

Aptima® HCV Quant Dx Assay

Instruções de uso
Para uso em diagnóstico *in vitro*
Apenas para exportação aos EUA

Informações gerais	2
Uso pretendido	2
Resumo e explicação do teste	2
Princípios do procedimento	3
Resumo de segurança e desempenho	4
Advertências e precauções	4
Requisitos de armazenamento e manuseio de reagentes	8
Coleta e armazenamento de amostras biológicas	9
Amostras no sistema Panther	12
Transporte de amostras biológicas	12
Sistema Panther	13
Reagentes e materiais fornecidos	13
Materiais necessários, mas disponibilizados em separado	14
Materiais opcionais	15
Procedimento de teste do sistema Panther	16
Notas de procedimento	21
Controle de qualidade	22
Calibração do ensaio	22
Controles positivos e negativos	22
Calibrador interno/Controle interno	22
Interpretação dos resultados	23
Limitações	24
Desempenho analítico	25
Limite de detecção (LoD) usando o 2º padrão internacional da OMS	25
Limite de detecção entre genótipos de HCV	25
Intervalo linear	26
Linearidade entre genótipos de HCV	27
Limite inferior de quantificação usando o 2º padrão internacional da OMS	28
Determinação do limite inferior de quantificação (LLoQ) entre os genótipos do HCV	29
Rastreabilidade segundo o padrão da OMS	31
Precisão	31
Substâncias potencialmente interferentes	32
Desempenho com as amostras biológicas negativas de HCV	34
Especificidade analítica	34
Amostras biológicas contendo vírus diferentes do HCV	35
Equivalência de matriz	36
Diluição da amostra usando o diluente de amostra biológica Aptima (1:3)	36
Diluição da amostra usando o diluente de amostra biológica Aptima (1:100)	37
Confirmação do LLoQ em amostras biológicas clínicas diluídas em diluente de amostras biológicas	38
Precisão de amostras diluídas	39
Carryover	39
Painel de soroconversão	39
Estudo de reprodutibilidade	40
Desempenho clínico	42
Correlação de métodos	42
Estudo de utilidade clínica	42
Resposta à terapia antiviral	46
Estudo de utilidade diagnóstica	50
Reatividade cruzada em indivíduos com doença hepática não relacionada ao HCV	52
Bibliografia	54
Informações de contato e histórico de revisões	55

Informações gerais

Uso pretendido

O ensaio Aptima® HCV Quant Dx é um teste de amplificação mediada por transcrição em tempo real. Este ensaio é utilizado tanto para a detecção quanto para a quantificação do RNA do vírus da hepatite C (HCV) em soro e plasma humanos frescos e congelados de indivíduos infectados pelo HCV.

O plasma pode ser preparado em ácido etilenodiaminotetracético (EDTA), solução anticoagulante de citrato de dextrose (ACD) e tubos de preparação de plasma (PPT). O soro pode ser preparado em tubos de soro e tubos de separação de soro (SST). As amostras biológicas são testadas utilizando o sistema Panther™ para processamento, amplificação, detecção e quantificação automatizados das amostras. Amostras biológicas contendo genótipos 1 a 6 do HCV são validadas para detecção e quantificação no ensaio.

O ensaio Aptima HCV Quant Dx é indicado como auxílio no diagnóstico da infecção pelo HCV. O teste pode ser usado para confirmar a infecção ativa pelo HCV em pacientes com resultado positivo para anticorpos anti-HCV. A detecção do RNA do HCV indica que o vírus está se replicando e, portanto, é uma evidência de infecção ativa.

O ensaio Aptima HCV Quant Dx é indicado como auxílio no manejo de pacientes infectados com o HCV em tratamento com medicamentos antivirais. O ensaio mede os níveis de RNA do HCV no início do estudo, durante o tratamento e após o tratamento para determinar a resposta virológica sustentada (RVS). Os resultados do ensaio Aptima HCV Quant Dx devem ser interpretados dentro do contexto de todos os achados clínicos e laboratoriais relevantes.

O ensaio Aptima HCV Quant Dx não deve ser usado como teste de rastreamento da presença do HCV em sangue ou produtos sanguíneos.

Resumo e explicação do teste

O HCV é um patógeno transmitido pelo sangue e um problema de saúde pública mundial, com até 170 milhões de pessoas infectadas globalmente e 350,000 mortes anuais devido a doenças relacionadas ao HCV, incluindo cirrose e câncer de fígado.^{1,2} A transmissão do HCV ocorre por meio da exposição a sangue, produtos sanguíneos ou atividades com potencial de exposição percutânea.^{3,4} Geneticamente, o HCV contém um genoma de RNA de fita positiva com aproximadamente 9500 nucleotídeos, que codifica proteínas estruturais (core, glicoproteínas E1 e E2, proteína do canal iônico p7) e proteínas não estruturais (NS2, NS3, NS4A/B, NS5A/B), sendo estas últimas proteínas replicativas virais essenciais e alvos de antivirais de ação direta.^{4,5} Duas regiões não traduzidas (UTR) do genoma, 5'UTR e 3'UTR, desempenham funções na tradução do genoma e na replicação/empacotamento, respectivamente.⁵ A região 5'-UTR é a região genômica mais conservada entre os seis principais genótipos do HCV.⁶

Clinicamente, existe uma alta prevalência de infecção assintomática pelo HCV, e a infecção crônica pelo HCV ocorre em até 75% dos pacientes.² Os algoritmos de testes laboratoriais para o HCV exigem o diagnóstico de infecções ativas pelo HCV em indivíduos com anticorpos positivos por meio da detecção do RNA do HCV no plasma ou soro, para permitir o encaminhamento adequado para o tratamento.^{7,8,9}

A quantificação do RNA do HCV (carga viral) tem desempenhado um papel fundamental na definição e no monitoramento do sucesso do tratamento de HCV. A resposta virológica sustentada (RVS), definida como RNA do HCV indetectável após terapia bem-sucedida, é um marcador fundamental para a cura do HCV.^{10,11} Na terapia baseada em interferon, a resposta virológica precoce (RVP), definida como uma redução de 2 log ou mais na carga viral do HCV após 12 semanas de terapia, e a resposta virológica rápida (RVR), definida como níveis

indetectáveis de RNA do HCV após 4 semanas de terapia, demonstraram ser preditores positivos para a RVS.^{10,12,13} Esses marcadores da cinética viral são utilizados em abordagens guiadas pela resposta, adaptando as opções de tratamento para interromper ou prolongar a terapia a fim de alcançar a RVS.¹⁴ Além disso, estudos de acompanhamento a longo prazo demonstraram a durabilidade da RVS após o tratamento bem-sucedido, e a erradicação viral impede a progressão da doença hepática.¹⁰

Na era dos antivirais de ação direta (DAAs), a quantificação do RNA do HCV (carga viral) tem desempenhado um papel fundamental na definição e no monitoramento do sucesso do tratamento do HCV. A resposta virológica sustentada (RVS) é definida como RNA do HCV indetectável (com um ensaio que tenha um limite de detecção de <25 UI/mL) após a terapia.^{10,11} As diretrizes recentes da AASLD sugerem testar o RNA do HCV não apenas no início do tratamento, mas também periodicamente durante o tratamento (ou seja, a cada 4 semanas) e 12 semanas após a conclusão do tratamento.^{10,12,13}

Princípios do procedimento

O ensaio Aptima HCV Quant Dx é um teste de amplificação de ácido nucleico que utiliza a tecnologia de amplificação mediada por transcrição (TMA) em tempo real para detectar e quantificar o RNA do HCV, auxiliando no diagnóstico ou no estabelecimento da carga viral basal, bem como para medir as respostas durante e após o tratamento. O ensaio tem como alvo uma região conservada do genoma do HCV, detectando e quantificando os genótipos 1, 2, 3, 4, 5 e 6. O ensaio é padronizado de acordo com o 2º Padrão Internacional da OMS para o Vírus da Hepatite C (Código NIBSC 96/798).¹²

O ensaio Aptima HCV Quant Dx envolve três etapas principais, todas executadas em um único tubo no sistema Panther: captura do alvo, amplificação do alvo por TMA e detecção de produtos de amplificação (amplicon) pelas sondas fluorescentes rotuladas (torches).

Durante a captura do alvo, o RNA viral é isolado das amostras biológicas. As amostras biológicas são tratadas com um detergente para solubilizar o envelope viral, desnaturar as proteínas e liberar o RNA genômico viral. Os oligonucleotídeos capturados hibridizam para regiões altamente conservadas do RNA do HCV, se estiverem presentes, na amostra biológica de teste. O alvo híbrido é então capturado em micropartículas magnéticas que são separadas da amostra biológica em um campo magnético. As etapas de lavagem removem as impurezas do tubo de reação.

A amplificação do alvo ocorre por meio da TMA, que é um método de amplificação do ácido nucleico mediado por transcrição que utiliza duas enzimas: transcriptase reversa da leucemia murínica de Moloney (MMLV) e a polimerase do RNA T7. A transcriptase reversa é usada para gerar uma cópia do DNA (que contém uma sequência promotora para a polimerase do RNA T7) da sequência alvo. A polimerase de RNA T7 produz várias cópias do amplicon de RNA com base no modelo de cópia do DNA. O ensaio Aptima HCV Quant Dx utiliza o método TMA para amplificar uma porção da região 5' UTR do genoma do HCV. A amplificação dessa região é obtida utilizando primers específicos, projetados para amplificar os genótipos 1, 2, 3, 4, 5 e 6 do HCV.

A detecção é feita usando as sondas fluorescentes do ácido nucleico de cadeia única, presentes durante a amplificação de cada alvo, que hibridizam especificamente nos produtos de amplificação em tempo real. Cada sonda fluorescente tem um fluoróforo e um agente de extinção. Quando a sonda fluorescente não for hibridizada no produto de amplificação, o agente de extinção estará próximo do fluoróforo e conterá a fluorescência. Quando a sonda fluorescente se une ao produto de amplificação, o agente de extinção é movido para ainda mais longe do fluoróforo e emitirá um sinal em um determinado comprimento de onda quando for animado por uma fonte de luz. À medida que mais sondas fluorescentes se

hibridizam no produto de amplificação, um sinal de fluorescência mais elevado é gerado. O tempo necessário para que o sinal fluorescente atinja um limite especificado é proporcional à concentração inicial de HCV. Cada reação tem um calibrador interno/controle interno (CI) que controla as variações no processamento, amplificação e detecção da amostra biológica. A concentração de uma amostra é determinada pelo software do sistema Panther usando os sinais de HCV e CI para cada reação e comparando-os com as informações de calibração.

Resumo de segurança e desempenho

O SSP (Summary of Safety and Performance, Resumo de segurança e desempenho) está disponível no banco de dados europeu sobre dispositivos médicos (Eudamed), onde está vinculado aos identificadores de dispositivos (UDI-DI básico). Para localizar o SSP para o ensaio Aptima HCV Quant Dx, consulte o Identificador Básico Único de Dispositivo (BUDI): 54200455DIAGAPTHCVAJ.

Advertências e precauções

- A. Para uso em diagnóstico *in vitro*.
- B. Para uso profissional.
- C. Para reduzir o risco de resultados inválidos, leia cuidadosamente a bula e o *Manual do Operador do sistema Panther/Panther Fusion™* para obter informações sobre o procedimento antes de realizar o ensaio no sistema Panther.
- D. Para obter avisos, precauções e procedimentos adicionais específicos para controlar a contaminação, consulte o *Manual do Operador do sistema Panther/Panther Fusion*.

Relacionados ao laboratório

- E. CUIDADO: Os controles para esse ensaio contêm plasma humano. O plasma não é reativo para o antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg), anticorpos anti-HCV, anticorpos anti-HIV-1 e anti-HIV-2 e antígeno HIV quando testados com procedimentos licenciados pela US Food and Drug Administration dos EUA. Além disso, o plasma não é reativo para o RNA do HCV e o RNA do HIV-1 quando testado com testes de ácidos nucleicos licenciados utilizando amostras agrupadas. Todos os materiais com origem em sangue humano devem ser considerados como potencialmente infecciosos e devem ser manuseados de acordo com as precauções universais.^{14,15,16}
- F. Este procedimento só deve ser executado por pessoal com o devido treinamento no uso do ensaio Aptima HCV Quant Dx e no manuseio de materiais potencialmente infecciosos. Se ocorrer um derramamento, desinfete imediatamente seguindo os procedimentos adequados do local.
- G. Use somente os utensílios de laboratório descartáveis fornecidos ou especificados.
- H. Siga as precauções de rotina do laboratório. Não pipete com a boca. Não coma, beba ou fume nas áreas de trabalho designadas. Use luvas sem talco descartáveis, proteção ocular e jaleco de laboratório ao manusear as amostras biológicas e os reagentes do kit. Lave bem as mãos após manusear as amostras biológicas e os reagentes do kit.
- I. As superfícies de trabalho, pipetas e outros equipamentos devem ser descontaminados regularmente com solução de hipoclorito de sódio de 2.5% a 3.5% (0.35M a 0.5M).

- J. Descarte todos os materiais que tenham estado em contato com as amostras biológicas e reagentes, de acordo com os regulamentos locais, estaduais e federais.^{14,15,16,17} Limpe e desinfete completamente todas as superfícies de trabalho.
- K. Os controles contêm azida de sódio como conservante. Não utilize tubos de metal para a transferência de reagentes. Se as soluções que contêm compostos de azida de sódio forem descartadas em um sistema de encanamento, elas deverão ser diluídas e eliminadas com água corrente em abundância. Essas precauções são recomendadas para evitar o acúmulo de depósitos em canos metálicos onde condições explosivas podem se desenvolver.
- L. Boas práticas padronizadas para os laboratórios moleculares incluem o monitoramento do ambiente. Para monitorar o ambiente de um laboratório, sugerimos o seguinte procedimento:
1. Pegue um swab do tipo cotonete e use-o com o tubo de alíquota de amostras biológicas Aptima (SAT).
 2. Identifique adequadamente cada SAT com um rótulo.
 3. Encha cada SAT com 1 mL do diluente da amostra biológica Aptima.
 4. Para coletar amostras de superfície, umedeça ligeiramente um swab com água deionizada sem nuclease.
 5. Colha a amostra da superfície relevante movimentando o swab verticalmente, de cima para baixo. Enquanto colhe a amostra do local, circule o swab cerca de meia volta.
 6. Coloque imediatamente a amostra do swab dentro do tubo e circule suavemente o swab no diluente para extrair materiais potencialmente colhidos. Pressione o swab na lateral do tubo de transporte para extrair o máximo de líquido possível. Descarte o swab e feche o tubo.
 7. Repita as etapas para as amostras de swab restantes.
 8. Teste o swab com um ensaio molecular.

Relacionados às amostras biológicas

- M. As amostras biológicas podem ser infecciosas. Siga as precauções universais^{14,15,16} ao realizar este ensaio. Os métodos de manuseio e descarte apropriados devem ser estabelecidos de acordo com os regulamentos locais.¹⁷ Somente os funcionários devidamente qualificados na utilização do ensaio Aptima HCV Quant Dx e no manuseio de materiais infecciosos devem realizar esse procedimento.
- N. Mantenha condições de armazenamento apropriadas durante o transporte da amostra biológica para garantir a integridade da amostra. A estabilidade da amostra biológica em condições de transporte diferentes das recomendadas não foi avaliada.
- O. Evite a contaminação cruzada durante as etapas de manuseio das amostras biológicas. Tenha especial cuidado para evitar a contaminação por disseminação de aerossóis quando desapertar ou destampar as amostras biológicas. As amostras biológicas podem conter níveis extremamente altos de organismos. Certifique-se de que os recipientes de amostra biológica não entrem em contato uns com os outros e descarte os materiais usados sem passá-los por cima de recipientes abertos. Troque as luvas se elas entrarem em contato com amostras.

Relacionados ao ensaio

- P. Não utilize o kit de reagentes, o calibrador nem os controles após o prazo de validade.
- Q. Não troque, misture ou combine reagentes do ensaio de kits com números de lote mestre diferentes. Os fluidos do ensaio podem ser de números de lote diferentes. Os controles e o calibrador podem ser de números de lote diferentes.
- R. Evite a contaminação microbiana e por nuclease dos reagentes.
- S. Tampe e armazene todos os reagentes do ensaio nas temperaturas especificadas. O desempenho do ensaio pode ser afetado pelo uso de reagentes armazenados de forma incorreta. Consulte *Requisitos de armazenamento e manuseio de reagentes e Procedimento de teste do sistema Panther* para obter mais informações.
- T. Não combine nenhum reagente ou fluidos do ensaio sem instruções específicas. Não complete os reagentes ou os fluidos. O sistema Panther verifica os níveis dos reagentes.
- U. Alguns reagentes deste kit estão rotulados com símbolos de riscos e segurança.

Observação: A comunicação de riscos reflete as classificações das Fichas de Dados de Segurança (SDS) da UE. Para obter informações de comunicação de riscos específicas para sua região, consulte a SDS específica da região na Biblioteca de fichas de dados de segurança, em www.hologicsds.com. Para obter mais informações sobre os símbolos, consulte a legenda dos símbolos em www.hologic.com/package-inserts.

Informações de riscos para a UE	
—	Amplification Reagent MAGNESIUM CHLORIDE 60-65% — H412 - Nocivo para os organismos aquáticos, com efeitos prolongados. P273 - Evite a liberação para o meio ambiente. P501 - Descarte o conteúdo/recipiente em uma unidade de disposição de resíduos licenciada.
—	Promoter Reagent MAGNESIUM CHLORIDE 60-65% — H412 - Nocivo para os organismos aquáticos, com efeitos prolongados. P273 - Evite a liberação para o meio ambiente. P501 - Descarte o conteúdo/recipiente em uma unidade de disposição de resíduos licenciada.
—	Enzyme Reagent Triton X-100 1-5% HEPES 1-5% — H412 - Nocivo para os organismos aquáticos, com efeitos prolongados. P273 - Evite a liberação para o meio ambiente. P501 - Descarte o conteúdo/recipiente em uma unidade de disposição de resíduos licenciada.

  	HCV VL Kit Controls <i>SODIUM AZIDE <1%</i> — PERIGO H300 - Fatal se ingerido. H410 - Muito tóxico para os organismos aquáticos, com efeitos prolongados. P264 - Lave cuidadosamente o rosto, as mãos e qualquer parte da pele exposta após o manuseio. P273 - Evite a liberação para o meio ambiente. P301 + P310 - EM CASO DE INGESTÃO: Ligue imediatamente para um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou médico. P321 - Tratamento específico (veja instruções complementares de primeiros socorros neste rótulo). P330 - Enxágue a boca. P391 - Recolha todo produto derramado.
—	HCV VL Kit Calibrators <i>HEPES 15–20%</i> <i>Lauryl Sulfate Lithium Salt 5-10%</i> <i>Lithium Hydroxide, Monohydrate 1-5%</i> <i>Succinic Acid 1-5%</i> — H412 - Nocivo para os organismos aquáticos, com efeitos prolongados. P273 - Evite a liberação para o meio ambiente. P501 - Descarte o conteúdo/recipiente em uma unidade de disposição de resíduos licenciada.
—	Enzyme Reconstitution Solution <i>Glycerol 20-25%</i> <i>Triton X-100 5-10%</i> <i>HEPES 1-5%</i> — H412 - Nocivo para os organismos aquáticos, com efeitos prolongados. P273 - Evite a liberação para o meio ambiente. P501 - Descarte o conteúdo/recipiente em uma unidade de disposição de resíduos licenciada.
—	Target Capture Reagent <i>HEPES 15–20%</i> <i>Lauryl Sulfate Lithium Salt 5-10%</i> <i>Lithium Hydroxide, Monohydrate 1-5%</i> <i>Succinic Acid 1-5%</i> — H412 - Nocivo para os organismos aquáticos, com efeitos prolongados. P273 - Evite a liberação para o meio ambiente. P501 - Descarte o conteúdo/recipiente em uma unidade de disposição de resíduos licenciada.

Requisitos de armazenamento e manuseio de reagentes

- A. A tabela abaixo mostra as condições de armazenamento e a estabilidade para reagentes, controles e calibradores.

Reagente	Armazenamento não aberto	Kit aberto (Reconstituído)	
		Armazenamento	Estabilidade
Reagente de amplificação do qHCV	2 °C a 8 °C		
Solução de reconstituição de amplificação do qHCV	2 °C a 8 °C	2 °C a 8 °C	30 dias ^a
Reagente enzimático do qHCV	2 °C a 8 °C		
Solução de reconstituição enzimática do qHCV	2 °C a 8 °C	2 °C a 8 °C	30 dias ^a
Reagente promotor do qHCV	2 °C a 8 °C		
Solução de reconstituição promotora do qHCV	2 °C a 8 °C	2 °C a 8 °C	30 dias ^a
Reagente de captura do alvo do qHCV	2 °C a 8 °C	2 °C a 8 °C	30 dias ^a
CONTROLE NC do qHCV – (Controle negativo)	-15 °C a -35 °C	15 °C a 30 °C	Frasco de uso único Usar dentro de 24 horas
CONTROLE LPC do qHCV + (Controle positivo baixo)	-15 °C a -35 °C	15 °C a 30 °C	Frasco de uso único Usar dentro de 24 horas
CONTROLE HPC do qHCV + (Controle positivo alto)	-15 °C a -35 °C	15 °C a 30 °C	Frasco de uso único Usar dentro de 24 horas
PCAL do qHCV (Calibrador positivo)	-15 °C a -35 °C	15 °C a 30 °C	Frasco de uso único Usar dentro de 24 horas

^a Quando os reagentes são removidos do sistema Panther, eles devem ser imediatamente retornados às temperaturas de armazenamento adequadas.

- B. Descarte todos os reagentes reconstituídos não utilizados e o reagente de captura do alvo (TCR) após 30 dias ou após a data de validade do Lote Mestre, o que ocorrer primeiro.
- C. Os reagentes armazenados no sistema Panther têm 72 horas de estabilidade interna. Os reagentes podem ser carregados no sistema Panther até 8 vezes. O sistema Panther registra todas as vezes que os reagentes são carregados.
- D. Depois de descongelar o calibrador, a solução deverá estar limpa, e não turva ou contendo detritos.
-  E. O reagente do promotor e o reagente do promotor reconstituído são fotossensíveis. Proteja esses reagentes contra a luz durante o armazenamento e a preparação para o uso.

Coleta e armazenamento de amostras biológicas

Observação: manuseie todas as amostras biológicas como se contivessem agentes potencialmente infecciosos. Siga as precauções universais.

Observação: Tome cuidado para evitar a contaminação cruzada durante as etapas de manuseio das amostras. Por exemplo, descarte os materiais usados sem passar por cima dos tubos abertos.

Observação: Somente tubos secundários plásticos são recomendados para o armazenamento.

Todas as amostras biológicas coletadas nos tubos plásticos ou de vidro abaixo poderão ser usadas:

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

Para o soro, aguarde até o coágulo se formar antes de continuar o processamento.

A. Coleta de amostras biológicas

O sangue total pode ser armazenado a uma temperatura entre 2 °C e 30 °C e deve ser centrifugado no prazo de 6 horas após a coleta da amostra biológica. Separe o plasma ou o soro dos glóbulos vermelhos aglomerados seguindo as instruções do fabricante do tubo utilizado. O plasma ou o soro podem ser testados no sistema Panther em um tubo principal ou transferidos para um tubo secundário, como o tubo de alíquota de amostras biológicas Aptima. Para obter 500 µL de volume de reação, o volume mínimo do plasma ou do soro para os tubos de coleta principais é de até 1200 µL e para os tubos secundários o volume mínimo é de 700 µL. A tabela abaixo identifica os requisitos do volume morto para cada tipo de tubo principal e secundário.

Tubo (tamanho e tipo)	Volume morto no Panther
Tubo de alíquota de amostras Aptima (SAT)	0.2 mL
12 x 75 mm	0.5 mL
13 x 100 mm	0.5 mL
13 x 100 mm com Gel	0.3 mL
16 x 100 mm com Gel	0.7 mL

Se não forem testados imediatamente, o plasma e soro podem ser armazenados de acordo com as especificações abaixo. Se transferido para um tubo secundário, o plasma ou soro pode ser congelado a -20 °C. Não exceder 3 ciclos de congelamento e descongelamento. Não congele amostras biológicas em EDTA, ACD ou em tubos de coleta principal de soro.

B. Condições de armazenamento das amostras biológicas**1. Amostras biológicas de plasma EDTA e ACD**

O sangue total pode ser armazenado a uma temperatura entre 2 °C e 30 °C e deve ser centrifugado no prazo de 6 horas após a coleta da amostra biológica. O plasma pode então ser armazenado em uma das seguintes condições:

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

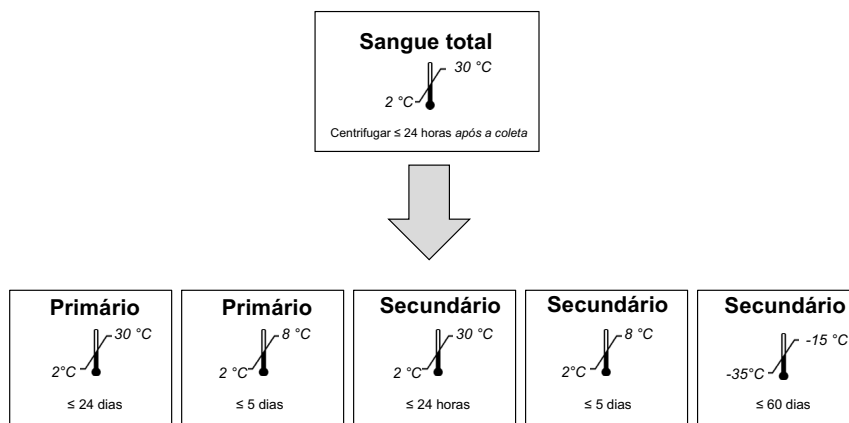


Figura 1. Condições de armazenamento para tubos EDTA/ACD

2. Amostras biológicas em PPT

O sangue total pode ser armazenado a uma temperatura entre 2 °C e 30 °C e deve ser centrifugado no prazo de 6 horas após a coleta da amostra biológica. O plasma pode então ser armazenado em uma das seguintes condições:

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

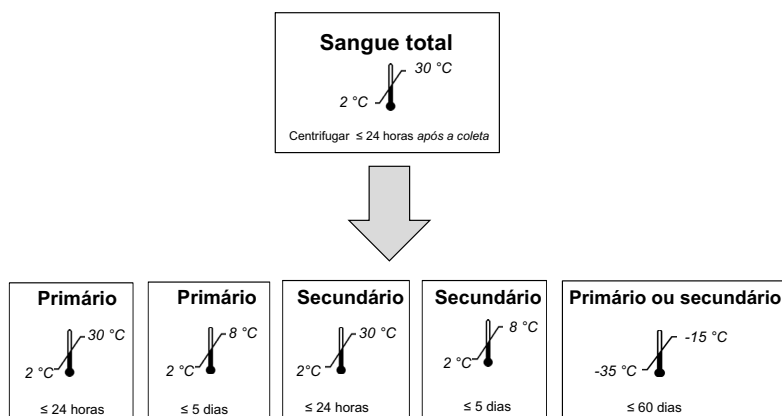


Figura 2. Condições de armazenamento para PPTs

3. Amostras biológicas do tubo de soro

O sangue total pode ser armazenado a uma temperatura entre 2 °C e 30 °C e deve ser centrifugado no prazo de 6 horas após a coleta da amostra biológica. O soro pode então ser armazenado em uma das seguintes condições:

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

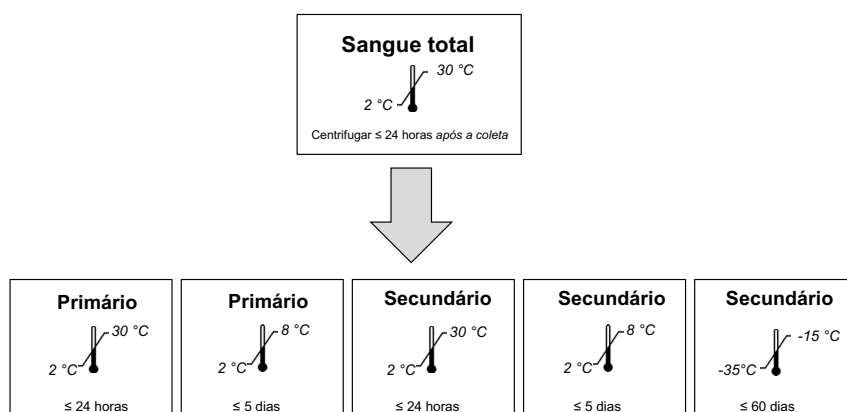


Figura 3. Condições de armazenamento para tubos de soro

4. Amostras biológicas SST

O sangue total pode ser armazenado a uma temperatura entre 2 °C e 30 °C e deve ser centrifugado no prazo de 6 horas após a coleta da amostra biológica. O soro pode então ser armazenado em uma das seguintes condições:

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

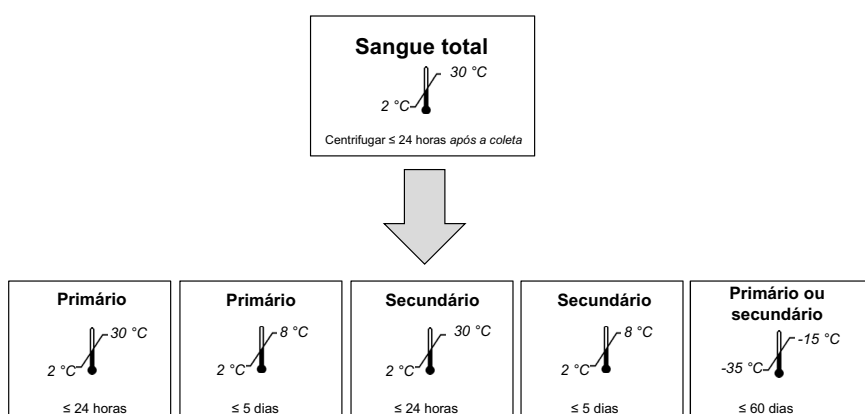


Figura 4. Condições de armazenamento para SSTs

C. Armazenamento congelado de longo prazo

Amostras de plasma ou soro podem ser armazenadas de -65 °C a -70 °C por até 60 dias em SATs.

D. Diluição das amostras biológicas de plasma e soro

As amostras biológicas de plasma e soro podem ser diluídas no SAT ou em um tubo secundário para teste no sistema Panther. Consulte *Procedimento de teste do sistema Panther*, etapa E.6 abaixo para obter mais informações.

⚠ *A interpretação de um diagnóstico não deve ser feita em um resultado “Não detectado” para amostras biológicas de soro ou plasma que tenham sido diluídas. Obtenha uma nova amostra biológica não diluída e teste novamente.*

Observação: *Se uma amostra biológica for diluída, ela deverá ser testada imediatamente após a diluição. Não congele amostras biológicas diluídas.*

Amostras no sistema Panther

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

Transporte de amostras biológicas

Mantenha as condições de armazenamento das amostras, conforme descrito em *Coleta e armazenamento de amostras biológicas*.

Observação: *As amostras biológicas devem ser transportadas em conformidade com os regulamentos de transporte nacionais, internacionais e regionais aplicáveis.*

Sistema Panther

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

Reagentes e materiais fornecidos

Kit do ensaio Aptima HCV Quant DX, 100 testes N° ref. PRD-03506

(1 caixa de ensaio, 1 kit de calibradores e 1 kit de controles)

Calibradores e controles adicionais podem ser solicitados separadamente. Consulte os respectivos números de catálogo abaixo.

Caixa de ensaio Aptima HCV Quant Dx

(armazenar entre 2 °C e 8 °C após o recebimento)

Símbolo	Componente	Quantidade
A	Reagente de amplificação do qHCV <i>Ácidos nucleicos não infecciosos secos em solução tamponada.</i>	1 frasco
E	Reagente enzimático do qHCV <i>Transcriptase reversa e polimerase de RNA secas em solução tamponada HEPES.</i>	1 frasco
PRO	Reagente promotor do qHCV <i>Ácidos nucleicos não infecciosos secos em solução tamponada.</i>	1 frasco
AR	Solução de reconstituição de amplificação do qHCV <i>Solução aquosa contendo glicerol e conservantes.</i>	1 x 7.2 mL
ER	Solução de reconstituição enzimática do qHCV <i>Solução tamponada HEPES contendo um surfactante e glicerol.</i>	1 x 5.8 mL
PROR	Solução de reconstituição promotora do qHCV <i>Solução aquosa contendo glicerol e conservantes.</i>	1 x 4.5 mL
TCR	Reagente de captura do alvo do qHCV <i>Ácidos nucleicos em uma solução salina tamponada contendo fase sólida, ácidos nucleicos não infecciosos e calibrador interno.</i>	1 x 72.0 mL
	Aros de reconstituição	3
	Folha de códigos de barras do lote mestre	1 folha

Kit do calibrador Aptima HCV Quant Dx N° ref. PRD-03507)

(armazenar entre -15 °C e -35 °C após o recebimento)

Símbolo	Componente	Quantidade
PCAL	Calibrador positivo do qHCV <i>Transcrição em solução tamponada.</i>	5 x 2.5 mL
	Rótulo do código de barras do calibrador	—

Kit de controles Aptima HCV Quant Dx N° ref. PRD-03508)
(armazenar entre -15 °C e -35 °C após o recebimento)

Símbolo	Componente	Quantidade
NC	Controle negativo do qHCV <i>Plasma humano desfibrinado com HCV negativo, contendo gentamicina e 0.2% de azida de sódio como conservantes.</i>	5 x 0.8 mL
LPC	Controle positivo baixo do qHCV <i>Armored RNA do HCV não infeccioso em plasma humano desfibrinado contendo gentamicina e 0.2% de azida sódica como conservantes.</i>	5 x 0.8 mL
HPC	Controle positivo alto do qHCV <i>Armored RNA do HCV não infeccioso em plasma humano desfibrinado contendo gentamicina e 0.2% de azida sódica como conservantes.</i>	5 x 0.8 mL
	Rótulo de código de barras dos controles	—

Materiais necessários, mas disponibilizados em separado

Observação: Os materiais disponibilizados pela Hologic têm os números de referência listados, exceto quando especificado de outra forma.

Material	N° de ref.
Sistema Panther™	303095
Sistema Panther Fusion™	PRD-04172
Sistema Panther™ de fluidos e resíduos contínuos (Panther Plus)	PRD-06067
Kit de controles Aptima® HCV Quant Dx	PRD-03508
Kit do calibrador Aptima® HCV Quant Dx	PRD-03507
Kit de execução do Panther para ensaios em tempo real (somente para ensaios em tempo real)	PRD-03455 (5000 testes)
Kit de fluidos do ensaio Aptima® (também conhecido como Kit de fluidos universal) <i>contém solução de lavagem Aptima®, tampão Aptima® para fluido de desativação e reagente de óleo Aptima®</i>	303014 (1000 testes)
<i>Unidades multitubos (MTUs)</i>	104772-02
<i>Kit de bolsas de resíduos Panther™</i>	902731
<i>Tampa para cesto de resíduos Panther™</i>	504405
Ou, o kit de execução do sistema Panther™ <i>(ao realizar ensaios TMA em tempo não real em paralelo com ensaios TMA em tempo real) contém MTUs, bolsas de resíduos, tampas de recipientes de resíduos, detecção automática e fluidos do ensaio</i>	303096 (5000 testes)
Ponteiras, 1000 µL, filtradas, com sensor de líquido, condutivas e descartáveis	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan)
<i>Nem todos os produtos estão disponíveis em todas as regiões. Entre em contato com seu representante para obter informações específicas da região.</i>	MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128

Material	Nº de ref.
Água sanitária, solução de hipoclorito de sódio 5% a 8.25% (0.7 M a 1.16 M)	—
Luvas sem pó descartáveis	—
Tampas não perfuráveis de substituição	103036A
Tampas de reagentes para substituição	
<i>Frascos de reconstituição de reagentes promotores, enzimáticos e de amplificação</i>	CL0041 (100 tampas)
<i>Frasco TCR</i>	CL0040 (100 tampas)
Protetores de bancada de laboratório com fundo de plástico	—
Lenços sem fiapos	—
Pipetador	—
Ponteiras	—
Opções de tubo de coleta primária:	
13 mm x 100 mm	—
13 mm x 75 mm	—
16 mm x 100 mm	—
Centrífuga	—
Misturador vórtex	—

Materiais opcionais

Material	Nº de ref.
Opções de tubos secundários:	
12 mm x 75 mm	—
13 mm x 100 mm	—
16 mm x 100 mm	—
<i>Tubos de alíquota de amostras biológicas Aptima (SATs) (embalagem com 100)</i>	FAB-18184
Tampa do tubo de transporte (embalagem com 100)	504415
<i>tampa para SAT</i>	
Diluyente da amostra biológica Aptima®	PRD-03003
Kit de diluentes de amostras biológicas Aptima®	PRD-03478
<i>contém diluyente da amostra biológica, 100 SATs e 100 tampas</i>	
Pipetas de transferência	—
Painéis disponíveis comercialmente	—
Swabs do tipo cotonete	—
Agitador de tubos	PRD-03488

Procedimento de teste do sistema Panther

Observação: Consulte o Manual do Operador do sistema Panther/Panther Fusion para obter informações adicionais sobre procedimentos.

A. Preparação da área de trabalho

1. Limpe as superfícies de trabalho nas quais os reagentes serão preparados. Limpe as superfícies de trabalho com solução de hipoclorito de sódio de 2.5% a 3.5% (0.35 M a 0.5 M). Deixe a solução de hipoclorito de sódio em contato com as superfícies por pelo menos 1 minuto e, em seguida, enxágue com água deionizada (DI). Não deixe que a solução de hipoclorito de sódio seque. Cubra a superfície da bancada com protetores de bancada de laboratório absorventes, com fundo de plástico e limpos.
2. Limpe uma superfície de trabalho separada, na qual as amostras serão preparadas. Use o procedimento descrito acima (etapa A.1).
3. Limpe todos os pipetadores. Use o procedimento de limpeza descrito acima (etapa A.1).

B. Preparação dos controles e do calibrador

Espere que o calibrador e os controles atinjam de 15 °C a 30 °C antes do processamento da seguinte forma:

1. Remova o calibrador e os controles do armazenamento (de -15 °C a -35 °C) e defina a temperatura entre 15 °C e 30 °C. Durante todo o processo de descongelamento, inverta cada tubo lentamente para misturar completamente. Verifique se o conteúdo dos tubos está totalmente descongelado antes de usá-lo.

Opcional. Os tubos de controle e do calibrador podem ser colocados em um agitador de tubos para misturar completamente. Verifique se o conteúdo dos tubos está totalmente descongelado antes de usá-lo.

Observação: Evite o excesso de espuma ao inverter o calibrador e os controles. A espuma compromete o sensor de nível do sistema Panther.

2. Quando o conteúdo do tubo estiver descongelado, seque a parte externa do tubo com uma toalha descartável seca e limpa.
3. Para evitar a contaminação, não abra os tubos agora.

C. Reconstituição/Preparo de reagentes de um kit novo

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

1. Para preparar o reagente de captura do alvo (TCR), proceda da seguinte forma:
 - a. Remova o TCR do armazenamento (entre 2 °C e 8 °C). Verifique o número do lote no frasco do TCR para conferir se corresponde ao número de lote indicado na Folha de códigos de barras do lote mestre.
 - b. Agite imediatamente o frasco de TCR 10 vezes vigorosamente. Deixe o frasco de TCR a uma temperatura de 15 °C a 30 °C para aquecer por pelo menos 45 minutos. Durante esse período, gire e inverta o frasco de TCR pelo menos a cada 10 minutos.

Opcional. O frasco de TCR pode ser preparado em um agitador de tubos seguindo estas instruções: Remova o TCR do armazenamento (de 2 °C a 8 °C) e imediatamente agite-o 10 vezes de forma vigorosa. Coloque o frasco de TCR em um agitador de tubos e deixe-o em uma temperatura de 15 °C a 30 °C para aquecer por pelo menos 45 minutos.

- c. Antes de usar, verifique se todo o precipitado está dissolvido e se as partículas magnéticas estão em suspensão.

2. Para reconstituir os reagentes promotores, enzimáticos e de amplificação, proceda da seguinte forma:
 - a. Remova os reagentes liofilizados e as soluções de reconstituição correspondentes do armazenamento (de 2 °C a 8 °C). Combine cada solução de reconstituição com o respectivo reagente liofilizado.
 - b. Confira se as cores do rótulo da solução de reconstituição e dos reagentes liofilizados são correspondentes. Verifique os números de lote na Folha de códigos de barras do lote mestre para conferir se os reagentes adequados estão emparelhados.
 - i. Abra o frasco do reagente liofilizado, removendo o selo metálico e a rolha de borracha.
 - ii. Insira com firmeza a extremidade ranhurada do aro de reconstituição (preto) no frasco (Figura 5, Etapa 1).
 - iii. Abra o frasco da solução de reconstituição correspondente e coloque a tampa em uma superfície de trabalho coberta e limpa.
 - iv. Coloque o frasco da solução de reconstituição em uma superfície estável (por exemplo, uma bancada). Em seguida, inverta o frasco do reagente liofilizado sobre o frasco da solução de reconstituição e fixe firmemente o aro ao frasco da solução de reconstituição (Figura 5, Etapa 2).
 - v. Inverta lentamente os frascos montados (frasco ligado ao frasco da solução) para permitir que a solução seja drenada no frasco de vidro (Figura 5, Etapa 3).
 - vi. Pegue os frascos montados e gire-os durante pelo menos 10 segundos (Figura 5, Etapa 4).
 - vii. Aguarde pelo menos 30 minutos para que o reagente liofilizado passe para a solução.
 - viii. Quando o reagente liofilizado estiver na solução, gire os frascos montados durante pelo menos 10 segundos e, em seguida, oscile a solução no frasco de vidro para a frente e para trás para misturá-la totalmente.
 - c. Incline lentamente os frascos montados outra vez para permitir que toda a solução seja novamente drenada no frasco da solução de reconstituição (Figura 5, Etapa 5).
 - d. Remova cuidadosamente o aro de reconstituição e o frasco de vidro (Figura 5, Etapa 6).
 - e. Tampe o frasco. Registre as iniciais do operador e a data da reconstituição no rótulo (Figura 5, Etapa 7).
 - f. Descarte o aro de reconstituição e o frasco de vidro (Figura 5, Etapa 8).

Aviso: Evite o excesso de espuma ao reconstituir os reagentes. A espuma compromete o sensor de nível do sistema Panther.

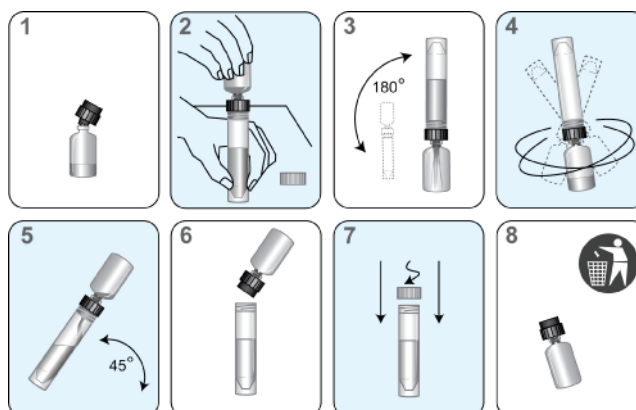


Figura 5. Processo de reconstituição de reagentes

D. Preparo de reagentes para reagentes previamente preparados

1. Remova os reagentes previamente preparados do armazenamento (de 2 °C a 8 °C).
2. Os reagentes promotores, enzimáticos e de amplificação previamente reconstituídos, assim como o TCR, devem atingir a temperatura de 15 °C a 30 °C antes do início do ensaio.
3. Para TCR previamente preparado, execute a etapa C.1 acima antes de carregar no sistema.
4. Misture bem os reagentes promotores, enzimáticos e de amplificação girando-os e invertendo-os, antes de carregá-los no sistema. Evite o excesso de espuma ao inverter os reagentes.

Opcional: Os reagentes previamente preparados podem ser preparados em um agitador de tubos seguindo estas instruções: Remova os reagentes do armazenamento (de 2 °C a 8 °C). Coloque os reagentes em um agitador de tubos e deixe aquecer entre 15 °C e 30 °C por pelo menos 30 minutos.

5. Não encha os frascos do reagente até o topo. O sistema Panther reconhecerá e rejeitará frascos que tenham sido recarregados.

E. Manuseio de amostras biológicas

1. Verifique se as amostras biológicas processadas em tubos principais ou não diluídas em tubos secundários foram armazenadas corretamente de acordo com *Coleta e armazenamento de amostras biológicas*.
2. Verifique se as amostras biológicas congeladas foram totalmente descongeladas. Agite no vórtex as amostras biológicas descongeladas por 3 a 5 segundos para misturá-las totalmente.
3. Deixe que elas atinjam uma temperatura de 15 °C a 30 °C antes do processamento. Consulte *Amostras no sistema Panther* para obter mais informações sobre a introdução no sistema.
4. Verifique se cada tubo de coleta primário contém até 1200 µL de amostra biológica ou se cada SAT contém pelo menos 700 µL de amostra biológica. Consulte a tabela fornecida em *Coleta de amostras biológicas* para identificar os requisitos de volume morto para cada tipo de tubo primário e secundário. Se for necessário diluir a amostra biológica, consulte a etapa E.5 abaixo para obter informações adicionais.
5. Dilua uma amostra biológica de plasma ou soro a 1:3 em um SAT ou a 1:100 em um tubo secundário.

Uma amostra biológica pode ser diluída em um tubo secundário para teste no sistema Panther.

⚠ *A interpretação de um diagnóstico não deve ser feita em um resultado “Não detectado” para amostras biológicas de soro ou plasma que tenham sido diluídas. Obtenha uma nova amostra biológica não diluída e teste novamente.*

Observação: *Se uma amostra biológica for diluída, ela deverá ser testada imediatamente após a diluição.*

a. Diluição de amostras biológicas com volume reduzido

O volume de amostras biológicas pode ser aumentado para o volume mínimo necessário (700 µL) usando o diluente de amostras biológicas Aptima. As amostras biológicas com pelo menos 240 µL podem ser diluídas com duas partes de diluente de amostras biológicas (1:3) da seguinte forma:

- i. Coloque 240 µL de amostra biológica no SAT.
- ii. Adicione 480 µL de diluente de amostras biológicas Aptima.
- iii. Tampe o tubo.
- iv. Inverta suavemente o tubo 5 vezes para misturar.

As amostras biológicas diluídas a 1:3 podem ser testadas usando a opção 1:3 no sistema Panther (consulte o *Manual do operador do sistema Panther/Panther Fusion* para obter mais informações). O software relatará automaticamente o resultado puro do produto, aplicando o fator de diluição. Essas amostras biológicas serão sinalizadas como amostras biológicas diluídas.

b. Diluição de amostras biológicas de alta titulação

Se o resultado da amostra biológica estiver acima do limite de quantificação (ULoQ), ele poderá ser diluído com 99 partes de diluente de amostras biológicas Aptima (1:100), da seguinte forma:

- i. Coloque 30 µL de amostra biológica no SAT ou em um tubo secundário.
- ii. Adicione 2970 µL de diluente de amostras biológicas Aptima.
- iii. Tampe o tubo.
- iv. Inverta suavemente o tubo 5 vezes para misturar.

As amostras biológicas diluídas a 1:100 podem ser testadas usando a opção 1:100 no sistema Panther (consulte o *Manual do operador do sistema Panther/Panther Fusion* para obter mais informações). O software relatará automaticamente o resultado puro do produto, aplicando o fator de diluição. Essas amostras biológicas serão sinalizadas como amostras biológicas diluídas.

Observação: *Nas amostras biológicas diluídas com concentrações puras superiores ao ULoQ (limite superior de quantificação), os resultados serão relatados com uma notação científica.*

6. Imediatamente antes de carregar as amostras biológicas em um suporte de amostras, centrifugue cada uma delas entre 1000 a 3000g durante 10 minutos. Não remova as tampas. A presença de bolhas no tubo compromete o sensor de nível do sistema Panther.

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

F. Preparação do sistema

1. Configure o sistema de acordo com as instruções no *Manual de instruções do sistema Panther/Panther Fusion* e *Notas de procedimento*. Use os suportes de reagentes e adaptadores de TCR de tamanho adequado.
2. Carregue as amostras no suporte de amostras. Execute as etapas abaixo para cada tubo de amostra (amostra biológica e, quando necessário, calibrador e controles):
 - a. Afrouxe a tampa de um tubo de amostra, mas não remova a tampa ainda.
Observação: Tome cuidado para evitar a contaminação por disseminação de aerossóis. Afrouxe as tampas das amostras cuidadosamente.
 - b. Carregue o tubo de amostra no suporte de amostras.
 - c. Repita as etapas 2.a e 2.b para cada amostra restante.
 - d. Depois que as amostras forem carregadas no suporte de amostras, retire e descarte a tampa de cada um dos tubos em um suporte de amostras. Para evitar a contaminação, não passe uma tampa sobre nenhum outro suporte ou tubos de amostras.
 - e. Se necessário, use uma nova pipeta de transferência descartável para remover bolhas ou espumas.
 - f. Quando a última tampa tiver sido removida, carregue o suporte de amostras no compartimento de amostras.
Observação: Se estiver executando outros tipos de ensaios e de amostras ao mesmo tempo, fixe o retentor de amostras antes de carregar o suporte de amostras na zona de amostragem.
 - g. Repita as etapas 2.a a 2.f para o próximo suporte de amostras.

Notas de procedimento

A. Calibrador e controles

1. Os tubos de calibrador positivo do qHCV, controle positivo baixo do qHCV, controle positivo alto do qHCV e controle negativo do qHCV podem ser carregados em qualquer posição no suporte de amostras e em qualquer raia da zona de amostragem no sistema Panther. A pipetagem de amostras biológicas começará quando uma das duas condições a seguir for atendida:
 - a. O calibrador e os controles estiverem atualmente sendo processado pelo sistema.
 - b. Resultados válidos para o calibrador e os controles estiverem registrados no sistema.
2. Depois que os tubos do calibrador e do controle forem pipetados e estiverem sido processados para um kit de reagente do ensaio Aptima HCV Quant Dx, as amostras biológicas poderão ser testadas com o kit reconstituído associado por até 24 horas, **a menos que:**
 - a. Os resultados do calibrador ou os resultados de controle sejam inválidos.
 - b. O kit de reagentes de ensaio associado tenha sido removido do sistema.
 - c. O kit de reagente do ensaio associado tenha excedido os limites de estabilidade.
3. O calibrador e cada tubo de controle só podem ser usados uma vez. Tentativas de usar o tubo mais de uma vez podem levar a erros de processamento.

B. Talco para luva

Como em qualquer sistema de reagentes, o excesso de talco em algumas luvas pode causar a contaminação de tubos abertos. É recomendado o uso de luvas sem talco.

Controle de qualidade

O resultado de uma execução ou de uma amostra biológica poderá ser invalidado por um operador se forem observadas dificuldades técnicas do operador ou dos instrumentos durante a execução do ensaio e forem documentadas. Nesse caso, as amostras biológicas deverão ser testadas novamente.

Calibração do ensaio

Para gerar resultados válidos, a calibração de um ensaio deve ser concluída. Um único calibrador positivo é executado em triplicado cada vez que um kit de reagente é carregado no sistema Panther. Depois de estabelecida, a calibração é válida por até 24 horas. O software do sistema Panther alerta o operador quando uma calibração é necessária. O operador verifica o coeficiente de calibração encontrado na folha de código de barras do lote mestre, fornecida com cada kit de reagentes.

Durante o processamento, os critérios para a aceitação do calibrador são automaticamente verificados pelo software do sistema Panther. Se menos de duas réplicas dos calibradores forem válidas, o software invalidará a execução automaticamente. As amostras contidas em uma execução invalidada deverão ser testadas novamente usando um calibrador e controles recém-preparados.

Controles positivos e negativos

Para gerar resultados válidos, é necessário testar um conjunto de controles do ensaio. Uma réplica do controle negativo, do controle positivo baixo e do controle positivo alto deve ser testada sempre que um kit de reagente for carregado no sistema Panther. Depois de estabelecidos, os controles serão válidos por até 24 horas. O software do sistema Panther alerta o operador quando os controles são necessários.

Durante o processamento, os critérios de aceitação dos controles são automaticamente verificados pelo software do sistema Panther. Para gerar resultados válidos, o controle negativo deve gerar um resultado de “Não detectado” e os controles positivos devem gerar resultados com parâmetros predefinidos (Alvo Nominal LPC: $2.36 \log_{10}$ UI/mL, Alvo Nominal de HPC: $5.36 \log_{10}$ UI/mL). Se algum dos controles tiver um resultado inválido, o software invalidará automaticamente a execução. As amostras contidas em uma execução invalidada deverão ser testadas novamente usando um calibrador e controles recém-preparados.

Calibrador interno/Controle interno

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

O software do sistema Panther foi criado para verificar com precisão os processos quando os procedimentos são realizados seguindo as instruções fornecidas neste folheto informativo e no *Manual do operador do sistema Panther/Panther Fusion*.

Interpretação dos resultados

O sistema Panther determina automaticamente o RNA do HCV para amostras biológicas e controles, comparando os resultados em uma curva de calibração. As concentrações de RNA do HCV são relatadas em UI/mL e $\log_{10}$ UI/mL. A interpretação dos resultados é fornecida na Tabela 1. Se a diluição 1:3 ou 1:100 for usada para amostras biológicas diluídas, o sistema Panther calculará automaticamente a concentração de RNA de HCV na amostra biológica não diluída, multiplicando a concentração diluída pelo fator de diluição, e as amostras biológicas diluídas serão sinalizadas como diluídas.

Observação: Para as amostras biológicas diluídas, os resultados listados como “Não detectado” ou “<10 detectados” podem ser gerados diluindo uma amostra biológica com a concentração acima, porém próximo ao LoD ou ao LLoQ (limite de detecção ou limite inferior de quantificação (LLoQ)). Se um resultado quantitativo não for obtido, recomendamos coletar e testar outra amostra biológica não diluída.

O sistema Panther não fornece um resultado qualitativo (por exemplo, “Reativo” ou “Não reativo”) para uso diagnóstico. O operador deverá interpretar a concentração relatada de RNA no HCV em um resultado qualitativo (Tabela 1). As amostras biológicas com resultados listados como “Não detectado” não são reativas ao RNA do HCV. Amostras biológicas com resultados listados como “<10 detectados”, com resultados dentro do intervalo linear, e >100,000,000 (limite superior de quantificação) indicam que o RNA do HCV foi detectado e que essas amostras biológicas são reativas para o RNA do HCV.

Tabela 1: Interpretação de resultados

Resultado relatado do ensaio Aptima HCV Quant Dx		Interpretação da concentração do RNA do HCV	Interpretação qualitativa do diagnóstico do usuário ^a
UI/mL	Valor de $\log_{10}$ ^b		
Não detectado	Não detectado	RNA do HCV não detectado.	Não reativo para RNA do HCV
< 10 detectado	< 1.00	O RNA do HCV foi detectado, porém a um nível abaixo do LLoQ	Reativo para RNA do HCV
10 a 100,000,000	1.00 a 8.00	A concentração de RNA do HCV está dentro da faixa linear de 10 a 100,000,000 UI/mL	Reativo para RNA do HCV
> 100,000,000	> 8.00	A concentração de RNA do HCV está acima do ULoQ	Reativo para RNA do HCV
Inválido ^c	Inválido ^c	Ocorreu um erro na geração do resultado. A amostra biológica deve ser testada novamente	Inválido

^a A interpretação diagnóstica pode ser feita a partir de amostras biológicas de soro ou plasma que não tenham sido diluídas.

^b O valor está truncado para duas casas decimais.

^c Os resultados inválidos são exibidos em fonte azul.

Os critérios de aceitação para cada um dos controles do ensaio Aptima HCV Quant Dx são descritos em Tabela 12.

Observação: O intervalo de recuperação listado abaixo muda com base no valor atribuído de cada lote específico. Consulte a concentração atribuída listada no encarte da Folha de código de barras de controles fornecido com cada caixa de controles.

Tabela 2: Critérios de aceitação do intervalo de recuperação para controles do ensaio Aptima HCV Quant Dx

Componente	Intervalo de recuperação para execuções válidas
Controle negativo	N/A
Controle positivo baixo	+/- 0.5 $\log_{10}$ UI/mL
Controle positivo alto	+/- 0.5 $\log_{10}$ UI/mL

Limitações

- A. O uso deste ensaio é limitado a profissionais treinados no procedimento. Deixar de seguir as instruções fornecidas neste folheto informativo pode resultar em resultados incorretos.
- B. A confiabilidade dos resultados depende da coleta, transporte, armazenamento e processamento apropriados da amostra biológica.
- C. Apesar de raras, mutações poderão ocorrer em regiões altamente conservadas do genoma viral abrangidas pelos “primers” e/ou sondas no ensaio Aptima HCV Quant Dx, que poderão resultar na falha na detecção do vírus.

Desempenho analítico

Limite de detecção (LoD) usando o 2º padrão internacional da OMS

O limite de detecção (LoD) é definido como a concentração de RNA do HCV, que é detectada com 95% ou mais de probabilidade de acordo com o CLSI EP17-A2.¹⁸

O LoD foi determinado testando painéis do 2º Padrão Internacional da OMS para RNA do vírus da hepatite C (NIBSC 96/798 genótipo 1) diluídos em plasma e soro humanos negativos para HCV com EDTA. No mínimo, 36 réplicas de cada diluição foram testadas com cada um dos três lotes de reagentes, totalizando um mínimo de 108 réplicas por diluição. A análise Probit foi realizada para gerar os limites de detecção previstos.

Os valores de LoD são os resultados do lote de reagentes com o maior limite de detecção previsto. O LoD de 95% para o ensaio Aptima HCV Quant Dx, utilizando o 2º Padrão Internacional da OMS, é de 4.3 UI/mL para plasma e 3.9 UI/mL para soro.

Limite de detecção entre genótipos de HCV

O LoD foi determinado testando diluições de amostras biológicas positivas para HCV para os genótipos 1, 2, 3, 4, 5 e 6 em plasma e soro humanos negativos para HCV.

As concentrações foram determinadas utilizando um ensaio aprovado. Foram testadas no mínimo 20 réplicas de cada membro do painel com cada um dos três lotes de reagentes, totalizando no mínimo 60 réplicas por membro do painel. A análise Probit foi realizada para gerar limites de detecção previstos de 95%. Os valores de LoD mostrados na Tabela 3 são os resultados do lote de reagentes com o maior limite de detecção previsto.

Tabela 3: Limite de detecção entre genótipos do HCV usando amostras biológicas

Genótipo	Limite de detecção previsto	Concentração (UI/mL)	
		Plasma	Soro
1	95%	4.0	5.2
2	95%	2.8	4.0
3	95%	4.3	3.4
4	95%	4.8	2.3
5	95%	2.1	3.3
6	95%	4.1	3.9

Intervalo linear

O intervalo linear foi estabelecido testando painéis de Armored RNA (aRNA) de HCV 1a diluídos em plasma e soro humanos negativos para HCV de acordo com o CLSI EP06-A.¹⁹ A concentração dos painéis variou de 1.0 log₁₀ UI/mL a 8.2 log₁₀ UI/mL. O ensaio Aptima HCV Quant Dx demonstrou linearidade em toda a faixa testada, com um limite superior de quantificação (ULoQ) de 8.0. log₁₀ UI/mL, conforme mostrado em Figura 6.

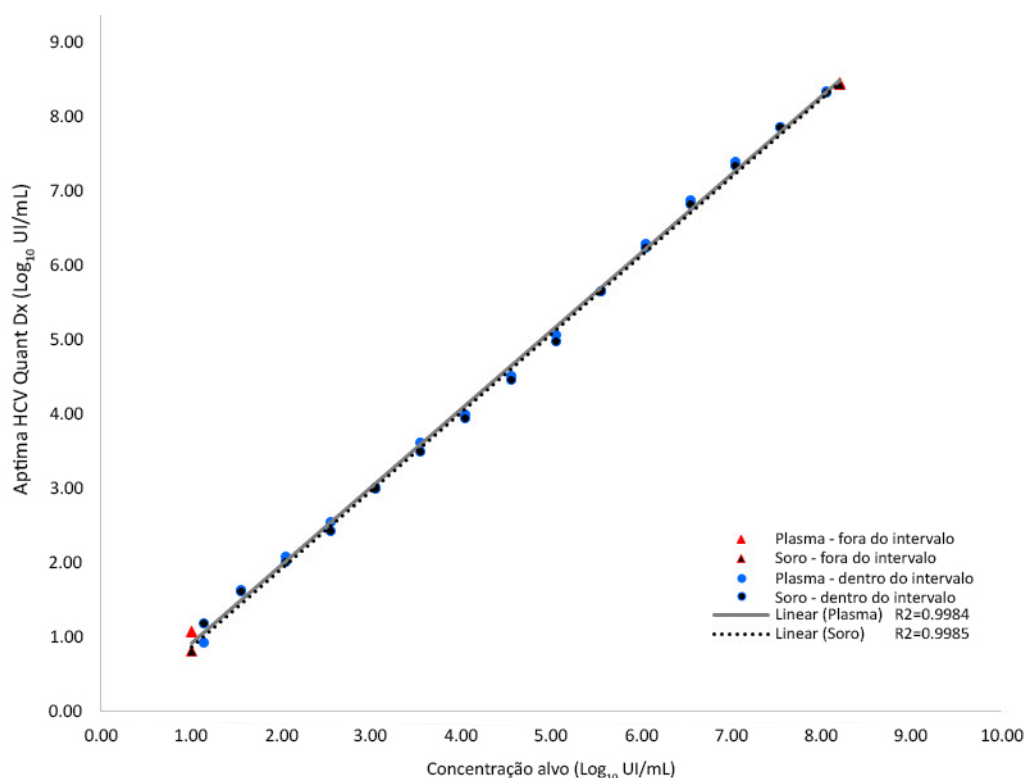


Figura 6. Linearidade no plasma e no soro

Linearidade entre genótipos de HCV

A linearidade e a faixa linear dos genótipos 1 (1a para plasma e 1b para soro) a 6 do HCV foram estabelecidas testando amostras biológicas positivas individuais diluídas, uma para cada genótipo do HCV na faixa inferior do ensaio, combinadas com aRNA (HCV 1a) na faixa superior do ensaio (acima de 100,000 UI/mL). Diluições em plasma e soro humanos negativos foram testadas para todos os genótipos. A linearidade foi demonstrada para todos os seis genótipos em toda a gama testada, conforme mostrado na Figura 7 para plasma e na Figura 8 para soro.

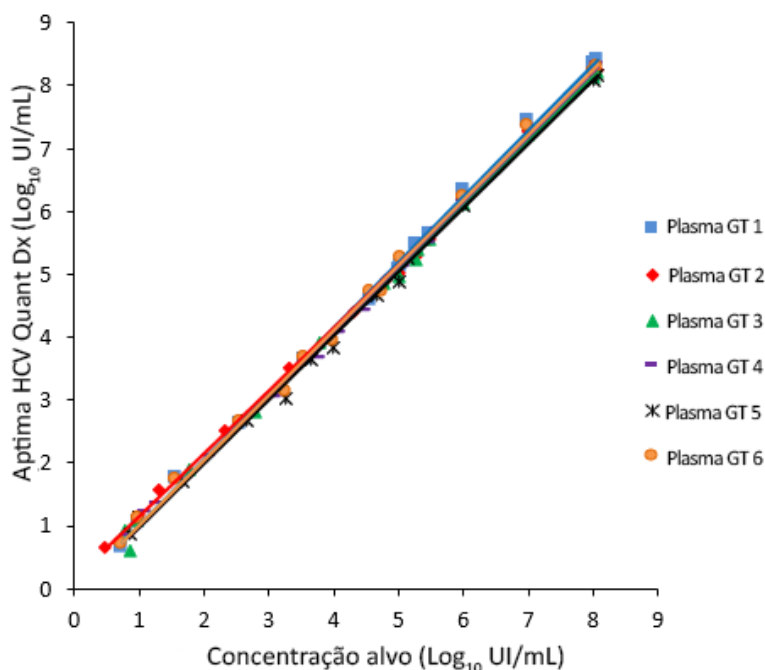


Figura 7. Intervalo linear e linearidade (plasma)

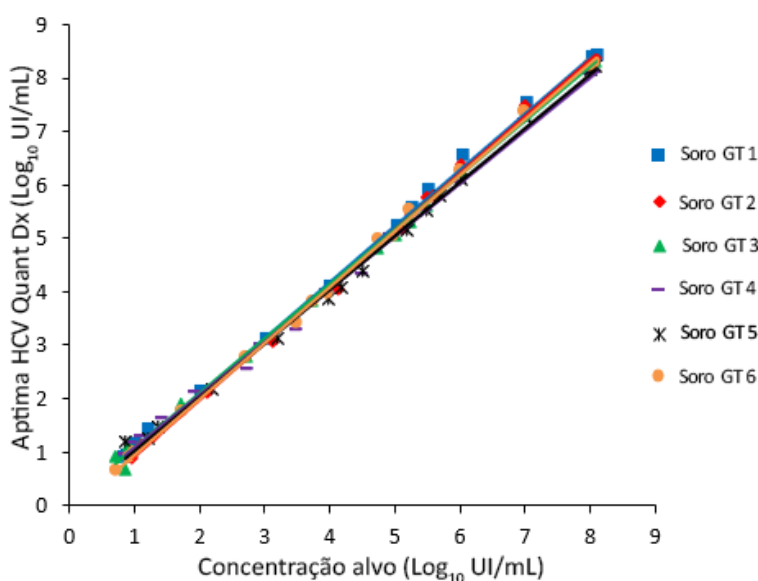


Figura 8. Intervalo linear e linearidade (soro)

Limite inferior de quantificação usando o 2º padrão internacional da OMS

O limite inferior de quantificação (LLOQ) é definido como a menor concentração na qual o RNA do HCV é quantificado de forma segura em um erro total, de acordo com o CLSI EP17-A2.¹⁸ O total de erro foi estimado por dois métodos: Total de Erro Analítico (TAE) = |viés| + 2DP e Total de Erro (TE) = SQRT(2) x 2DP. Para garantir a exatidão e a precisão das medições, o total de erro do ensaio Aptima HCV Quant Dx foi definido em 1 log₁₀ UI/mL (ou seja, no LLOQ, a diferença entre duas medições superiores a 1 log₁₀ UI/mL é estatisticamente significativa).

O LLOQ foi determinado testando painéis do 2º Padrão Internacional da OMS para RNA do vírus da hepatite C (NIBSC 96/798 genótipo 1) diluídos em plasma e soro humanos negativos para HCV. Trinta e seis (36) réplicas de cada diluição foram testadas com cada um dos três lotes de reagentes, totalizando um mínimo de 108 réplicas por diluição. Os resultados do lote de reagentes com a maior concentração, igual ou superior ao LoD e que atende aos requisitos de TE e TAE, são mostrados na Tabela 4 para plasma e na Tabela 5 para soro. O LLOQ para o 2º Padrão Internacional da OMS é de 7 UI/mL (0.82 log₁₀ UI/mL) para plasma e 9 UI/mL (0.93 log₁₀ UI/mL) para soro, conforme resumido na Tabela 6. O LLOQ foi estabelecido entre genótipos (consulte *Determinação do limite inferior de quantificação (LLOQ) entre os genótipos do HCV*). Esses dados de genótipo estabelecem o LLOQ geral para o ensaio em 10 UI/mL.

Tabela 4: LLOQ utilizando o 2º padrão internacional da OMS para o HCV diluído em plasma

Lote de reagentes	Aptima HCV Quant Dx (UI/mL)	Aptima HCV Quant Dx (log ₁₀ UI/mL)	DP (log ₁₀ UI/mL)	Viés (log ₁₀ UI/mL)	TE calculado (log ₁₀ UI/mL)	TAE calculado (log ₁₀ UI/mL)
1	3	0.53	0.30	0.05	0.85	0.65
	5	0.73	0.31	-0.04	0.88	0.67
	12	1.08	0.23	0.18	0.65	0.64
2	2	0.37	0.32	-0.11	0.92	0.75
	7	0.82	0.27	0.04	0.78	0.59
	9	0.96	0.26	0.06	0.74	0.58
3	3	0.46	0.25	-0.01	0.71	0.52
	6	0.76	0.34	-0.02	0.95	0.69
	8	0.89	0.26	-0.01	0.73	0.53

DP = desvio padrão

Tabela 5: LLOQ utilizando o 2º padrão internacional da OMS para o HCV diluído em soro

Lote de reagentes	Aptima HCV Quant Dx (UI/mL)	Aptima HCV Quant Dx (log ₁₀ UI/mL)	DP (log ₁₀ UI/mL)	Viés (log ₁₀ UI/mL)	TE calculado (log ₁₀ UI/mL)	TAE calculado (log ₁₀ UI/mL)
1	4	0.65	0.33	0.17	0.94	0.84
	8	0.93	0.32	0.15	0.90	0.79
	12	1.08	0.28	0.18	0.80	0.74
2	3	0.52	0.36	0.04	1.02	0.76
	8	0.89	0.32	0.11	0.90	0.75
	10	1.01	0.21	0.11	0.60	0.53
3	3	0.47	0.39	-0.01	1.11	0.79
	5	0.71	0.30	-0.06	0.86	0.67
	9	0.95	0.29	0.05	0.83	0.63

DP = desvio padrão

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

Lote de reagentes	LLoQ de plasma		LLoQ de soro	
	UI/mL	log ₁₀ UI/mL	UI/mL	log ₁₀ UI/mL
1	5	0.73	8	0.93
2	7	0.82	8	0.89
3	6	0.76	5	0.71

Determinação do limite inferior de quantificação (LLoQ) entre os genótipos do HCV

O LLoQ foi determinado testando diluições de amostras biológicas positivas para HCV para os genótipos 1, 2, 3, 4, 5 e 6 em plasma e soro humanos negativos para HCV. A atribuição da concentração para as amostras biológicas clínicas foi determinada utilizando um ensaio de comparação. Trinta e seis (36) réplicas de cada membro do painel foram testadas com cada um dos três lotes de reagentes para um mínimo de 108 réplicas por membro do painel. Os resultados do lote de reagentes com a maior concentração, igual ou superior ao LoD e que atende aos requisitos de TE e TAE, calculados de acordo com a norma CLSI EP 17-A2,¹⁸ são mostrados na Tabela 7 para plasma e na Tabela 8 para soro. Apenas um resultado maior e um menor que o LLoQ por genótipo são relatados na Tabela 7 e na Tabela 8 a seguir, já que esses resultados são os que melhor refletem o LLoQ esperado. O LLoQ para os genótipos 1 a 6 no plasma e no soro está resumido na Tabela 9. O genótipo 6 apresentou o maior LLoQ para o soro, com 10 UI/mL. Isso estabeleceu o LLoQ geral para o ensaio em 10 UI/mL.

Tabela 7: Determinação do LLoQ entre genótipos no plasma

Genótipo	Aptima HCV Quant Dx ^a (UI/mL)	Aptima HCV Quant Dx ^a (log ₁₀ UI/mL)	DP (log ₁₀ UI/mL)	Viés (log ₁₀ UI/mL)	TE calculado (log ₁₀ UI/mL)	TAE calculado (log ₁₀ UI/mL)
1	4	0.65	0.38	0.17	1.08	0.94
	8	0.88	0.35	0.11	1.00	0.82
	10	0.99	0.24	0.09	0.68	0.56
2	4	0.63	0.40	0.16	1.13	0.95
	6	0.76	0.29	0.15	0.81	0.73
	13	1.12	0.30	0.34	0.86	0.94
3	3	0.52	0.30	-0.26	0.85	0.86
	6	0.80	0.21	-0.20	0.59	0.62
	8	0.89	0.26	-0.19	0.74	0.71
4	4	0.61	0.39	-0.29	1.11	1.07
	7	0.82	0.31	-0.18	0.87	0.80
	10	1.01	0.29	-0.07	0.83	0.65
5	4	0.57	0.37	0.10	1.06	0.85
	7	0.87	0.31	0.09	0.89	0.72
	14	1.15	0.16	0.15	0.44	0.46
6	5	0.66	0.36	0.36	1.02	1.08
	6	0.79	0.28	0.31	0.80	0.87
	14	1.14	0.26	0.36	0.74	0.89

DP = desvio padrão

^a Foram executados níveis adicionais, mas esses dados não estão incluídos na tabela.

Tabela 8: Determinação do LLoQ entre genótipos no soro

Genótipo	Aptima HCV Quant Dx ^a (UI/mL)	Aptima HCV Quant Dx ^a (log ₁₀ UI/mL)	DP (log ₁₀ UI/mL)	Viés (log ₁₀ UI/mL)	TE calculado (log ₁₀ UI/mL)	TAE calculado (log ₁₀ UI/mL)
1	6	0.75	0.36	-0.03	1.02	0.75
	8	0.88	0.32	-0.02	0.89	0.65
	11	1.04	0.29	0.04	0.81	0.61
2	3	0.48	0.35	0.00	0.99	0.70
	6	0.80	0.31	0.02	0.86	0.63
	11	1.04	0.25	0.04	0.72	0.54
3	3	0.45	0.25	-0.33	0.72	0.84
	5	0.67	0.22	-0.33	0.63	0.78
	8	0.92	0.19	-0.16	0.54	0.54
4	2	0.19	0.27	0.19	0.77	0.73
	4	0.65	0.32	0.35	0.91	0.99
	4	0.65	0.34	0.17	0.96	0.85
5	3	0.48	0.37	0.02	1.04	0.76
	5	0.72	0.29	-0.04	0.81	0.61
	11	1.04	0.27	0.10	0.77	0.65
6	4	0.58	0.37	0.11	1.04	0.84
	10	0.99	0.22	0.21	0.61	0.64
	18	1.25	0.22	0.25	0.63	0.70

DP = desvio padrão

^a Foram executados níveis adicionais, mas esses dados não estão incluídos na tabela.

Tabela 9: Resumo do LLoQ entre genótipos no plasma e soro

Genótipo do HCV	LLoQ de plasma		LLoQ de soro	
	UI/mL	log ₁₀ UI/mL	UI/mL	log ₁₀ UI/mL
1	8	0.88	8	0.88
2	6	0.76	6	0.80
3	6	0.80	5	0.67
4	7	0.82	4	0.65
5	7	0.87	5	0.72
6	6	0.79	10	0.99

Rastreabilidade segundo o padrão da OMS

Uma série de padrões secundários com concentrações conhecidas foi usada durante o desenvolvimento e a fabricação do produto para estabelecer a rastreabilidade ao padrão da OMS. As concentrações testadas para o padrão da OMS para o HCV ficaram entre 4.00 e 2.30 $\log_{10}$ UI/mL, enquanto os padrões secundários variaram em concentração de 1.50 a 8.46 $\log_{10}$ UI/mL. Os controles e calibradores do ensaio Aptima HCV Quant Dx também foram testados juntamente com os padrões secundários e o padrão da OMS. Todos os painéis apresentaram resultados semelhantes, distribuídos linearmente ao longo do intervalo linear do ensaio, conforme apresentado na Figura 9.

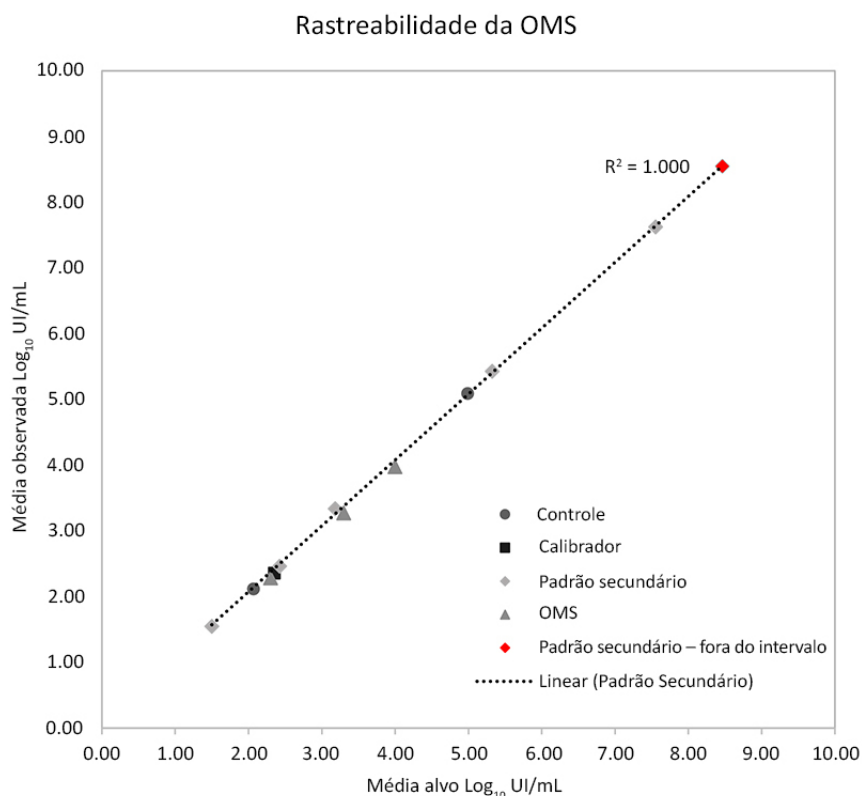


Figura 9. Rastreabilidade entre as concentrações-alvo de acordo com o 2º padrão da OMS para HCV e a concentração observada no ensaio Aptima HCV Quant Dx

Precisão

O painel de precisão Aptima HCV Quant Dx foi construído diluindo plasma clínico positivo para HCV e aRNA 1a do HCV em plasma clínico negativo para HCV (os dois componentes mais abundantes do painel eram aRNA). Sete membros do painel positivo abrangeram toda a faixa do ensaio (1.86 $\log_{10}$ UI/mL a 7.68 $\log_{10}$ UI/mL), e foram testadas em triplicata por execução por um operador, usando um lote piloto de reagentes em um sistema Panther ao longo de 21 dias de teste, com duas execuções por dia.

A Tabela 10 mostra a precisão dos resultados do ensaio (em $\log_{10}$ UI/mL) entre as execuções, dentro de cada execução e no geral. A variabilidade total foi ≤ 0.14 entre todos os membros do painel, principalmente devido à variabilidade intra-ensaio (ou seja, erro aleatório).

Tabela 10: Precisão do ensaio Aptima HCV Quant Dx

N	Concentração média (UI/mL)	Concentração média (log ₁₀ UI/mL)	Entre dias DP	Entre execuções DP	Intra-execução DP	Total DP
126	72	1.86	0.02	0.06	0.12	0.14
126	182	2.26	0.00	0.07	0.07	0.10
126	617	2.79	0.00	0.06	0.08	0.10
126	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

DP = desvio padrão

^a Número de resultados válidos na gama linear do ensaio.

Observação: A variabilidade de alguns fatores pode ser numericamente negativa, o que pode ocorrer se a variabilidade devido a esses fatores for muito pequena. Quando isso ocorre, o DP é mostrado como 0.00.

Substâncias potencialmente interferentes

A suscetibilidade do ensaio Aptima HCV Quant Dx a interferências pelos níveis elevados de substâncias endógenas ou por medicamentos comumente prescritos para indivíduos infectados pelo HCV foi avaliada. Amostras de plasma negativas para HCV e amostras contaminadas com HCV a uma concentração de aproximadamente 15 UI/mL (1.2 log₁₀ UI/mL) ou 1995 UI/mL (3.3 log₁₀ UI/mL) foram testadas as concentrações de RNA do HCV (em UI/mL).

Nenhuma interferência no desempenho do ensaio foi observada na presença de albumina (90 mg/mL), hemoglobina (5 mg/mL), triglicerídeos (30 mg/mL) ou bilirrubina não conjugada (0.2 mg/mL).

Amostras biológicas clínicas de plasma de pacientes com níveis elevados de substâncias definidas ou de pacientes com doenças, dez amostras para cada substância, listadas na Tabela 11 foram testadas com o ensaio Aptima HCV Quant Dx. Nenhuma interferência no desempenho do ensaio foi observada.

Tabela 11: Tipos de amostras biológicas clínicas testadas

Tipos de amostras biológicas clínicas	
1	Fator reumatoide (FR)
2	Anticorpo antinuclear (ANA)
3	Anticorpo Anti-Jo-1 (JO-1)
4	Lúpus eritematoso sistêmico (LES)
5	Arite reumática (AR)
6	Esclerose múltipla (EM)
7	Hiperglobulinemia
8	Alanina aminotransferase (ALT) elevada
9	Aspartato aminotransferase (AST) elevada
10	Cirrose alcoólica (CA)
11	Mieloma múltiplo (MM)
12	Lipêmico (lipídios elevados)
13	Ictérico (bilirrubina elevada)
14	Hemólise (hemoglobina elevada)
15	Proteína albumina elevada
16	Anticorpos anti-HBV
17	Anticorpos anti-HIV-1
18	Anticorpos anti-HIV-2

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

Tabela 12: Substâncias exógenas

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

Desempenho com as amostras biológicas negativas de HCV

A especificidade foi determinada utilizando 198 amostras biológicas frescas e 538 amostras biológicas congeladas negativas para o HCV. Um total de 370 amostras biológicas de plasma e 366 amostras biológicas de soro foram confirmadas como negativas para o HCV utilizando ensaios aprovados. A especificidade foi calculada como a porcentagem das amostras negativas de HCV com resultados “Não detectado”. O RNA do HCV não foi detectado em todas as 736 amostras. A especificidade foi de 100% (736/736, IC de 95%: 99.6 -100%).

Tabela 13: Desempenho em amostras biológicas de plasma e soro negativas para HCV

	Plasma fresco	Plasma congelado	Plasma Total	Fresco Soro	Soro congelado	Soro Total	Combinado
Réplicas válidas (n)	100	270	370	98	268	366	736
Não detectado	100	270	370	98	268	366	736
Especificidade (IC de 95%)	100% (97.1-100)	100% (98.9-100)	100% (99.2-100)	100% (97-100)	100% (98.9-100)	100% (99.2-100)	100% (99.6-100)

IC = intervalo de confiança

Especificidade analítica

Possível reatividade cruzada com os patógenos listados na Tabela 14 foi avaliada em plasma humano negativo para HCV na presença ou ausência de aproximadamente 15 UI/mL (1.2 log₁₀ UI/mL) ou 1995 UI/mL (3.3 log₁₀ UI/mL) de HCV. Não foi observada reatividade cruzada. Nenhuma interferência foi observada na presença de agentes patogênicos.

Tabela 14: Patógenos testados quanto à especificidade analítica

Patógeno	Concentração	Patógeno	Concentração
Vírus da hepatite A	100,000 cópias/mL	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	1,000,000 UFC/mL ^f
Vírus da hepatite B (HBV)	100,000 UI/mL ^a	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1,000,000 UFC/mL
Vírus da hepatite G	1,470 genoma/mL	<i>Staphylococcus aureus</i>	1,000,000 UFC/mL
HIV-1	100,000 cópias/mL	<i>Propionibacterium acnes</i>	1,000,000 UFC/mL
HIV-2	100,000 PFU/mL ^b	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1,000,000 UFC/mL
Vírus da herpes simplex 1 (HSV-1)	100,000 PFU/mL	<i>Candida albicans</i>	1,000,000 UFC/mL
Vírus da herpes simplex 2 (HSV-2)	100,000 PFU/mL	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1,000,000 UFC/mL
Vírus da herpes humana 6B	100,000 cópias/mL	<i>Chlamydia trachomatis</i>	1,000,000 IFU/mL ^g
Vírus da herpes humana 8	2,667 TCID50 U/mL ^c	<i>Trichomonas vaginalis</i>	1,000,000 células/mL
Vírus linfotrópico de células T humanas tipo 1 (HTLV-1)	100,000 vp/mL ^d		
Vírus linfotrópico de células T humanas tipo 2 (HTLV-2)	100,000 vp/mL		
Parvovírus B19	100,000 UI/mL		
Vírus do Nilo Ocidental	100,000 PFU/mL		
Vírus da dengue 1	100,000 PFU/mL		
Vírus da dengue 2	100,000 PFU/mL		
Vírus da dengue 3	100,000 PFU/mL		
Vírus da dengue 4	100,000 PFU/mL		

^aUI/mL = Unidades internacionais por mL

^bPFU/mL = Unidades formadoras de placa por mL

^cTCID50 U/mL = Unidades de dose infectante em cultura de tecidos por mL

^dvp/mL = Partículas virais por mL

^eLD50/mL = Dose letal por mL

^fUFC/mL = Unidades formadoras de colônias por mL

Tabela 14: Patógenos testados quanto à especificidade analítica (continuação)

Patógeno	Concentração		Patógeno	Concentração
Citomegalovírus	100,000	PFU/mL		
Vírus Epstein-Barr	100,000	cópias/mL		
Vírus da rubéola	100,000	PFU/mL		
Human papillomavirus	100,000	células/mL		
Adenovírus tipo 5	100,000	TCID50 U/mL		
Vírus da Influenza A	100,000	TCID50 U/mL		
Vírus da encefalite japonês	NA	NA		
Vírus da encefalite de St. Louis	NA	NA		
Vírus da encefalite do Vale Murray	2,643	LD50/mL ^e		
Vírus da febre amarela	100,000	células/mL		

Amostras biológicas contendo vírus diferentes do HCV

Os patógenos listados na Tabela 15 foram avaliados através da obtenção de amostras biológicas individuais naturalmente infectadas. Elas foram testadas na presença ou ausência de aproximadamente 15 UI/mL ($1.2 \log_{10}$ UI/mL) ou 1995 UI/mL ($3.3 \log_{10}$ UI/mL) do vírus do HCV. Não foi observada reatividade cruzada. Não foi observada nenhuma interferência.

Tabela 15: Amostras biológicas testadas quanto à especificidade analítica

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

Equivalência de matriz

Cento e setenta e seis conjuntos de amostras de tubos de coleta de sangue correspondentes (tubos de soro, SST, PPT, ACD, K2 EDTA, K3 EDTA) foram avaliados quanto à equivalência da matriz. Desses conjuntos de amostras, 68 eram de indivíduos naturalmente infectados com HCV e 108 eram de indivíduos negativos para HCV. Vinte e seis dos 68 resultados positivos foram diluídos adicionalmente com 13 amostras negativas de tubos de coleta de sangue correspondentes nas proporções de 1:10, 1:100 e 1:1000 ou 1:100, 1:10,000 e 1:100,000, com concentrações abrangendo toda a faixa dinâmica do ensaio (146 réplicas positivas por tubo de coleta). A correlação foi medida utilizando o tubo de coleta de soro como comparador.

Tabela 16: Estudo de equivalência de matriz

Tubo de coleta de sangue	Regressão de Deming	IC de 95% para a inclinação		IC de 95% do intercepto		R ²	Diferença média (log ₁₀)
		Inferior Limite	Limite superior	Limite inferior	Superior Limite		
SST	$y = 1.00x - 0.01$	0.99	1.01	-0.05	0.07	0.998	0.00
K2 EDTA	$y = 1.01x - 0.03$	0.99	1.02	-0.12	-0.07	0.995	0.00
K3 EDTA	$y = 1.00x - 0.01$	0.98	1.01	-0.10	0.07	0.996	-0.02
ACD	$y = 1.00x - 0.14$	0.99	1.01	-0.20	-0.08	0.997	-0.13
PPT	$y = 1.00x - 0.01$	0.98	1.01	-0.10	0.08	0.996	-0.01

Diluição da amostra usando o diluente de amostra biológica Aptima (1:3)

Para avaliar a precisão da detecção de RNA do HCV em amostras diluídas com o diluente de amostra Aptima, plasma ou soro, amostras de $1.67 \log_{10}$ UI/mL a $6.34 \log_{10}$ UI/mL foram diluídas 1:3 com o diluente de amostra biológica Aptima (240 µL de amostra combinados com 480 µL de diluente de amostra biológica Aptima). Cada amostra foi testada pura e diluída (1:3) em triplicado. Os testes foram realizados usando um lote de reagentes de ensaio em um sistema Panther com dois lotes de diluente de amostras biológicas Aptima. A diferença entre os resultados dos testes puros e diluídos foi calculada para cada conjunto de amostras, conforme mostrado na Tabela 17 para plasma e na Tabela 18 para soro.

Tabela 17: Resumo da comparação da matriz de diluição 1:3 da amostra biológica de plasma de $\log_{10}$ UI/mL

Matriz de plasma Concentração média relatada (log ₁₀ UI/mL) n = 3	Diluente Concentração média relatada (log ₁₀ UI/mL) n = 6	Diferença Diluente da matriz de plasma (log ₁₀ UI/mL)
1.74 ^a	1.57 ^b	-0.18
4.56	4.36	-0.20
5.62	5.46	-0.17
3.69	3.56	-0.13
2.65	2.60	-0.05
4.18	4.09	-0.09
3.25	3.28	0.03
4.12	4.06	-0.07
3.54	3.48	-0.06
6.20	5.91	-0.30

^a Resultado de duas réplicas. Um resultado "Detectado", mas não quantificado.

^b Resultado de quatro repetições. Dois resultados "Detectados", mas não quantificados.

Tabela 18: Resumo da comparação da matriz de diluição 1:3 da amostra biológica de soro de Log₁₀ UI/mL

Matriz de soro Concentração média relatada (log ₁₀ UI/mL) n = 3	Diluyente Concentração média relatada (log ₁₀ UI/mL) n = 6	Diferença Diluyente da matriz de soro (log ₁₀ UI/mL)
1.50 ^a	1.80	0.30
5.32	5.14	-0.18
3.65	3.59	-0.06
4.91	4.71	-0.20
3.66	3.72	0.06
3.81	3.74	-0.07
2.42	2.60	0.18
2.65	2.88	0.23
4.90	4.70	-0.21
6.17	6.00	-0.17

^aResultado de duas réplicas. Um resultado "Detectado", mas não quantificado.

Diluição da amostra usando o diluyente de amostra biológica Aptima (1:100)

Para avaliar a precisão da detecção de RNA do HCV em amostras diluídas com plasma ou soro diluídos com Aptima Specimen Diluent, foram utilizadas cinco amostras biológicas de plasma e cinco amostras biológicas de soro de indivíduos naturalmente infectados, juntamente com dez amostras biológicas de plasma e dez amostras de soro negativas para HCV, às quais foram adicionadas aRNA do HCV com alvo acima do ULoQ, 8 log₁₀ UI/mL em 8.30 log₁₀ UI/mL foram testadas em triplicado. Uma diluição de 1:100 foi realizada com uma parte de amostra e 99 partes de diluyente de amostras biológicas Aptima imediatamente antes do teste. Os testes foram realizados usando um lote de reagentes de ensaio em um sistema Panther com dois lotes de diluyente de amostras biológicas Aptima. A diferença entre os resultados dos testes puros e diluídos foi calculada para cada conjunto de amostras, conforme mostrado na Tabela 19 para plasma e na Tabela 20 para soro.

Tabela 19: Resumo da comparação da matriz de diluição 1:100 da amostra biológica de plasma de Log₁₀ UI/mL

Matriz	Diluição	Matriz de plasma Concentração média relatada (log ₁₀ UI/mL) n = 3	Diluyente Concentração média relatada (log ₁₀ UI/mL) n = 6	Diferença
Plasma	1:100	8.03 ^a	7.95	-0.08
		8.07 ^a	7.93	-0.15
		8.14 ^a	7.97	-0.17
		8.16 ^a	7.94	-0.22
		8.09 ^a	7.96	-0.13
		8.38 ^a	7.97	-0.42
		7.98 ^a	7.89	-0.09
		8.08 ^a	7.89	-0.19
		8.14 ^a	7.92	-0.22
		8.08 ^a	7.97	-0.11
		6.41	6.22	-0.19
		6.73	6.58	-0.15
		6.88	6.75	-0.14
		6.54	6.51	-0.03
		6.55	6.29	-0.27

^aAmostra biológica fortificada

Tabela 20: Resumo da comparação da matriz de diluição 1:100 da amostra biológica de soro de Log₁₀ UI/mL

Matriz	Diluição	Matriz de soro Concentração média relatada (log ₁₀ UI/mL) n = 3	Diluyente Concentração média relatada (log ₁₀ UI/mL) n = 6	Diferença
Soro	1:100	8.04 ^a	7.94	-0.09
		8.07 ^a	7.91	-0.16
		7.99 ^a	7.91	-0.08
		8.03 ^a	7.92	-0.11
		7.99 ^a	7.89	-0.09
		8.05 ^a	7.85	-0.20
		8.16 ^a	7.93	-0.23
		8.16 ^a	7.90	-0.26
		8.06 ^a	7.89	-0.17
		8.26 ^a	7.92	-0.34
		7.34	7.09	-0.25
		7.07	6.83	-0.24
		7.18	6.80	-0.38
		7.35 ^b	7.12	-0.23
		7.07	6.68	-0.39

^aAmostra biológica fortificada^bResultado de duas das três repetições testadas. Uma réplica discrepante foi removida.

Confirmação do LLoQ em amostras biológicas clínicas diluídas em diluente de amostras biológicas

O LLoQ do ensaio Aptima HCV Quant foi confirmado com amostras biológicas de HCV, genótipo 1, diluídas em diluente de amostra biológica Aptima. As amostras biológicas foram preparadas em plasma e soro humanos negativos para HCV nas concentrações de 21, 30 e 45 UI/mL. Cada painel foi diluído na proporção de 1:3 em diluente de amostras biológicas Aptima imediatamente antes do teste, para obter concentrações finais de aproximadamente 7, 10 e 15 UI/mL. Trinta e seis (36) réplicas de cada membro do painel foi testado com um lote de reagentes ao longo de três dias. Um LLoQ ≤ 10 UI/mL para plasma e soro com HCV diluídos em diluente de amostras biológicas Aptima foi confirmado conforme mostrado na Tabela 21.

Tabela 21: Confirmação do LLoQ – Amostras clínicas no diluente de amostras biológicas Aptima

Matriz	Concentração alvo (UI/mL)	Concentração alvo (log ₁₀ UI/mL)	% Detectado	Aptima HCV Quant Dx (UI/mL)	Aptima HCV Quant Dx (log ₁₀ UI/mL)	DP (log ₁₀ UI/mL)	Viés (log ₁₀ UI/mL)	TE calculado (log ₁₀ UI/mL)	TAE calculado (log ₁₀ UI/mL)
Plasma	7	0.85	100%	9	0.94	0.25	0.10	0.71	0.60
Soro	7	0.85	100%	9	0.96	0.21	0.12	0.60	0.54

Precisão de amostras diluídas

O painel de precisão Aptima HCV Quant Dx foi construído diluindo plasma clínico positivo para HCV e aRNA do HCV em plasma clínico negativo para HCV. Estas amostras foram posteriormente diluídas em diluente de amostra biológica Aptima. As amostras positivas foram diluídas em diluente de amostras biológicas Aptima. Elas foram testadas em triplicata por execução por um operador, usando um lote piloto de reagentes em um sistema Panther ao longo de 21 dias de teste, com duas execuções por dia.

A Tabela 22 mostra a precisão dos resultados do ensaio (em $\log_{10}$ UI/mL) entre as execuções, entre dias e no geral. A variabilidade total foi ≤ 0.15 entre todos os membros do painel, principalmente devido à variabilidade intra-ensaio (ou seja, erro aleatório).

Tabela 22: Precisão dos painéis diluídos no diluente de amostras biológicas Aptima

Diluição	N	Concentração média ($\log_{10}$ UI/mL)	Desvio padrão			
			Entre dias	Entre execuções	Intra-execução	Total
1:3	126	2.24	0.00	0.05	0.13	0.14
1:100	126	3.86	0.06	0.05	0.12	0.15
1:100	126	7.31	0.03	0.10	0.05	0.12

^a Número de resultados válidos na gama linear do ensaio.

Observação: A variabilidade de alguns fatores pode ser numericamente negativa, o que pode ocorrer se a variabilidade devido a esses fatores for muito pequena. Quando isso ocorre, o DP e o CV são exibidos como 0.

Carryover

Para estabelecer que o sistema Panther minimiza o risco de resultados falso positivos decorrentes da contaminação por carryover, um estudo usando painéis enriquecidos foi realizado em três sistemas Panther. O carryover foi avaliado usando amostras de plasma enriquecidas com aRNA de alta titulação ($7 \log_{10}$ UI/mL) intercaladas entre amostras negativas de HCV em um padrão xadrez. Os testes foram realizados em quinze execuções. A taxa geral de carryover foi de 0.14% (1/704).

Painel de soroconversão

Onze conjuntos de painéis de soroconversão para HCV, totalizando 72 amostras, foram testados. Os resultados do ensaio Aptima HCV Quant Dx foram comparados aos resultados do teste de anticorpos anti-HCV. O número de dias até o primeiro resultado reativo está listado na Tabela 23. O ensaio Aptima HCV Quant Dx detectou a presença do HCV em média 20 dias antes dos testes de anticorpos.

Tabela 23: Resumo dos dados do painel de soroconversão

ID do painel	Número de membros do painel testados	Número de membros do painel reativos			Dias até o primeiro resultado reativo			Diferença em dias até o primeiro resultado reativo (com base na data da coleta)	
		Aptima HCV Quant Dx	Teste de anticorpos anti-HCV1	Teste de anticorpos anti-HCV2	Aptima HCV Quant Dx	Teste de anticorpos anti-HCV1	Teste de anticorpos anti-HCV2	Dias antes do teste de anticorpos anti-HCV1	Dias antes do teste de anticorpos anti-HCV2
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

Tabela 23: Resumo dos dados do painel de soroconversão (continuação)

ID do painel	Número de membros do painel testados	Número de membros do painel reativos			Dias até o primeiro resultado reativo			Diferença em dias até o primeiro resultado reativo (com base na data da coleta)	
		Aptima HCV Quant Dx	Teste de anticorpos anti-HCV1	Teste de anticorpos anti-HCV2	Aptima HCV Quant Dx	Teste de anticorpos anti-HCV1	Teste de anticorpos anti-HCV2	Dias antes do teste de anticorpos anti-HCV1	Dias antes do teste de anticorpos anti-HCV2
PH924	6	6	3	3	0	59	59	59	59
PH925	5	5	1	1	0	27	27	27	27
PH926	5	5	1	0	0	14	14 ^b	14	14
6227	7	4	2	2	42	74	74	32	32
6229	8	8	4	3	0	17	20	17	20
Total	72	66	35	32			Média	19.36	20.73
							Mediana	14	18

O teste de anticorpos anti-HCV1 foi realizado com o ensaio Abbott Prism HCV.

O teste de anticorpos anti-HCV2 foi realizado com o ensaio Ortho Enhanced SAVE, com as seguintes exceções:

Os painéis 6227 e 6229 foram ambos testados com o ensaio Ortho ELISA Anti-HCV 3.0.

^a A primeira coleta de sangue não foi testada devido à indisponibilidade da amostra por parte do fornecedor.

^b Todas as coletas neste painel foram não reativas para o anticorpo anti-HCV. O último dia de coleta foi usado como "Dias até o primeiro resultado reativo".

^c A segunda coleta de sangue não foi testada devido à indisponibilidade da amostra por parte do fornecedor.

Estudo de reprodutibilidade

A reprodutibilidade foi avaliada no sistema Panther em três locais externos nos EUA.

Dois operadores executaram o teste em cada local. Cada operador realizou duas análises por dia, durante três dias, utilizando três lotes de reagentes ao longo dos testes. Cada execução tinha 3 réplicas de cada membro do painel. No total, foram testadas 108 réplicas de cada membro do painel.

A reprodutibilidade foi testada usando membros do painel formados a partir de plasma negativo para HCV. Os membros do painel positivo apresentaram resultado positivo para o genótipo 1, genótipo 2 ou genótipo 3 do HCV. As concentrações de RNA do HCV abrangeram a faixa linear do ensaio.

A Tabela 24 mostra a reprodutibilidade e a precisão dos resultados do ensaio para cada membro positivo do painel entre os locais, entre os operadores, entre os lotes, entre os dias, entre as execuções, nas execuções e no geral, bem como a proporção de réplicas com resultados fora do intervalo reportável do ensaio Aptima HCV Quant Dx.

O coeficiente de variação foi calculado usando a seguinte equação, onde σ^2 é a variância da amostra dos dados após a transformação $\log_{10}$.

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

Para todos os membros do painel HCV negativos, 108 réplicas foram testadas e o RNA para HCV não foi detectado em nenhuma das 108 réplicas (concordância negativa=100%, IC de 95%: 96.6% a 100%). Para todos os membros HCV positivos do painel, os valores de concordância foram 100%.

Tabela 24: Reprodutibilidade dos níveis de RNA de HCV do ensaio Aptima HCV Quant Dx no sistema Panther em membros positivos do painel

GT	N	Média observada		Entre locais	Entre lotes	Entre operadores/Dias ^a	Entre execuções	Nas execuções	Total	Abaixo do LLoQ n (%)	Abaixo do ULQ n (%)
		UI/mL	Log ₁₀ UI/mL	DP (%CV)	DP (%CV)	DP (%CV)	DP (%CV)	DP (%CV)	DP (%CV)		
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)
	108										
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)
	108										
GT	N	Média observada		Entre locais	Entre lotes	Entre operadores/Dias ^a	Entre execuções	Nas execuções	Total	Abaixo do LLoQ n (%)	Abaixo do ULQ n (%)
		UI/mL	Log ₁₀ UI/mL	DP (%CV)	DP (%CV)	DP (%CV)	DP (%CV)	DP (%CV)	DP (%CV)		
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)
	108										

%CV = coeficiente de variação log-normal, GT = genótipo, DP = desvio padrão (log₁₀ UI/mL)

Observação: A variabilidade de alguns fatores poderá ser numericamente negativa. Isso poderá ocorrer se a variabilidade for muito pequena devido a esses fatores. Nesses casos, o DP e o CV serão mostrados como 0.

^a A estimativa “Entre Operadoras” pode ser confundida com a estimativa “Entre Dias”; portanto, as estimativas “Entre Operadoras” e “Entre Dias” são combinadas em “Entre Operadoras/Dias”.

Desempenho clínico

Correlação de métodos

O desempenho do ensaio Aptima HCV Quant Dx foi avaliado em comparação com um ensaio com marcação CE, testando amostras biológicas não diluídas de pacientes infectados com HCV em três sistemas Panther, utilizando quatro lotes de reagentes. Um total de 1058 amostras de plasma e soro (872 de plasma, 186 de soro) de todos os genótipos do HCV dentro da faixa linear comum a ambos os ensaios foram utilizadas para a regressão linear, conforme mostrado na Figura 10.

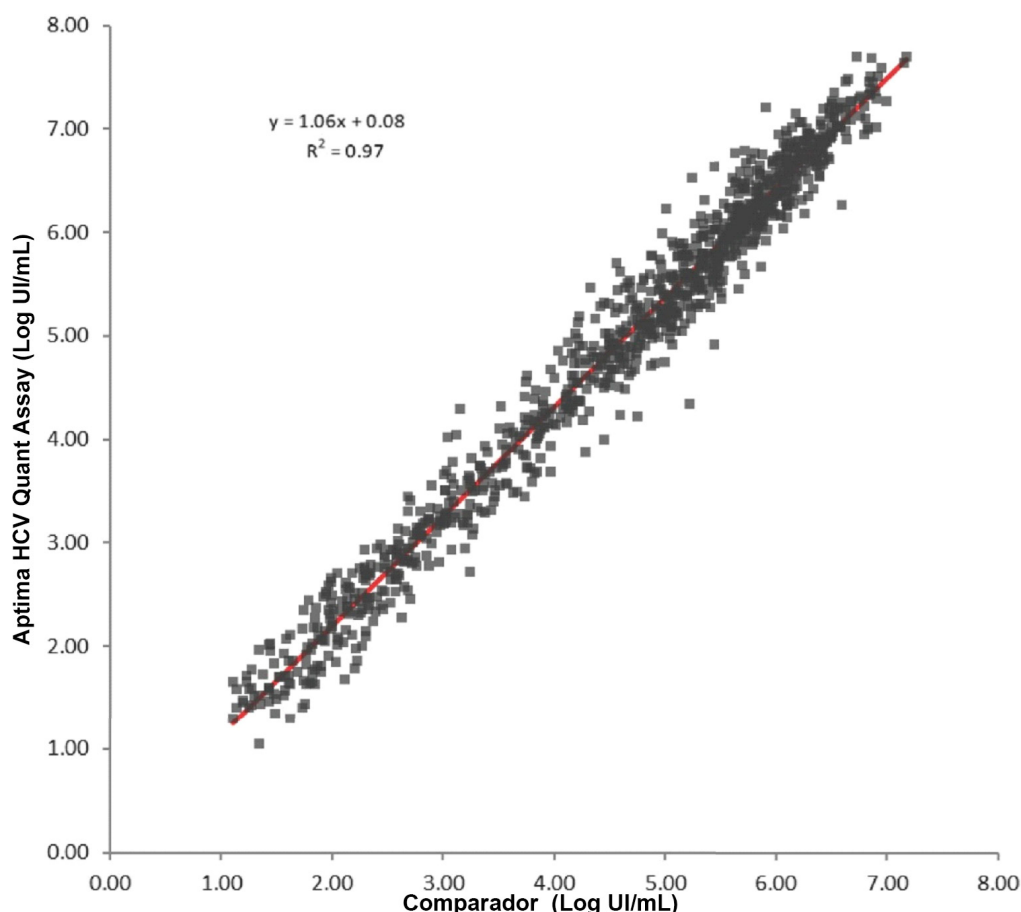


Figura 10. Correlação entre o ensaio Aptima HCV Quant Dx e o ensaio comparador

Estudo de utilidade clínica

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

As amostras biológicas foram coletadas prospectivamente de indivíduos com genótipos 1, 2 e 3, cronicamente infectados com o HCV, que estavam iniciando terapia com tratamentos à base de sofosbuvir de 8, 12 ou 24 semanas, utilizando medicamentos aprovados pelo FDA e prescritos de acordo com a bula aprovada pelo FDA e/ou as diretrizes de tratamento do HCV da AASLD/IDSA.^{20,21} Indivíduos sem tratamento anterior para HCV ou com experiência prévia de tratamento, e indivíduos sem cirrose ou com cirrose compensada, eram elegíveis, conforme aplicável a cada regime de tratamento.

A determinação da carga viral de RNA do HCV foi realizada no início do estudo, na semana 1, na semana 2, na semana 4, na semana 8, na semana 12 e na semana 24, utilizando o ensaio Aptima HCV Quant Dx. Os resultados do fim do tratamento (EOT) e do acompanhamento pós-tratamento nas semanas 4 e 12 foram determinados usando o ensaio Aptima HCV Quant Dx e dois ensaios quantitativos de RNA do HCV aprovados. A RVS foi definida como um nível de RNA do HCV < LLoQ conforme determinado por um ensaio quantitativo aprovado para a amostra da semana 12 pós-tratamento.

Dos 352 participantes inscritos em 35 centros clínicos dos EUA, 274 apresentaram um resultado de RVS conclusivo e foram considerados avaliáveis para análise. 56 indivíduos apresentaram status de RVS não avaliável e não foram incluídos na análise. Outros 22 indivíduos apresentaram resultados conclusivos de RVS, mas não puderam ser avaliados devido à falta de resultados pré-tratamento/basais, todos os resultados durante o tratamento abaixo < LLoQ ou não detectados, ou genótipos não estabelecidos com um ensaio aprovado. Neste estudo, 90.5% (248/274) dos participantes alcançaram RVS e 9.5% (26/274) alcançaram resposta virológica não sustentada (RVNS) (consulte Tabela 31 a Tabela 33 para ver as contagens por genótipo e DRA). A carga viral basal mais alta foi de 7.58 log₁₀ UI/mL, conforme determinado pelo ensaio Aptima HCV Quant Dx. Todos os participantes avaliáveis concluíram a terapia, sem falhas durante o tratamento (por exemplo, falta de resposta). Um total de 2449 amostras coletadas em diferentes momentos de cada indivíduo foram testadas em três locais de teste nos EUA.

Tabela 25 Apresenta os dados demográficos e as características clínicas dos 274 participantes avaliáveis.

Tabela 25: Dados demográficos e características clínicas

Características		
Total	N	274
Gênero	Feminino, n (%)	112 (40.9)
	Masculino, n (%)	162 (59.1)
Idade (anos)	n	274
	Média	55.1
	Mediana	56.0
	DP	10.40
	Mínimo	23
	Máximo	83
	21-49, n (%)	61 (22.3)
	50-70, n (%)	203 (74.1)
	>70, n (%)	10 (3.6)
Etnia	n	274
	Hispanico ou latino, n (%)	65 (23.7)
	Não hispanico ou latino, n (%)	202 (73.7)
	Desconhecido, n (%)	6 (2.2)
	Recusado, n (%)	1 (0.4)
Raça ^a	n	274
	Branco, n (%)	223 (81.4)
	Negro ou afro-americano, n (%)	43 (15.7)
	Asiáticos, n (%)	1 (0.4)
	Indígenas americanos/nativos do Alasca, n (%)	3 (1.1)
	Nativo havaiano/das ilhas do Pacífico, n (%)	0 (0.0)
	Outros, n (%)	3 (1.1)
	Desconhecido, n (%)	1 (0.4)
	Recusado, n (%)	0 (0.0)

Tabela 25: Dados demográficos e características clínicas (continuação)

Características		
Genótipo	n	274
	Genótipo 1, n (%)	158 (57.7)
	Genótipo 2, n (%)	66 (24.1)
	Genótipo 3, n (%)	50 (18.2)
Status do tratamento do HCV	n	274
	Nunca tratados, n (%)	232 (84.7)
	Já tratados, n (%)	42 (15.3)
	Recaída, n (%)	32 (76.2)
	Resposta nula, n (%)	1 (2.4)
	Não respondentes, n (%)	2 (4.8)
	Resposta parcial, n (%)	3 (7.1)
	Avanço, n (%)	1 (2.4)
	Rebote, n (%)	0 (0.0)
	Resposta ao tratamento desconhecida, n (%)	3 (7.1)
	Ausentes, n (%)	0 (0.0)
Status cirrótico	n	274
	Cirrótico, n (%)	98 (35.8)
	Não cirrótico, n (%)	176 (64.2)

^a Os participantes podem relatar pertencer a múltiplas raças

Tabela 26 A tabela mostra a atribuição final do regime medicamentoso para os 274 indivíduos avaliáveis.

Tabela 26: Resumo da atribuição final do regime medicamentoso dos participantes por genótipo

Atribuição do regime medicamentoso	Genótipo HCV n (%)		
	1	2	3
Sofosbuvir, Peginterferona e Ribavirina por 12 semanas	25 (15.8)	-	3 (6.0)
Sofosbuvir e Simeprevir e/ou Ribavirina por 12 semanas	63 (39.9)	-	-
Sofosbuvir e Simeprevir e/ou Ribavirina por 24 semanas	4 (2.5)	-	-
Sofosbuvir e Ribavirina por 12 semanas	-	66 (100)	-
Sofosbuvir e Ribavirina por 24 semanas	6 (3.8)	-	47 (94.0)
Ledipasvir e Sofosbuvir por 8 semanas	14 (8.9)	-	-
Ledipasvir e Sofosbuvir por 12 semanas	39 (24.7)	-	-
Ledipasvir e Sofosbuvir por 24 semanas	7 (4.4)	-	-
Total de participantes elegíveis	158	66	50

A Tabela 27 avalia a associação entre covariáveis basais (idade, raça, sexo, carga viral basal do HCV [variável binária] e estado cirrótico) e a RVS usando a razão de probabilidade (OR) com análise de regressão logística univariada (não ajustada). Os resultados dos 274 indivíduos avaliáveis foram analisados de acordo com o genótipo do HCV. Para os genótipos 1 e 2, os indivíduos cirróticos apresentaram menor probabilidade de alcançar a RVS (OR=0.16 [IC de Wald de 95%: 0.04 a 0.63], P=0.009 e OR=0.13 [IC de Wald de 95%: 0.02 a 0.70], P=0.017, respectivamente). Os valores do IC de 95% para as demais covariáveis dos genótipos 1 e 2, e para todas as covariáveis do genótipo 3, incluíram o valor 1 e não foram estatisticamente significativos.

Tabela 27: Avaliação dos preditores basais de RVS no início do estudo

GT	Categoria	N	Agrupamento	N(%)	Percentual de participantes que alcançaram a RVS	Razão de probabilidade (IC de Wald de 95%) Utilizando análise de LR univariada	Valor de P
1	Idade	158	≥ 40 anos	146 (92.4)	91.8	0 [0 – ∞)	Não calculável
			< 40 anos	12 (7.6)	100		
	Gênero	158	Masculino	92 (58.2)	90.2	0.44 (0.11 - 1.69)	0.231
			Feminino	66 (41.8)	95.5		
	Raça	158	Branco	116 (73.4)	94.0	2.10 (0.63 - 7.03)	0.227
			Não branco	42 (26.6)	88.1		
	Carga viral basal de RNA do HCV ^a	156	> 740,000 UI/mL	111 (71.2)	92.8	1.26 (0.36 - 4.40)	0.721
			≤ 740,000 UI/mL	45 (28.8)	91.1		
2	Status cirrótico	158	Cirrótico	57 (36.1)	84.2	0.16 (0.04 - 0.63)	0.009
			Não cirrótico	101 (63.9)	97.0		
	Idade	66	≥ 40 anos	60 (90.9)	88.3	1.51 (0.15 - 14.91)	0.722
			< 40 anos	6 (9.1)	83.3		
	Gênero	66	Masculino	36 (54.5)	86.1	0.69 (0.15 - 3.15)	0.631
			Feminino	30 (45.5)	90.0		
	Raça	66	Branco	61 (92.4)	86.9	0 [0 – ∞)	Não calculável
			Não branco	5 (7.6)	100		
3	Carga viral basal de RNA do HCV	66	> 740,000 UI/mL	44 (66.7)	84.1	0.25 (0.03 - 2.19)	0.211
			≤ 740,000 UI/mL	22 (33.3)	95.5		
	Status cirrótico	66	Cirrótico	22 (33.3)	72.7	0.13 (0.02 - 0.70)	0.017
			Não cirrótico	44 (66.7)	95.5		
	Idade	50	≥ 40 anos	44 (88.0)	86.4	0 [0 – ∞)	NC
			< 40 anos	6 (12.0)	100		
	Gênero	50	Masculino	34 (68.0)	85.3	0.39 (0.04 - 3.62)	0.405
			Feminino	16 (32.0)	93.8		
3	Raça	50	Branco	46 (92.0)	87.0	0 [0 – ∞)	Não calculável
			Não branco	4 (8.0)	100		
	Carga viral basal de RNA do HCV ^a	49	> 740,000 UI/mL	30 (61.2)	83.3	0.28 (0.03 - 2.59)	0.261
			≤ 740,000 UI/mL	19 (38.8)	94.7		
	Status cirrótico	50	Cirrótico	19 (38.0)	78.9	0.26 (0.04 - 1.58)	0.143
			Não cirrótico	31 (62.0)	93.5		

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

^aA covariável de carga viral basal de RNA do HCV não inclui indivíduos que não forneceram uma carga viral quantitativa de RNA do HCV antes do início da terapia.

Resposta à terapia antiviral

As características de desempenho do ensaio foram estabelecidas para indivíduos tratados com determinados regimes de DAA. Não há informações disponíveis sobre o valor preditivo do ensaio quando outras terapias combinadas com DAA são utilizadas.

Definições:

Carga viral (VL) na semana 1 = RNA do HCV < LLoQ = 10 UI/mL na semana 1 de terapia antiviral

VL na semana 2 = RNA do HCV < LLoQ = 10 UI/mL na semana 2 de terapia antiviral

VL na semana 4 = RNA do HCV < LLoQ = 10 UI/mL na semana 4 de terapia antiviral

VL na semana 8 = RNA do HCV < LLoQ = 10 UI/mL na semana 8 de terapia antiviral

VL na semana 8 (EOT): RNA do HCV < LLoQ na semana 8 de terapia antiviral

VL na semana 12 = RNA do HCV < LLoQ = 10 UI/mL na semana 12 de terapia antiviral

VL na semana 12 (EOT): RNA do HCV < LLoQ na semana 12 de terapia antiviral

VL na semana 24 (EOT): RNA do HCV < LLoQ na semana 24 de terapia antiviral

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

A Tabela 28 e a Tabela 29 mostram a frequência de RVS e de não resposta, respectivamente, por genótipo e regime medicamentoso, no geral, e para pacientes cirróticos, não cirróticos, sem tratamento prévio e com experiência prévia de tratamento. A maioria dos participantes alcançou RVS em todos os genótipos: 92.4% genótipo 1, 87.9% genótipo 2 e 88.0% genótipo 3. Em todos os genótipos, as taxas de RVS foram geralmente mais altas em indivíduos não cirróticos do que em indivíduos cirróticos, e semelhantes entre indivíduos sem tratamento prévio e indivíduos com experiência prévia de tratamento.

Tabela 28: Frequência de RVS por genótipo e regime medicamentoso

GT	DRA	Participantes responsivos à SVR n (%)				
		Total	Cirrótico	Não cirrótico	Sem tratamento anterior	Com tratamento anterior
1	Ledipasvir e Sofosbuvir por 8 semanas	13/14 (92.9)	N/A	13/14 (92.9)	13/14 (92.9)	N/A
	Ledipasvir e Sofosbuvir por 12 semanas	39/39 (100)	9/9 (100)	30/30 (100)	34/34 (100)	5/5 (100)
	Ledipasvir e Sofosbuvir por 24 semanas	6/7 (85.7)	6/7 (85.7)	N/A	N/A	6/7 (85.7)
	Sofosbuvir, Peginterferona e Ribavirina por 12 semanas	24/25 96.0)	7/7 (100)	17/18 (94.4)	22/23 (95.7)	2/2 (100)
	Sofosbuvir e Ribavirina por 24 semanas	6/6 (100)	1/1 (100)	5/5 (100)	5/5 (100)	1/1 (100)
	Sofosbuvir e Simeprevir e/ou Ribavirina por 12 semanas	54/63 (85.7)	21/29 (72.4)	33/34 (97.1)	45/54 (83.3)	9/9 (100)
	Sofosbuvir e Simeprevir e/ou Ribavirina por 24 semanas	4/4 (100)	4/4 (100)	N/A	2/2 (100)	2/2 (100)
2	Sofosbuvir e Ribavirina por 12 semanas	58/66 (87.9)	16/22 (72.7)	42/44 (95.5)	53/60 (88.3)	5/6 (83.3)
3	Sofosbuvir, Peginterferona e Ribavirina por 12 semanas	3/3 (100)	3/3 (100)	N/A	1/1 (100)	2/2 (100)
	Sofosbuvir e Ribavirina por 24 semanas	41/47 (87.2)	12/16 (75.0)	29/31 (93.5)	35/39 (89.7)	6/8 (75.0)

DRA = atribuição do regime medicamentoso, GT = genótipo, N/A = o regime medicamentoso não se aplica a este grupo de pacientes.

Tabela 29: Frequência de não resposta à RVS por genótipo e regime medicamentoso

GT	DRA	Participantes não responsivos à SVR n (%)				
		Total	Cirrótico	Não cirrótico	Sem tratamento anterior	Com tratamento anterior
1	Ledipasvir e Sofosbuvir por 8 semanas	1/14 (7.1)	N/A	1/14 (7.1)	1/14 (7.1)	N/A
	Ledipasvir e Sofosbuvir por 12 semanas	0/39 (0.0)	0/9 (0.0)	0/30 (0.0)	0/34 (0.0)	0/5 (0.0)
	Ledipasvir e Sofosbuvir por 24 semanas	1/7 (14.3)	1/7 (14.3)	N/A	N/A	1/7 (14.3)
	Sofosbuvir, Peginterferona e Ribavirina por 12 semanas	1/25 (4.0)	0/7 (0.0)	1/18 (5.6)	1/23 (4.3)	0/2 (0.0)
	Sofosbuvir e Ribavirina por 24 semanas	0/6 (0.0)	0/1 (0.0)	0/5 (0.0)	0/5 (0.0)	0/1 (0.0)
	Sofosbuvir e Simeprevir e/ou Ribavirina por 12 semanas	9/63 (14.3)	8/29 (27.6)	1/34 (2.9)	9/54 (16.7)	0/9 (0.0)
	Sofosbuvir e Simeprevir e/ou Ribavirina por 24 semanas	0/4 (0.0)	0/4 (0.0)	N/A	0/2 (0.0)	0/2 (0.0)
2	Sofosbuvir e Ribavirina por 12 semanas	8/66 (12.1)	6/22 (27.3)	2/44 (4.5)	7/60 (11.7)	1/6 (16.7)
3	Sofosbuvir, Peginterferona e Ribavirina por 12 semanas	0/3 (0.0)	0/3 (0.0)	N/A	0/1 (0.0)	0/2 (0.0)
	Sofosbuvir e Ribavirina por 24 semanas	6/47 (12.8)	4/16 (25.0)	2/31 (6.5)	4/39 (10.3)	2/8 (25.0)

DRA = atribuição do regime medicamentoso, GT = genótipo, N/A = o regime medicamentoso não se aplica a este grupo de pacientes.

A Tabela 30 mostra a porcentagem de indivíduos com resposta virológica (definida como resultados do ensaio Aptima HCV Quant Dx < LLoQ) para cada genótipo e regime medicamentoso atribuído em cada visita semanal durante e após o tratamento. A maioria dos participantes alcançou a RVS na semana 4, independentemente do genótipo, e todos os participantes alcançaram a RVS na semana 8.

Tabela 30: Probabilidade de alcançar RVS durante as semanas de tratamento e pós-tratamento

GT	DRA	N	RVS Responsivo % (n)	RVS não responsiva % (n)	Percentual de pacientes com resposta virológica por consulta ^a n (%)						
					Semanas					EOT	PT04
					1	2	4	8	12		
1	LDV + SOF (8 semanas)	14	92.9 (13/14)	7.1 (1/14)	42.9 (6/14)	76.9 (10/13)	100 (14/14)	N/A	N/A	100 (14/14)	90 (9/10)
	LDV + SOF (12 semanas)	39	100 (39/39)	0.0 (0/39)	11.1 (4/36)	52.6% (20/38)	92.1 (35/38)	100 (36/36)	N/A	100 (39/39)	100 (33/33)
	LDV + SOF (24 semanas)	7	85.7 (6/7)	14.3 (1/7)	0.0 (0/6)	42.9 (3/7)	71.4 (5/7)	100 (7/7)	100 (7/7)	100 (6/6)	80 (4/5)
	SOF+PEG+RBV (12 semanas)	25	96.0 (24/25)	4.0 (1/25)	40.0 (10/25)	80.0 (20/25)	100 (25/25)	100 (25/25)	N/A	100 (25/25)	100 (25/25)
	SOF+RBV (24 semanas)	6	100 (6/6)	0.0 (0/6)	16.7 (1/6)	66.7 (4/6)	83.3 (5/6)	100 (5/5)	100 (6/6)	100 (5/5)	100 (6/6)
	SOF+SIM+RBV (12 semanas)	63	85.7 (54/63)	14.3 (9/63)	20.7 (12/58)	67.9 (38/56)	98.4 (62/63)	100 (57/57)	N/A	96.6 (57/59)	90.0 (54/60)
	SOF+SIM+RBV (24 semanas)	4	100 (4/4)	0.0 (0/4)	66.7 (2/3)	66.7 (2/3)	100 (4/4)	100 (3/3)	100 (3/3)	100 (4/4)	100 (4/4)
2	SOF+RBV (12 semanas)	66	87.9 (58/66)	12.1 (8/66)	22.2 (12/54)	69.4 (43/62)	95.4 (62/65)	100 (64/64)	N/A	98.5 (64/65)	93.5 (58/62)
3	SOF+PEG+RBV (12 semanas)	3	100 (3/3)	0.0 (0/3)	33.3 (1/3)	100 (2/2)	100 (3/3)	100 (2/2)	N/A	100 (3/3)	100 (3/3)
	SOF+RBV (24 semanas)	47	87.2 (41/47)	12.8 (6/47)	20.9 (9/43)	70.5 (31/44)	100 (46/46)	100 (46/46)	100 (47/47)	100 (42/42)	89.1 (41/46)

DRA = atribuição do regime medicamentoso, EOT = fim do tratamento, N/A = não aplicável porque a consulta corresponde ao fim do tratamento para o tratamento em questão ou está fora do período de tratamento, PT04 = semana 4 pós-tratamento

^a Resposta viral durante e após o tratamento definida como < 10 UI/mL.

Observação: O EOT não está incluído na semana de tratamento.

Para os indivíduos com genótipo 1, 95.5% (150/157) dos indivíduos avaliados apresentaram respostas virais durante o tratamento na semana 4. Os 7 indivíduos com genótipo 1 que não responderam até a semana 4 (3 indivíduos tratados com LDV + SOF [12 semanas], 2 indivíduos tratados com LDV + SOF [24 semanas], 1 indivíduo tratado com SOF + RBV [24 semanas] ou SOF + SIM ± RBV [12 semanas]) apresentaram respostas virais durante o tratamento na semana 8. Dois (2) pacientes tratados com SOF + SIM ± RBV (12 semanas) apresentaram recidiva até o final do tratamento, e 6 (1 paciente tratado com LDF + SOF [8 semanas], 1 paciente tratado com LDF + SOF [24 semanas] e 4 pacientes tratados com SOF + SIM ± RBV [12 semanas]), apresentaram recidiva até a semana 4 pós-tratamento.

Para indivíduos com genótipo 2, 95.4% (62/65) dos indivíduos avaliados apresentaram respostas virais durante o tratamento na semana 4. Os 3 indivíduos com genótipo 2 que não apresentaram resposta até a semana 4 apresentaram resposta viral durante o tratamento na semana 8. Um (1) indivíduo tratado com SOF + RBV (12 semanas) apresentou recidiva ao final do tratamento, e 4 indivíduos com a mesma atribuição de regime de medicamentos apresentaram recidiva na semana 4 pós-tratamento.

Para os indivíduos com genótipo 3, 100% (49/49) dos indivíduos avaliados apresentaram resposta viral durante o tratamento na semana 4. Nenhum (0) paciente apresentou recidiva até o final do tratamento, e 5 pacientes tratados com SOF + RBV (24 semanas) apresentaram recidiva até a semana 4 pós-tratamento.

Com base nos resultados deste estudo, o ensaio Aptima HCV Quant Dx pode ser utilizado como auxílio no manejo de pacientes infectados com HCV submetidos à terapia antiviral baseada em sofosbuvir e pode ser usado para determinar a RVS e a não resposta. Os resultados do ensaio podem ser usados para medir quantitativamente os níveis de RNA do HCV no plasma humano, tanto no início do estudo quanto durante o tratamento.

Estudo de utilidade diagnóstica

A sensibilidade foi avaliada em 338 indivíduos com anticorpos anti-HCV positivos, provenientes de uma população de alto risco. A Tabela 31 apresenta as características demográficas e clínicas do sujeito.

Tabela 31: Características demográficas e clínicas em indivíduos com anticorpos anti-HCV positivos

Características		
Total	N	338
Gênero	Feminino, n (%)	80 (23.7)
	Masculino, n (%)	258 (76.3)
Idade (anos)	Média	48.2
	Mediana	51.0
	DP	11.01
	<21, n (%)	2 (0.6)
	21-49, n (%)	152 (45.0)
	50-70, n (%)	182 (53.8)
	>70, n (%)	2 (0.6)
Raça/Etnia ^a	Brancos, n (%)	86 (25.4)
	Negros, n (%)	118 (34.9)
	Asiáticos, n (%)	1 (0.3)
	Hispanicos, n (%)	123 (36.4)
	Etnias mistas, n (%)	4 (1.2)
	Outros, n (%)	10 (3.0)
	Desconhecido, n (%)	0 (0.0)
Fatores de risco ^b	Uso de drogas injetáveis, n (%)	294 (87.0)
	Pacientes que receberam fatores de coagulação fabricados antes de 1990, n (%)	0 (0.0)
	Diagnosticados/tratados para hepatite, n (%)	172 (50.9)
	Diagnosticados/tratados para HIV, n (%)	13 (3.8)
	Histórico de encarceramento, n (%)	311 (92.0)
	Recebeu transfusão de sangue ou componentes sanguíneos, n (%)	39 (11.5)
	Recebeu um transplante, n (%)	0 (0.0)
	Hemodiálise, n (%)	3 (0.9)
	Níveis de ALT persistentemente elevados, n (%)	2 (0.6)
	Nascidos entre 1945 e 1965, n (%)	192 (56.8)
Status de infecção por HCV	RNA do HCV positivo, n (%)	259 (76.6)
	RNA do HCV negativo, n (%)	79 (23.4)

ALT = alanina aminotransferase, HIV = vírus da imunodeficiência humana

^a Podem relatar múltiplas raças

^b Podem apresentar múltiplos fatores de risco.

As amostras biológicas foram testadas com um teste qualitativo aprovado para RNA do HCV, um teste aprovado para anticorpos anti-HCV e o ensaio Aptima HCV Quant Dx. O estudo incluiu 338 indivíduos com anticorpos reativos ao HCV. De acordo com as diretrizes atuais da AASLD, um NAAT aprovado pela FDA com um nível de detecção de 25 UI/mL ou inferior²⁰ deve ser utilizado para confirmar um estado positivo de infecção pelo HCV após um resultado reativo no teste de anticorpos anti-HCV. A concordância entre o estado de infecção do paciente e os resultados do ensaio Aptima HCV Quant Dx foi determinada usando um corte de 25% UI/mL. Amostras biológicas < 25 UI/mL foram consideradas “não detectadas” e amostras biológicas com resultados ≥ 25 UI/mL foram consideradas “detectadas”. Consulte Tabela 32.

Os resultados do ensaio Aptima HCV Quant Dx foram comparados ao estado de infecção do paciente com base nos resultados de testes de anticorpos anti-HCV aprovados e nos resultados de testes qualitativos de RNA aprovados. O estado de infecção do paciente foi considerado positivo para HCV se ambos os resultados, o do teste de anticorpos anti-HCV aprovado e o do teste qualitativo aprovado, apresentassem resultados reativos. O estado de infecção do paciente foi considerado negativo para HCV se o teste de anticorpos anti-HCV aprovado apresentasse um resultado não reagente.

Dos 338 indivíduos com resultados reativos para anticorpos anti-HCV, 256 foram detectados pelo ensaio Aptima HCV Quant Dx (% concordância positiva = 98.8%). Dos três indivíduos com RNA do HCV quantificado abaixo de 25 UI/mL ou não detectado, dois apresentaram resultado detectado, mas não quantificado (RNA do HCV < 10 UI/mL) e um indivíduo apresentou um resultado quantitativo de RNA do HCV de 12 UI/mL.

Tabela 32: Concordância entre os resultados do ensaio Aptima HCV Quant Dx e o estado de infecção do paciente usando um ponto de corte de 25 UI/mL

Aptima HCV Quant Dx Resultado do ensaio	Status do paciente infectado		Total
	Positivo para HCV	Negativo para HCV	
RNA do HCV quantificado em níveis iguais ou superiores a 25 UI/mL	256	0	256
RNA do HCV quantificado ou detectado abaixo de 25 UI/mL ou não detectado	3 ^a	79	82
Total	259	79	338
% de concordância positiva (Pontuação do IC de 95%)	98.8 (96.7-99.6)	N/A	N/A
% de concordância negativa (Pontuação do IC de 95%)	N/A	100 (95.4-100)	N/A

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

^a O ensaio Aptima HCV Quant Dx detectou, mas não quantificou o RNA do HCV (<10 UI/mL) em dois indivíduos, e o terceiro indivíduo apresentou RNA do HCV quantificado em 12 UI/mL.

Este estudo demonstra a utilidade clínica do ensaio Aptima HCV Quant Dx para diagnosticar corretamente indivíduos com infecção ativa por RNA do HCV e para distingui-los de indivíduos com infecções inativas em uma população com exposição prévia ao HCV (sorologia positiva para anticorpos anti-HCV).

Reatividade cruzada em indivíduos com doença hepática não relacionada ao HCV

Foram obtidas amostras de soro e plasma (n=214) de indivíduos com outras doenças hepáticas (em que a infecção ativa pelo HCV não foi indicada como causa subjacente). As amostras foram testadas com um teste anti-HCV aprovado e um teste qualitativo de RNA do HCV aprovado para confirmar que as amostras eram negativas para o HCV. Dezesete (17) amostras positivas para HCV (com resultados positivos para anti-HCV e/ou resultados reativos no teste qualitativo de RNA do HCV) e três amostras inelegíveis foram excluídas. O ensaio Aptima HCV Quant Dx foi realizado internamente com três lotes de kits de reagentes. A Tabela 33 mostra os dados demográficos e o estado da doença hepática dos 194 indivíduos avaliáveis.

Tabela 33: Características demográficas dos participantes e estado da doença hepática

Características		Todos
Total	N	194
	n	193
Gênero	Feminino, n (%)	116 (60.1)
	Masculino, n (%)	77 (39.9)
	n	194
Idade (anos)	Média	55.2
	Mediana	56.0
	DP	12.19
	Mínimo	25
	Máximo	82
	21-49, n (%)	60 (30.9)
	50-70, n (%)	114 (58.8)
	>70, n (%)	20 (10.3)
	n	194
Etnia	Hispanico ou latino, n (%)	9 (4.6)
	Não hispanico ou latino, n (%)	147 (75.8)
	Desconhecido, n (%)	38 (19.6)
	Recusado, n (%)	0 (0.0)
Raça ^a	n	194
	Branços, n (%)	122 (62.9)
	Negro ou afro-americano, n (%)	20 (10.3)
	Asiáticos, n (%)	17 (8.8)
	Indígenas americanos/nativos do Alasca, n (%)	0 (0.0)
	Nativo havaiano/das ilhas do Pacífico, n (%)	1 (0.5)
	Outros, n (%)	34 (17.5)
	Desconhecido, n (%)	2 (1.0)
	Recusado, n (%)	0 (0.0)
Doença hepática ^b	n	194
	Hepatite autoimune, n (%)	31 (16.0)
	Doença hepática alcoólica, n (%)	51 (26.3)
	HBV crônico, n (%)	34 (17.5)
	Cirrose biliar primária, n (%)	37 (19.1)
	NASH, n (%)	39 (20.1)
	Múltiplas doenças hepáticas relatadas, n (%)	2 (1.0)

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

^a Os participantes podiam relatar múltiplas raças.

^b Participantes com múltiplas doenças hepáticas relataram tanto hepatite autoimune quanto cirrose biliar primária.

A Tabela 34 mostra a especificidade do ensaio Aptima HCV Quant Dx por doença hepática e a distribuição dos resultados do ensaio Aptima HCV Quant Dx entre as categorias de carga viral. A especificidade foi de 100% em indivíduos com hepatite B crônica (HBV), cirrose biliar primária, esteato-hepatite não alcoólica (NASH) e múltiplas doenças hepáticas relatadas. O RNA do HCV foi detectado em níveis muito baixos em 1 indivíduo com hepatite autoimune (< 10 UI/mL) e 4 indivíduos com doença hepática alcoólica (< 10 UI/mL para 3 indivíduos e 16 UI/mL para 1 indivíduo). Um dos 5 indivíduos apresentou RNA do HCV detectado por um ensaio quantitativo de HCV aprovado.

Tabela 34: Especificidade do ensaio Aptima HCV Quant Dx e resultados de distribuição em indivíduos com doenças hepáticas não relacionadas ao HCV, negativos para anticorpos e RNA do HCV

Doença hepática	Especificidade (%) IC de 95% ^a	Não detectado	<10 UI/mL	10 a < 25 UI/mL	25 a 100,000,000 UI/mL	>100,000,000 UI/mL	Total
Hepatite autoimune	96.8 (83.8-99.4)	30 (96.8)	1 (3.2)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	31
Doença hepática alcoólica	92.2 (81.5-96.9)	47 (92.2)	3 (5.9) ^b	1 (2.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	51
HBV crônico	100 (89.8-100)	34 (100)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	34
Cirrose biliar primária	100 (90.6-100)	37 (100)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	37
NASH	100 (91.0-100)	39 (100)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	39
Múltiplas doenças hepáticas ^c	100 (34.2-100)	2 (100)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2
Total	97.4 (94.1-98.9)	189 (97.4)	4 (2.1)	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	194

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

^a Pontuação do IC.

^b Um dos participantes apresentou RNA do HCV detectado por um ensaio quantitativo de HCV aprovado pela FDA.

^c Os pacientes apresentavam tanto hepatite autoimune quanto cirrose biliar primária.

Bibliografia

1. Averhoff FM, Glass N and Holtzman D. Global Burden of Hepatitis C: Considerations for Healthcare Providers in the United States. *Clinical Infectious Diseases* 2012; 55 (S1): S10-15.
2. Zalesak M, Francis K, Gedeon A, et al. Current and Future Disease Progression of the Chronic HCV Population in the United States. *PLoS One*. 2013 May 21;8(5):e63959
3. Engle RE, Bukh J, Alter HJ et al., Transfusion-associated hepatitis before the screening of blood for hepatitis risk factors. *Transfusion*. 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 Gastroenterology* 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., Kottlil, S. Utility of Hepatitis C Viral Load Monitoring on Directly Acting Antiviral Therapy. *Clinical Infectious Diseases*, 2015.
11. Kohli, A., Shaffer, A., Sherman, A., Kottlil, S. Treatment of hepatitis C: a systematic review. *JAMA*, 2014.
12. AASLD. Recommendations for Testing, Managing, and Treating Hepatitis C. 2015. Published on hcvguidelines.org, accessed Feb 11, 2016.
13. Simmons, B., Saleem, J., Heath, K., Cooke, G., Hill, A. Long-term treatment outcomes of patients infected with Hepatitis C virus: a systematic review and meta-analysis of the survival benefit of achieving a Sustained Virological Response. *Clinical Infectious*. 2015 Sep 1;61(5):730-40.
14. **Clinical and Laboratory Standards Institute**. 2005. Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods; Approved Guideline. CLSI Document MM13-A. Wayne, PA.
15. **29 CFR Part 1910.1030**. Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens; current version.
16. **Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health**. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL); versão atual.
17. **Clinical and Laboratory Standards Institute**. 2002. Clinical Laboratory Waste Management. CLSI Document GP5-A2. Villanova, PA.
18. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)**. 2012. Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline—Second Edition. CLSI Document EP17-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
19. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)**. 2003. Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline. CLSI document EP06-A. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
20. AASLD/IDSA. Recommendations for testing, managing, and treating hepatitis C. AASLD and IDSA. <http://www.hcvguidelines.org/fullreport>. Updated 21 March 2014. Accessed 01 March 2016.
21. AASLD/IDSA HCV Guidance Panel. Hepatitis C Guidance: AASLD-IDSA recommendations for testing, managing, and treating adults infected with hepatitis C virus. *Hepatology*. 2015;62(3):932-954.

Informações de contato e histórico de revisões



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



Hologic BV
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

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

Para suporte técnico específico do país e endereço de e-mail e número de telefone do serviço de atendimento ao cliente, visite www.hologic.com/support.

Incidentes graves que ocorram em relação ao dispositivo na União Europeia devem ser reportados ao fabricante e à autoridade competente do Estado-Membro em que o usuário e/ou o paciente estão estabelecidos.

Hologic, Aptima, Panther, Panther Fusion e logotipos associados são marcas comerciais ou marcas registradas da Hologic, Inc. e/ou de suas subsidiárias nos Estados Unidos e/ou em outros países.

Armored RNA é uma marca comercial da Asuragen, Inc.

Todas as outras marcas comerciais que possam aparecer neste folheto informativo são propriedade dos seus respectivos proprietários.

Este produto pode estar protegido por uma ou mais patentes dos EUA indicadas em www.hologic.com/patents.

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

AW-28216-2301 Rev. 001

2025-12

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