenligningsoversigt af Log_{10} IU/mL

Serummatrix Gennemsnitlig rapporteret koncentration (log_{10} IU/mL) n = 3	Fortynder Gennemsnitlig rapporteret koncentration (log_{10} IU/mL) n = 6	Forskel Fortynder fra serummatrix (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]Resultat fra to replikater. Ét resultat er "Detekteret", men ikke kvantificeret.

Fortynding af prøve ved brug af Aptima prøvefortynder (1:100)

For at vurdere detektionsnøjagtigheden af HCV-RNA i prøver fortyndet med Aptima prøvefortynderplasma eller -serum, blev fem naturligt inficerede plasmaprøver og fem naturligt inficerede serumprøver sammen med ti prøver, hver af HCV-negativt plasma og serum tilsat med HCV-aRNA-targeting over ULoQ, 8 log_{10} IU/mL ved 8,30 log_{10} IU/mL, testet i triplikat. Der blev udført en 1:100 fortynding med én delprøve og 99 dele Aptima prøvefortynder lige før testning. Testning blev udført ved brug af ét lot af assayreagenser på ét Panther system med to lot af Aptima prøvefortynder. Forskellen mellem de ufortyndede og fortyndede testresultater blev beregnet for hvert prøvesæt, som vist i Tabel 19 for plasma og Tabel 20 for serum.

Tabel 19: Plasmaprøve 1:100 fortyndingsmatrix sammenligningsoversigt af Log_{10} IU/mL

Matrix	Fortynding	Plasmamatrix Gennemsnitlig rapporteret koncentration (log_{10} IU/mL) n = 3	Fortynder Gennemsnitlig rapporteret koncentration (log_{10} IU/mL) n = 6	Forskel
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]Prøve med tilsætning

Tabel 20: Serumprøve 1:100 fortyndingsmatrix – sammenligningsoversigt af Log_{10} IU/mL

Matrix	Fortynding	Serummatrix Gennemsnitlig rapporteret koncentration (log_{10} IU/mL) n = 3	Fortynder Gennemsnitlig rapporteret koncentration (log_{10} IU/mL) n = 6	Forskel
Serum	1:100	8,04[a]	7,94	-0,09
		8,07[a]	7,91	-0,16
		7,99[a]	7,91	-0,08
		8,03[a]	7,92	-0,11
		7,99[a]	7,89	-0,09
		8,05[a]	7,85	-0,20
		8,16[a]	7,93	-0,23
		8,16[a]	7,90	-0,26
		8,06[a]	7,89	-0,17
		8,26[a]	7,92	-0,34
		7,34	7,09	-0,25
		7,07	6,83	-0,24
		7,18	6,80	-0,38
		7,35[b]	7,12	-0,23
		7,07	6,68	-0,39

[a]Prøve med tilsætning

[b]Resultat fra to ud af tre testede replikater. Ét afvigende replikat er fjernet.

Bekræftelse af LLoQ i kliniske prøver fortyndet i prøvefortynder

LLoQ af Aptima HCV Quant assayet blev bekræftet med HCV-genotype 1 kliniske prøver fortyndet i Aptima prøvefortynder. Prøver blev klargjort i HCV negativt humant plasma og serum ved 21, 30 og 45 IU/mL. Hvert panel blev fortyndet 1:3 i Aptima prøvefortynder lige før testning for at give slutkoncentrationer på ca. 7, 10 og 15 IU/mL. Seksogtredive (36) replikater af hvert panelmedlem blev testet med ét reagenslot over tre dage. En LLoQ ≤10 IU/mL for HCV plasma og serum fortyndet i Aptima prøvefortynder blev bekræftet, som vist i Tabel 21.

Tabel 21: Bekræftelse af LLoQ – kliniske prøver i Aptima prøvefortynder

Matrix	Targetkoncentration (IU/mL)	Targetkoncentration (log_{10} IU/mL)	% Detekteret	Aptima HCV Quant Dx (IU/mL)	Aptima HCV Quant Dx (log_{10} IU/mL)	SD (log_{10} IU/mL)	Bias (log_{10} IU/mL)	Beregnet TE (log_{10} IU/mL)	Beregnet TAE (log_{10} IU/mL)
Plasma	7	0,85	100 %	9	0,94	0,25	0,10	0,71	0,60
Serum	7	0,85	100 %	9	0,96	0,21	0,12	0,60	0,54

Præcision af fortyndede prøver

Aptima HCV Quant Dx-præcisionspanelet blev etableret ved at fortynde HCV-positivt klinisk plasma og HCV-aRNA til HCV-negativt klinisk plasma. Disse blev yderligere fortyndet i Aptima prøvefortynder. Positive paneler blev fortyndet i Aptima prøvefortynder. Disse blev testet i tre replikater pr. kørsel af en operatør ved brug af et pilotlot af reagenser på et Panther system over 21 testdage, to kørsler om dagen.

Tabel 22 viser præcisionen af assayresultaterne (i $\log_{10}$ IU/mL) mellem kørsler, inden for kørsler, mellem dage og i alt. Samlet variabilitet var ≤0,15 på tværs af alle panelmedlemmer, primært pga. variabilitet inden for samme kørsel (dvs. tilfældig fejl).

Tabel 22: Præcision af paneler fortyndet i Aptima prøvefortynder

Fortynding	N	Middelkoncentration ($\log_{10}$ IU/mL)	Standardafvigelse			
			Mellem dage	Mellem kørsler	Inden for en kørsel	I alt
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]Antallet af ugyldige resultater inden for assayets lineære område

Bemærkning: *Variabiliteten pga. at visse faktorer kan være numerisk negative, hvilket kan forekomme, hvis variabiliteten pga. disse faktorer er meget lille. Når dette forekommer, vises SD og CV som 0.*

Overførsel

For at fastlægge, at Panther systemet minimerer risikoen for falske positive resultater pga. kontamination fra overførsel, blev der foretaget en undersøgelse med paneler med tilsætninger på tre Panther systemer. Overførsel blev vurderet ved brug af høj titer aRNA-tilsatte plasmaprøver (7 $\log_{10}$ IU/mL) fordelt over HCV negative prøver i et skakbrætmønster. Testningen fandt sted over femten kørsler. Den samlede overførselsrate var 0,14 % (1/704)

Serokonversionspanel

Elleve sæt HCV-serokonversionspaneler, bestående af i alt 72 prøver, blev testet. Aptima HCV Quant Dx assay-resultater blev sammenlignet med resultaterne for HCV-antistoftest. Antallet af dage til det første reaktive resultat vises i Tabel 23. Aptima HCV Quant Dx assayet detekterede tilstedeværelse af HCV i gennemsnit 20 dage før antistoftestene.

Tabel 23: Oversigt over serokonversionspaneldata

Panel-id	Antal testede panelmedlemmer	Antal reaktive panelmedlemmer			Dage til første reaktive resultat			Forskel i dage til første reaktive resultat (baseret på dato for blodprøve)	
		Aptima HCV Quant Dx	HCV-antistoftest1	HCV-antistoftest2	Aptima HCV Quant Dx	HCV-antistoftest1	HCV-antistoftest2	Dage tidligere end HCV-antistoftest1	Dage tidligere end HCV-antistoftest2
PHV911	4	4	3	3	3[a]	14	14	11	11
PHV913	4	4	0	2	0	9[b]	7	9	7
PH919	7	4	3	3	25	28	28	3	3
PH920	9	9	7	6	0[c]	13	16	13	16
PH921	11	11	9	7	0	7	18	7	18
PH923	6	6	2	2	0	21	21	21	21
PH924	6	6	3	3	0	59	59	59	59
PH925	5	5	1	1	0	27	27	27	27
PH926	5	5	1	0	0	14	14[b]	14	14
6227	7	4	2	2	42	74	74	32	32
6229	8	8	4	3	0	17	20	17	20
I alt	72	66	35	32			Gennemsnitlig	19,36	20,73
							Median	14	18

HCV-antistoftest1 blev udført med Abbott Prism HCV assay.

HCV-antistoftest2 blev udført med Ortho Enhanced SAVE assay med de følgende undtagelser:

Panel 6227 og 6229, som begge blev testet med Ortho ELISA Anti-HCV 3.0 assay

[A] Første blodprøve blev ikke testet på grund af manglende prøve fra fabrikanten.

[B] Alle blodprøver i dette panel var ikke-reaktive for HCV-antistof. Den sidste dag med blodprøver blev brugt som "Dage til første reaktive resultat".

[C] Den anden blodprøve blev ikke testet på grund af manglende prøve fra fabrikanten

Reproducerbarhedsundersøgelse

Reproducerbarhed blev vurderet på Panther systemet på tre eksterne amerikanske laboratorier. To operatører udførte testning i hvert laboratorium. Hver operatør udførte to kørsler pr. dag over tre dage ved brug af tre reagenslot under testningens forløb. Hver kørsel havde 3 replikater af hvert panelmedlem. I alt blev 108 replikater testet for hvert panelmedlem.

Reproducerbarhed blev testet ved brug af panelmedlemmer fremstillet fra HCV-negativt plasma. De positive panelmedlemmer var positive for HCV-genotype 1, genotype 2 eller genotype 3. HCV-RNA-koncentrationer strakte sig over assayets lineære område.

Tabel 24 viser reproducerbarheden og præcisionen af assayresultater for hvert positivt panelmedlem mellem laboratorier, mellem operatører, mellem lot, mellem dage, mellem kørsler, inden for kørsler og i alt - og andelen af replikater med resultater, der er uden for Aptima HCV Quant Dx-assayets rapporterbare område.

Variationskoefficienten blev beregnet ved brug af den følgende ligning, hvor σ^2 er prøvevariansen af dataene efter $\log_{10}$ transformation.

$$\% \text{ CV} = 100 \times \sqrt{(10^{\sigma^2 \ln(10)} - 1)}$$

For det HCV-negative panelmedlem blev 108 replikater testet, og HCV-RNA blev ikke detekteret i alle 108 replikater (negativ overensstemmelse = 100 %, 95 % CI: 96,6 % til 100 %). Overensstemmelsesværdierne var 100 % for alle HCV-positive panelmedlemmer.

Tabel 24: Reproducerbarheden af Aptima HCV Quant Dx Assay HCV-RNA niveauer på Panther System i positive panelmedlemmer

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

% CV=log-normal variationskoefficient, GT=genotype , SD=standardafvigelse (log_{10} IU/mL)

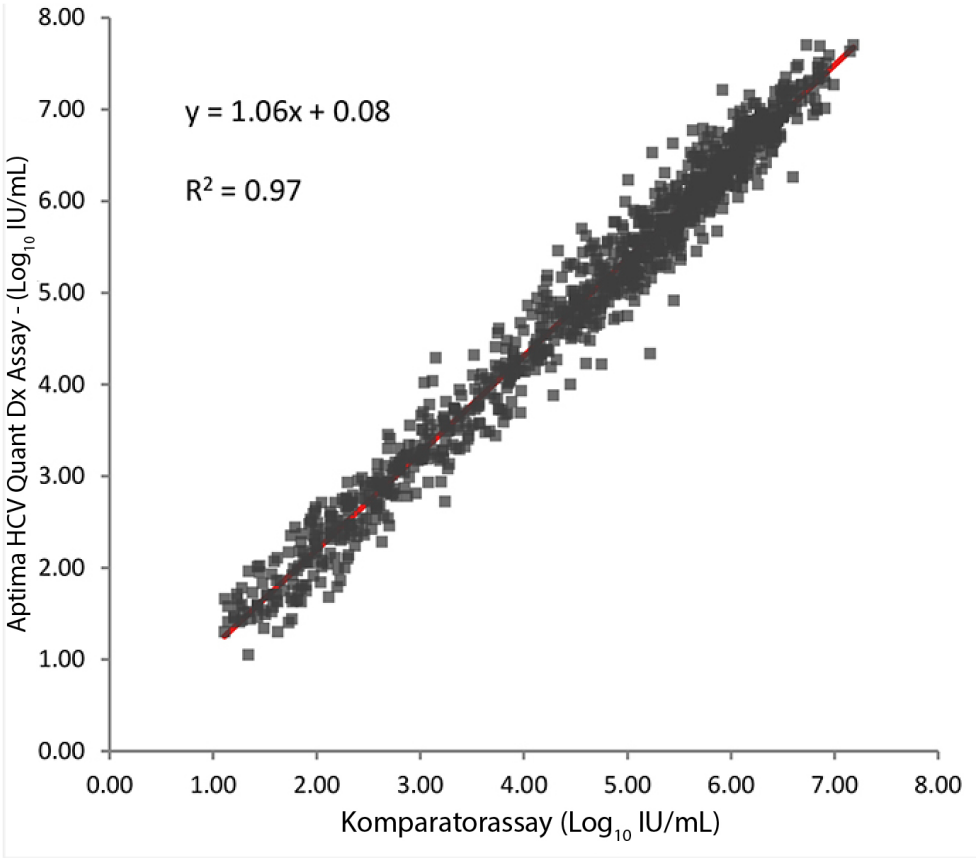
Bemærkning: Variabilitet pga., at visse faktorer kan være numerisk negativ. Dette kan forekomme, hvis variabiliteten pga. disse faktorer er meget lille. I disse tilfælde vises SD og CV som 0.

[a] Mellem operatører kan blive forvekslet med Mellem dage. Derfor kombineres estimater for Mellem operatører og Mellem dage i Mellem operatører/dage.

Klinisk præstation

Korrelation mellem metoder

Præstationen af Aptima HCV Quant Dx assay blev evalueret i forhold til et CE-mærket komparatorassay ved at teste ufortyndede kliniske plasmaprøver fra HCV-inficerede patienter på tre Panther systemer med fire reagenslot. I alt blev 1058 plasma- og serumprøver (872 plasma, 186 serum) på tværs af alle HCV-genotyper inden for det lineære område, fælles for begge assays, brugt til lineær regression, som vist i Figur 10.



Figur 10. Korrelation mellem Aptima HCV Quant Dx Assay og komparatorassay

Undersøgelse af klinisk anvendelighed

Undersøgelsen blev designet til at påvise klinisk anvendelighed ved at estimere præstationskarakteristika for opnåelse af vedvarende virologisk respons (SVR) eller ikke-vedvarende virologisk respons (NSVR) på etablerede klinisk relevante tidspunkter i løbet af 8-, 12- eller 24-ugers antiviral behandling. Undersøgelsen vurderede også virkningen af kovariater (dvs. alder, køn, race, baseline HCV-RNA-niveau, tilstedeværelse eller fravær af cirrose) på SVR-respons.

Prøver blev indsamlet prospektivt fra genotype 1-, 2- og 3-personer, der var kronisk inficeret med HCV, og som påbegyndte behandling med 8-, 12- eller 24-ugers sofosbuvir-baserede behandlinger ved anvendelse af FDA-godkendte lægemidler ordineret i overensstemmelse med FDA-godkendt mærkning og/eller AASLD/IDSA HCV-behandlingsretningslinjer.[20,21] HCV-behandlingsnaive eller behandlingserfarne personer og personer uden cirrose eller med kompenseret cirrose var kvalificerede, afhængigt af hvad der var relevant for det individuelle behandlingsregime.

Påvisningen af HCV-RNA viral load blev udført ved baseline, uge 1, uge 2, uge 4, uge 8, uge 12 og uge 24 ved anvendelse af Aptima HCV Quant Dx assay. Opfølgningsresultaterne ved behandlingens afslutning (EOT - End Of Treatment) og ved uge 4 og uge 12 efter behandlingen blev bestemt ved anvendelse af Aptima HCV Quant Dx assayet og to godkendte kvantitative HCV-RNA-assays. SVR blev defineret som et HCV-RNA-niveau < LLoQ, som fastsat af et godkendt kvantitativt assay for prøven fra uge 12 efter behandlingen.

Ud af de 352 forsøgspersoner, der blev inkluderet fra 35 kliniske laboratorier i USA, havde 274 forsøgspersoner en konklusiv SVR-status og var evaluerbare til analyse. 56 forsøgspersoner havde ikke-evaluerbar SVR-status og blev ikke inkluderet i analysen. Yderligere 22 forsøgspersoner havde konklusiv SVR-status, men var ikke evaluerbare på grund af manglende præ-behandlings-/baselineresultater, eller at alle resultater under behandlingen var <LLoQ eller ikke-detekterede, eller at genotyper ikke var blevet bestemt med et godkendt assay. I denne undersøgelse opnåede 90,5 % (248/274) SVR, og 9,5 % (26/274) opnåede NSVR (se Tabel 31 til Tabel 33 for tal efter genotype og DRA). Den højeste virale load ved baseline var 7,58 $\log_{10}$ IU/mL, som bestemt af Aptima HCV Quant Dx assay. Alle evaluerbare forsøgspersoner gennemførte behandlingen uden behandlingssvigt (f.eks. ikke-respons). I alt 2449 prøver, indsamlet på forskellige tidspunkter fra hver forsøgsperson, blev testet på tre amerikanske testlaboratorier.

Tabel 25 viser forsøgspersonernes demografiske og kliniske karakteristika for de 274 evaluerbare forsøgspersoner.

Tabel 25: Demografi og kliniske karakteristika

Karakteristika		
I alt	N	274
Køn	Kvinde, n (%)	112 (40,9)
	Mand, n (%)	162 (59,1)
Alder (år)	n	274
	Gennemsnitlig	55,1
	Median	56,0
	SD	10,40
	Minimum	23
	Maksimum	83
	21-49, n (%)	61 (22,3)
	50-70, n (%)	203 (74,1)
	>70, n (%)	10 (3,6)
Etnicitet	n	274
	Af latinamerikansk oprindelse eller latinamerikansk amerikaner, n (%)	65 (23,7)
	Ikke af latinamerikansk oprindelse eller latinamerikansk amerikaner, n (%)	202 (73,7)
	Ukendt, n (%)	6 (2,2)
	Afvist, n (%)	1 (0,4)
Race[a]	n	274
	Hvid, n (%)	223 (81,4)
	Sort eller afrikansk-amerikaner, n (%)	43 (15,7)
	Asiatisk, n (%)	1 (0,4)
	Amerikansk indianer/indfødt fra Alaska, n (%)	3 (1,1)
	Indfødt hawaiianer/Person fra stillehavsø, n (%)	0 (0,0)
	Andet, n (%)	3 (1,1)
	Ukendt, n (%)	1 (0,4)
	Afvist, n (%)	0 (0,0)
Genotype	n	274
	Genotype 1, n (%)	158 (57,7)
	Genotype 2, n (%)	66 (24,1)
	Genotype 3, n (%)	50 (18,2)
HCV behandlingsstatus	n	274
	Naiv, n (%)	232 (84,7)
	Erfaren, n (%)	42 (15,3)
	Med tilbagefald, n (%)	32 (76,2)
	Null responder, n (%)	1 (2,4)
	Non-responder, n (%)	2 (4,8)
	Delvis responder, n (%)	3 (7,1)
	Gennembrud, n (%)	1 (2,4)
	Rebound, n (%)	0 (0,0)
	Behandlingsrespons ukendt, n (%)_	3 (7,1)
	Manglende, n (%)	0 (0,0)
Cirrotisk status	n	274
	Cirrotisk, n (%)	98 (35,8)
	Ikke-cirrotisk, n (%)	176 (64,2)

[a] Forsøgspersoner kan rapportere flere racer

Tabel 26 viser det endelige tildelingsregime for lægemidler for de 274 evaluerbare forsøgspersoner.

Tabel 26: Oversigt over forsøgspersonernes endelige tildelingsregimen for lægemiddel efter genotype

Tildelingsregimen for lægemiddel	HCV-genotype n (%)		
	1	2	3
Sofosbuvir og Peginterferon og Ribavirin i 12 uger	25 (15,8)	-	3 (6,0)
Sofosbuvir og simeprevir og/eller ribavirin i 12 uger	63 (39,9)	-	-
Sofosbuvir og simeprevir og/eller ribavirin i 24 uger	4 (2,5)	-	-
Sofosbuvir og Ribavirin i 12 uger	-	66 (100)	-
Sofosbuvir og Ribavirin i 24 uger	6 (3,8)	-	47 (94,0)
Ledipasvir og Sofosbuvir i 8 uger	14 (8,9)	-	-
Ledipasvir og Sofosbuvir i 12 uger	39 (24,7)	-	-
Ledipasvir og Sofosbuvir i 24 uger	7 (4,4)	-	-
Kvalificerede forsøgspersoner i alt	158	66	50

Tabel 27 evaluerer sammenhængen mellem baseline-kovariater (alder, race, køn, baseline HCV viral load [binær variabel] og cirrotisk status) og SVR ved anvendelse af oddsratio (OR) med univariat (ikke-justeret) logistisk regressionsanalyse. Resultaterne for de 274 evaluerbare forsøgspersoner blev evalueret efter HCV-genotype. For genotype 1 og 2 havde cirrotiske forsøgspersoner mindre sandsynlighed for at opnå SVR end ikke-cirrhotiske forsøgspersoner (OR = 0,16 [95 % Wald CI: 0,04 til 0,63], P=0,009 og OR=0,13 [95 % Wald CI: 0,02 til 0,70], P=0,017, henholdsvis). 95 %-CI-værdierne for andre kovariater for genotype 1 og 2, og alle kovariater for genotype 3, inkluderede værdien 1 og var ikke statistisk signifikante.

Tabel 27: Evaluering af baseline-prædikatorer for SVR ved baseline

GT	Kategori	N	Grupper	N (%)	Procentdel, der opnår SVR	Oddsratio (Wald 95 % CI) ved brug af univariat LR-analyse	P-værdi
1	Alder	158	≥ 40 år	146 (92,4)	91,8	0 [0 – ∞)	Kan ikke beregnes
			< 40 år	12 (7,6)	100		
	Køn	158	Mand	92 (58,2)	90,2	0,44 (0,11 - 1,69)	0,231
			Kvinde	66 (41,8)	95,5		
	Race	158	Hvid	116 (73,4)	94,0	2,10 (0,63 - 7,03)	0,227
			Ikke-hvid	42 (26,6)	88,1		
	HCV-RNA-baseline viral load[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		
	Cirrotisk status	158	Cirrotisk	57 (36,1)	84,2	0,16 (0,04 - 0,63)	0,009
			Ikke-cirrotisk	101 (63,9)	97,0		
2	Alder	66	≥ 40 år	60 (90,9)	88,3	1,51 (0,15 - 14,91)	0,722
			< 40 år	6 (9,1)	83,3		
	Køn	66	Mand	36 (54,5)	86,1	0,69 (0,15 - 3,15)	0,631
			Kvinde	30 (45,5)	90,0		
	Race	66	Hvid	61 (92,4)	86,9	0 [0 – ∞)	Kan ikke beregnes
			Ikke-hvid	5 (7,6)	100		
	HCV-RNA-baseline viral load	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		
	Cirrotisk status	66	Cirrotisk	22 (33,3)	72,7	0,13 (0,02 - 0,70)	0,017
			Ikke-cirrotisk	44 (66,7)	95,5		
3	Alder	50	≥ 40 år	44 (88,0)	86,4	0 [0 – ∞)	NC
			< 40 år	6 (12,0)	100		
	Køn	50	Mand	34 (68,0)	85,3	0,39 (0,04 - 3,62)	0,405
			Kvinde	16 (32,0)	93,8		
	Race	50	Hvid	46 (92,0)	87,0	0 [0 – ∞)	Kan ikke beregnes
			Ikke-hvid	4 (8,0)	100		
	HCV-RNA-baseline viral load[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		
	Cirrotisk status	50	Cirrotisk	19 (38,0)	78,9	0,26 (0,04 - 1,58)	0,143
			Ikke-cirrotisk	31 (62,0)	93,5		

CI=konfidensinterval, GT=genotype, LR=logistisk regression

[a]Kovariaten HCV-RNA baseline viral load inkluderer ikke forsøgspersoner, der ikke leverede en kvantitativ HCV-RNA viral load før påbegyndelse af behandlingen.

Respons på antiviral behandling

Assayets præstationskarakteristika er blevet fastlagt for personer, der behandles med visse DAA-regimer. Der er ingen oplysninger tilgængelige om assayets prædiktive værdi, når der anvendes andre DAA-kombinationsbehandlinger.

Definitioner:

Uge 1 viral load (VL) = HCV-RNA < LLoQ = 10 IU/mL i uge 1 af den antivirale behandling.

Uge 2 VL = HCV-RNA < LLoQ = 10 IU/mL i uge 2 af den antivirale behandling.

Uge 4 VL = HCV-RNA < LLoQ = 10 IU/mL i uge 4 af den antivirale behandling.

Uge 8 VL = HCV-RNA < LLoQ = 10 IU/mL i uge 8 af den antivirale behandling.

Uge 8 VL (EOT): HCV-RNA < LLoQ i uge 8 af den antivirale behandling.

Uge 12 VL = HCV-RNA < LLoQ = 10 IU/mL i uge 12 af den antivirale behandling.

Uge 12 VL (EOT): HCV-RNA < LLoQ i uge 12 af den antivirale behandling.

Uge 24 VL (EOT): HCV-RNA < LLoQ i uge 24 af den antivirale behandling.

Vedvarende virologisk respons (SVR)12: HCV-RNA < <LLoQ i uge 12 efter afslutning af antiviral behandling, målt med en uafhængig HCV-RNA-test.

Tabel 28 og Tabel 29 viser hyppigheden af henholdsvis SVR-respons og ikke-respons efter genotype og samlet lægemiddelregime og for cirrotiske, ikke-cirrotiske, behandlingsnaive og behandlingserfarne forsøgspersoner. De fleste forsøgspersoner opnåede SVR på tværs af genotyper: 92,4 % genotype 1, 87,9 % genotype 2 og 88,0 % genotype 3. På tværs af genotyper var SVR-hyppigheden generelt højere hos ikke-cirrotiske forsøgspersoner end hos cirrotiske forsøgspersoner og på samme niveau for behandlingsnaive og behandlingserfarne forsøgspersoner.

Tabel 28: Hyppighed af SVR-respons efter genotype og lægemiddelregime

GT	DRA	SVR-responderende forsøgspersoner n (%)				
		Samlet	Cirrotisk	Ikke-cirrotisk	Behandlingsnaive	Behandlingserfarne
1	Ledipasvir og Sofosbuvir i 8 uger	13/14 (92,9)	I/R	13/14 (92,9)	13/14 (92,9)	I/R
	Ledipasvir og Sofosbuvir i 12 uger	39/39 (100)	9/9 (100)	30/30 (100)	34/34 (100)	5/5 (100)
	Ledipasvir og Sofosbuvir i 24 uger	6/7 (85,7)	6/7 (85,7)	I/R	I/R	6/7 (85,7)
	Sofosbuvir og Peginterferon og Ribavirin i 12 uger	24/25 96,0)	7/7 (100)	17/18 (94,4)	22/23 (95,7)	2/2 (100)
	Sofosbuvir og Ribavirin i 24 uger	6/6 (100)	1/1 (100)	5/5 (100)	5/5 (100)	1/1 (100)
	Sofosbuvir og simeprevir og/eller ribavirin i 12 uger	54/63 (85,7)	21/29 (72,4)	33/34 (97,1)	45/54 (83,3)	9/9 (100)
	Sofosbuvir og simeprevir og/eller ribavirin i 24 uger	4/4 (100)	4/4 (100)	I/R	2/2 (100)	2/2 (100)
2	Sofosbuvir og Ribavirin i 12 uger	58/66 (87,9)	16/22 (72,7)	42/44 (95,5)	53/60 (88,3)	5/6 (83,3)
3	Sofosbuvir og Peginterferon og Ribavirin i 12 uger	3/3 (100)	3/3 (100)	I/R	1/1 (100)	2/2 (100)
	Sofosbuvir og Ribavirin i 24 uger	41/47 (87,2)	12/16 (75,0)	29/31 (93,5)	35/39 (89,7)	6/8 (75,0)

DRA=lægemiddelregime, GT=genotype, N/A=lægemiddelregime er ikke relevant for denne patientgruppe

Tabel 29: Hyppighed af SVR ikke-respons efter genotype og lægemiddelregime

GT	DRA	SVR ikke-responderende forsøgspersoner n (%)				
		Samlet	**Cirrotisk**	**Ikke-cirrotisk**	**Behandlingsnaive**	**Behandlingserfarne**
1	Ledipasvir og Sofosbuvir i 8 uger	1/14 (7,1)	I/R	1/14 (7,1)	1/14 (7,1)	I/R
	Ledipasvir og Sofosbuvir i 12 uger	0/39 (0,0)	0/9 (0,0)	0/30 (0,0)	0/34 (0,0)	0/5 (0,0)
	Ledipasvir og Sofosbuvir i 24 uger	1/7 (14,3)	1/7 (14,3)	I/R	I/R	1/7 (14,3)
	Sofosbuvir og Peginterferon og Ribavirin i 12 uger	1/25 (4,0)	0/7 (0,0)	1/18 (5,6)	1/23 (4,3)	0/2 (0,0)
	Sofosbuvir og Ribavirin i 24 uger	0/6 (0,0)	0/1 (0,0)	0/5 (0,0)	0/5 (0,0)	0/1 (0,0)
	Sofosbuvir og simeprevir og/eller ribavirin i 12 uger	9/63 (14,3)	8/29 (27,6)	1/34 (2,9)	9/54 (16,7)	0/9 (0,0)
	Sofosbuvir og simeprevir og/eller ribavirin i 24 uger	0/4 (0,0)	0/4 (0,0)	I/R	0/2 (0,0)	0/2 (0,0)
2	Sofosbuvir og Ribavirin i 12 uger	8/66 (12,1)	6/22 (27,3)	2/44 (4,5)	7/60 (11,7)	1/6 (16,7)
3	Sofosbuvir og Peginterferon og Ribavirin i 12 uger	0/3 (0,0)	0/3 (0,0)	I/R	0/1 (0,0)	0/2 (0,0)
	Sofosbuvir og Ribavirin i 24 uger	6/47 (12,8)	4/16 (25,0)	2/31 (6,5)	4/39 (10,3)	2/8 (25,0)

DRA=tildeling af lægemiddelregime, GT=genotype, N/A=lægemiddelregime er ikke relevant for denne patientgruppe

Tabel 30 viser procentdelen af forsøgspersoner med virologisk respons (defineret som Aptima HCV Quant Dx-assayresultater < LLoQ) for hver genotype og lægemiddelbehandling ved hvert ugentligt besøg under behandling og efter behandling. Størstedelen af forsøgspersonerne opnåede SVR inden uge 4 på tværs af genotyperne, og alle forsøgspersoner havde opnået SVR ved uge 8.

Tabel 30: Sandsynligheden for at opnå SVR på tværs af uger - under og efter behandling

GT	DRA	N	SVR Responderende % (n)	SVR ikke-responderende % (n)	Procentdel af forsøgspersoner med virologisk respons efter besøg[a] n (%)						
					Uger					EOT	PT04
					1	2	4	8	12		
1	LDV+SOF (8 uger)	14	92,9 (13/14)	7,1 (1/14)	42,9 (6/14)	76,9 (10/13)	100 (14/14)	I/R	I/R	100 (14/14)	90 (9/10)
	LDV+SOF (12 uger)	39	100 (39/39)	0,0 (0/39)	11,1 (4/36)	52,6% (20/38)	92,1 (35/38)	100 (36/36)	I/R	100 (39/39)	100 (33/33)
	LDV+SOF (24 uger)	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 uger)	25	96,0 (24/25)	4,0 (1/25)	40,0 (10/25)	80,0 (20/25)	100 (25/25)	100 (25/25)	I/R	100 (25/25)	100 (25/25)
	SOF+RBV (24 uger)	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 uger)	63	85,7 (54/63)	14,3 (9/63)	20,7 (12/58)	67,9 (38/56)	98,4 (62/63)	100 (57/57)	I/R	96,6 (57/59)	90,0 (54/60)
	SOF+SIM+RBV (24 uger)	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 uger)	66	87,9 (58/66)	12,1 (8/66)	22,2 (12/54)	69,4 (43/62)	95,4 (62/65)	100 (64/64)	I/R	98,5 (64/65)	93,5 (58/62)
3	SOF+PEG+RBV (12 uger)	3	100 (3/3)	0,0 (0/3)	33,3 (1/3)	100 (2/2)	100 (3/3)	100 (2/2)	I/R	100 (3/3)	100 (3/3)
	SOF+RBV (24 uger)	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= tildeling af lægemiddelregime, EOT=afslutning af behandling, N/A=ikke relevant, fordi besøget svarer til EOT for en given behandling eller ligger uden for behandlingsvinduet, PT04=uge 4 efter behandling

[a]Virusrespons under behandling og efter behandling defineret som <10 IU/mL.

Bemærkning: EOT er ikke inkluderet i behandlingsugen

For forsøgspersoner med genotype 1 havde 95,5 % (150/157) af de evaluerede forsøgspersoner virusrespons på behandlingen ved uge 4. De 7 personer med genotype 1, som ikke havde respons i uge 4 (3 forsøgspersoner behandlet med LDV+SOF [12 uger], 2 forsøgspersoner behandlet med LDV+SOF [24 uger], 1 forsøgsperson hver behandlet med SOF + RBV [24 uger] eller SOF + SIM ± RBV [12 uger]), havde virusrespons på behandlingen ved uge 8. To (2) forsøgspersoner behandlet med SOF+SIM ± RBV (12 uger) havde fået tilbagefald ved afslutningen af behandlingen, og 6 (1 forsøgsperson behandlet med LDF + SOF [8 uger], 1 forsøgsperson behandlet med LDF+SOF [24 uger] og 4 forsøgspersoner behandlet med SOF+SIM ± RBV [12 uger]) havde fået tilbagefald ved uge 4 efter behandlingen.

For forsøgspersoner med genotype 2 havde 95,4 % (62/65) af de evaluerede forsøgspersoner virusrespons på behandlingen ved uge 4. De 3 forsøgspersoner med genotype 2, som ikke havde respons ved uge 4, havde virusrespons ved uge 8. Én (1) forsøgsperson behandlet med SOF+RBV (12 uger) havde fået tilbagefald ved afslutningen af behandlingen, og 4 forsøgspersoner med samme lægemiddelregime havde fået tilbagefald ved uge 4 efter behandlingen.

For forsøgspersoner med genotype 3 havde 100 % (49/49) af de evaluerede forsøgspersoner virusrespons på behandlingen ved uge 4. Ingen (0) forsøgspersoner havde fået tilbagefald

ved afslutningen af behandlingen, og 5 forsøgspersoner behandlet med SOF+RBV (24 uger) havde fået tilbagefald ved uge 4 efter behandlingen.

Baseret på resultaterne af denne undersøgelse kan Aptima HCV Quant Dx assay bruges som assistance til håndtering af HCV-inficerede patienter, der gennemgår antiviral sofosbuvir-baseret behandling, og kan bruges til at fastslå SVR-respons og ikke-respons. Resultaterne fra assayet kan bruges til kvantitativt at måle HCV-RNA-niveauer i humant plasma ved baseline og under behandling.

Undersøgelse af diagnostisk anvendelighed

Sensitiviteten blev evalueret hos 338 forsøgspersoner fra en højrisikopopulation, der var positive for HCV-antistof. Tabel 31 viser forsøgspersonernes demografiske og kliniske karakteristika.

Tabel 31: Demografiske og kliniske karakteristika hos forsøgspersoner, der er positive for HCV-antistof

Karakteristika		
I alt	*N*	338
Køn	Kvinde, n (%)	80 (23,7)
	Mand, n (%)	258 (76,3)
Alder (år)	Gennemsnitlig	48,2
	Median	51,0
	SD	11,01
	<21, n (%)	2 (0,6)
	21-49, n (%)	152 (45,0)
	50-70, n (%)	182 (53,8)
	>70, n (%)	2 (0,6)
Race/etnicitet[a]	Hvid, n (%)	86 (25,4)
	Sort, n (%)	118 (34,9)
	Asiatisk, n (%)	1 (0,3)
	Af latinamerikansk oprindelse, n (%)	123 (36,4)
	Blandet etnicitet, n (%)	4 (1,2)
	Andet, n (%)	10 (3,0)
	Ukendt, n (%)	0 (0,0)
Risikofaktorer[b]	Brug af stoffer ved injektion, n (%)	294 (87,0)
	Modtagere af koagulationsfaktorer fremstillet før 1990, n (%)	0 (0,0)
	Diagnosticeret/behandlet for hepatitis, n (%)	172 (50,9)
	Diagnosticeret/behandlet for HIV, n (%)	13 (3,8)
	Historie med inkarceration, n (%)	311 (92,0)
	Modtaget transfusion af blod eller blodkomponenter, n (%)	39 (11,5)
	Modtaget en transplantation, n (%)	0 (0,0)
	Hæmodialyse, n (%)	3 (0,9)
	Vedvarende forhøjede ALT-niveauer, n (%)	2 (0,6)
	Født mellem 1945 og 1965, n (%)	192 (56,8)
HCV-infektionsstatus	HCV-RNA-positiv, n (%)	259 (76,6)
	HCV-RNA-negativ, n (%)	79 (23,4)

ALT = alaninaminotransferase, HIV = humant immundefektvirus
[a] Kan rapportere flere racer.
[b] Kan rapportere flere risikofaktorer.

Prøverne blev testet med en godkendt kvalitativ HCV-RNA-test, en godkendt HCV-antistoftest og Aptima HCV Quant Dx assay. Undersøgelsen omfattede 338 forsøgspersoner, der var HCV-antistofreaktive. Ifølge de nuværende AASLD-retningslinjer skal en FDA-godkendt NAAT med et detektionsniveau på 25 IU/mL eller lavere[20] bruges til at bekræfte en positiv HCV-infektionsstatus efter et reaktivt HCV-antistoftestresultat. Overensstemmelsen mellem patientens infektionsstatus og resultaterne for Aptima HCV Quant Dx assay blev fastlagt ved hjælp af en 25 IU/mL cutoff. Prøver med < 25 IU/mL blev betragtet som "ikke detekteret", og prøver med resultater med ≥ 25 IU/mL blev betragtet som "detekteret". Se Tabel 32.

Resultaterne fra Aptima HCV Quant Dx assay blev sammenlignet med en patientinfektionsstatus baseret på godkendte HCV-antistoftestresultater og godkendte kvalitative RNA-testresultater. Patientens infektionsstatus blev betragtet som HCV-positiv, hvis både den godkendte HCV-antistoftest og de godkendte kvalitative testresultater havde reaktive resultater. Patientens infektionsstatus blev betragtet som HCV-negativ, hvis den godkendte HCV-antistoftest havde et ikke-reaktivt resultat.

Af de 338 forsøgspersoner med HCV-antistofreaktive resultater blev 256 detekteret af Aptima HCV Quant Dx assay (% positiv overensstemmelse = 98,8 %). Af de tre forsøgspersoner, der havde HCV-RNA kvantificeret under 25 IU/mL eller ikke detekteret, havde to forsøgspersoner et detekteret, men ikke kvantificeret resultat (HCV-RNA < 10 IU/mL), og én forsøgsperson havde et kvantitativt HCV-RNA-resultat på 12 IU/mL.

Tabel 32: Overensstemmelse mellem resultater fra Aptima HCV Quant Dx Assay og patientens infektionsstatus ved brug af cutoff på 25 IU/mL

Aptima HCV Quant Dx Assayresultat	**Patientinficeret status**		**I alt**
	HCV-positiv	**HCV-negativ**	
HCV-RNA kvantiteret på eller over 25 IU/mL	256	0	256
HCV-RNA kvantiteret eller detekteret under 25 IU/mL eller ikke detekteret	3[a]	79	82
I alt	259	79	338
% positiv overensstemmelse (95 % score CI)	98,8 (96,7-99,6)	I/R	I/R
% negativ overensstemmelse (95 % score CI)	I/R	100 (95,4-100)	I/R

CI = konfidensinterval, N/A = Ikke relevant

[a] Aptima HCV Quant Dx assay detekterede, men kvantificerede ikke HCV-RNA (<10 IU/mL) for to forsøgspersoner, og den tredje forsøgsperson fik kvantificeret HCV-RNA ved 12 IU/mL.

Denne undersøgelse viser den kliniske anvendelighed af Aptima HCV Quant Dx assay til korrekt diagnose af personer med vedvarende aktiv HCV-RNA-infektion og til at skelne dem fra personer med inaktive infektioner i en population med tidligere eksponering for HCV (HCV-antistofpositiv serologi).

Krydsreaktivitet hos forsøgspersoner med ikke-HCV-relateret leversygdom

Der blev indsamlet serum- og plasmaprøver (n= 214) fra personer med andre leversygdomme (hvor aktiv HCV-infektion ikke var angivet som den underliggende årsag). Prøverne blev testet med en godkendt anti-HCV-test og en godkendt kvalitativ HCV-RNA-test for at bekræfte, at prøverne var HCV-negative. Sytten (17) HCV-positive prøver (med anti-HCV-positive resultater og/eller reaktive kvalitative HCV-RNA-testresultater) og tre uegnede prøver blev ekskluderet. Testning med Aptima HCV Quant Dx assay blev udført internt med tre lot fra reagenskits. Tabel 33 viser forsøgspersonernes demografi og status for leversygdom for de 194 evaluerbare forsøgspersoner.

Tabel 33: Forsøgspersoners demografiske karakteristika og status for leversygdom

Karakteristika		Alle
I alt	N	194
Køn	n	193
	Kvinde, n (%)	116 (60,1)
	Mand, n (%)	77 (39,9)
Alder (år)	n	194
	Gennemsnitlig	55,2
	Median	56,0
	SD	12,19
	Minimum	25
	Maksimum	82
	21-49, n (%)	60 (30,9)
	50-70, n (%)	114 (58,8)
	>70, n (%)	20 (10,3)
Etnicitet	n	194
	Af latinamerikansk oprindelse eller latinamerikansk amerikaner, n (%)	9 (4,6)
	Ikke af latinamerikansk oprindelse eller latinamerikansk amerikaner, n (%)	147 (75,8)
	Ukendt, n (%)	38 (19,6)
	Afvist, n (%)	0 (0,0)
Race[a]	n	194
	Hvid, n (%)	122 (62,9)
	Sort eller afrikansk-amerikaner, n (%)	20 (10,3)
	Asiatisk, n (%)	17 (8,8)
	Amerikansk indianer/indfødt fra Alaska, n (%)	0 (0,0)
	Indfødt hawaiianer/Person fra stillehavsø, n (%)	1 (0,5)
	Andet, n (%)	34 (17,5)
	Ukendt, n (%)	2 (1,0)
	Afvist, n (%)	0 (0,0)
Leversygdom[b]	n	194
	Autoimmun hepatitis, n (%)	31 (16,0)
	Alkoholisk leversygdom, n (%)	51 (26,3)
	Kronisk HBV, n (%)	34 (17,5)
	Primær biliær cirrose, n (%)	37 (19,1)
	NASH, n (%)	39 (20,1)
	Flere leversygdomme rapporteret, n (%)	2 (1,0)

HBV = hepatitis B-virus, NASH= Non-alkoholisk steatohepatitis

[a] Forsøgspersoner kunne rapportere flere racer.

[b] Forsøgspersoner med flere leversygdomme rapporterede både autoimmun hepatitis og primær biliær cirrose.

Tabel 34 viser Aptima HCV Quant Dx assayets specificitet efter leversygdom og fordelingen af resultater fra Aptima HCV Quant Dx assay på tværs af kategorier for viral load. Specificiteten var 100 % hos personer med kronisk hepatitis B-virus (HBV), primær biliær cirrose, nonalkoholisk steatohepatitis (NASH) og flere rapporterede leversygdomme. HCV-RNA blev detekteret i meget lave niveauer hos 1 forsøgsperson med autoimmun hepatitis (< 10 IU/mL) og 4 forsøgspersoner med alkoholisk leversygdom (<10 IU/mL for 3 forsøgspersoner og 16 IU/mL for 1 forsøgsperson). Én af de 5 forsøgspersoner havde detekteret HCV-RNA af et godkendt kvantitativt HCV-assay.

Tabel 34: Specificitet af Aptima HCV Quant Dx Assay og distributionsresultater for HCV-antistof- og RNA-negative forsøgspersoner med ikke-HCV-relaterede leversygdomme

Leversygdom	Specificitet (%) 95 % CI[a]	Ikke Påvist	<10 IU/mL	10 til <25 IU/mL	25 til 100.000.000 IU/mL	>100.000.000 IU/mL	I alt
Autoimmun hepatitis	96,8 (83,8-99,4)	30 (96,8)	1 (3,2)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	31
Alkoholisk leversygdom	92,2 (81,5-96,9)	47 (92,2)	3 (5,9)[b]	1 (2,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	51
Kronisk HBV	100 (89,8-100)	34 (100)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	34
Primær biliær cirrose	100 (90,6-100)	37 (100)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	37
NASH	100 (91,0-100)	39 (100)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	39
Flere leversygdomme[c]	100 (34,2-100)	2 (100)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	2
I alt	97,4 (94,1-98,9)	189 (97,4)	4 (2,1)	1 (0,5)	0 (0,0)	0 (0,0)	194

HBV = Hepatitis B-virus, NASH = ikke-alkoholisk steatohepatitis

[a]score CI.

[b]Én forsøgsperson havde detekteret HCV-RNA af et FDA-godkendt kvantitativt HCV-assay.

[c]Forsøgspersonerne havde både autoimmun hepatitis og primær biliær cirrose.

Bibliografi

1. Averhoff FM, Glass N and Holtzman D. Global Burden of Hepatitis C: Considerations for Healthcare Providers in the United States. Clinical Infectious Diseases 2012; 55 (S1): S10-15.
2. 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. Udgivet på hcvguidelines.org, tilgået d. 11. feb. 2016.
13. Simmons, B., Saleem, J., Heath, K., Cooke, G., Hill, A. Long-term treatment outcomes of patients infected with Hepatitis C virus: a systematic review and meta-analysis of the survival benefit of achieving a Sustained Virological Response. Clinical Infectious. 2015 Sep 1;61(5):730-40.
14. **Clinical and Laboratory Standards Institute.** 2005. Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods; Approved Guideline. CLSI Document MM13-A. Wayne, PA.
15. **29 CFR Part 1910.1030.** Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens; 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. Opdateret d. 21. marts 2014. Tilgået d. 1. marts 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.

Kontaktinformation og revisionshistorik



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

For e-mailadresse og telefonnummer til landespecifik Teknisk support og Kundeservice henvises til www.hologic.com/support.

Alvorlige hændelser, der opstår i forbindelse med udstyret i Den Europæiske Union, skal rapporteres til fabrikanten og den kompetente myndighed i den medlemsstat, hvor brugeren og/eller patienten er bosiddende.

Hologic, Aptima, Panther, Panther Fusion og tilhørende logoer er varemærker eller registrerede varemærker, tilhørende Hologic, Inc. og/eller dets datterselskaber i USA og/eller andre lande.

Armored RNA er et varemærke, tilhørende Asuragen, Inc.

Alle andre varemærker, der måtte findes i denne indlægsseddel, tilhører deres respektive ejere.

Dette produkt kan være omfattet af et eller flere amerikanske patenter, der findes på www.hologic.com/patents

©2016-2025 Hologic, Inc. Alle rettigheder forbeholdes.

AW-28216-1901 Rev. 001

2025-12

Revisionshistorik	Dato	Beskrivelse
AW-28216-1901 Rev. 001	December 2025	• Første udgave.