Test Aptima® HCV Quant Dx

Instrucțiuni de utilizare
Utilizare pentru diagnosticare *in vitro*
Numai pentru export în SUA

Informații generale 2
Utilizare prevăzută 2
Rezumatul și explicația testării 2
Principiile procedurii 3
Rezumat al siguranței și performanțelor 4
Avertismente și precauții 4
Cerințe privind depozitarea și manipularea reactivilor 7
Recoltarea și depozitarea eșantioanelor 9
Mostre pe sistemul Panther 12
Transportul eșantioanelor 12
Sistem Panther 13
Reactivi și materiale furnizate 13
Materiale necesare dar disponibile separat 15
Materiale opționale 16
Procedura de testare cu sistemul Panther 16
Note procedurale 20
Controlul calității 21
Calibrarea testului 21
Controale negative și pozitive 21
Calibrator intern/Control intern 21
Interpretarea rezultatelor 22
Limitări 23
Performanțe analitice 24
Limita de detecție (LoD) utilizând AI doilea standard internațional al OMS 24
Limita de detecție la nivelul genotipurilor de HCV 24
Intervalul liniar 25
Liniaritatea la nivelul genotipurilor de HCV 26
Limita inferioară de cuantificare utilizând AI doilea standard internațional al OMS 27
Determinarea limitei inferioare de cuantificare (LLoQ) la nivelul genotipurilor de HCV 28
Trasabilitatea la standardul OMS 30
Precizie 31
Substanțe potențial interferente 31
Performanțe cu eșantioane negative la HCV 33
Specificitatea analitică 34
Mostre clinice conținând virusuri diferite de HCV 35
Echivalența matricei 35
Diluarea mostrelor utilizând diluantul pentru eșantioane Aptima (1:3) 36
Diluarea mostrelor utilizând diluantul pentru eșantioane Aptima (1:100) 37
Confirmarea LLoQ-ului în eșantioane clinice diluate în diluant pentru eșantioane 38
Precizia mostrelor diluate 39
Transferul (Carryover-ul) 39
Panelul de seroconversie 40
Studiul de reproducibilitate 40
Performanțe clinice 42
Corelația metodelor 42
Studiul de utilitate clinică 43
Răspunsul la terapia antivirală 47
Studiul de utilitate diagnostică 50
Reactivitatea încrucișată la subiecți cu boli hepatice care nu sunt legate de HCV 52
Bibliografie 54
Contact Information and Revision History 55

Informații generale

Utilizare prevăzută

Testul Aptima® HCV Quant Dx este un test de amplificare mediată prin transcripție în timp real. Acest test este utilizat pentru detectarea și cuantificarea ARN-ului virusului hepatitei C (HCV) în serul și plasma umane proaspete și congelate de la persoane infectate cu HCV.

Plasma poate fi preparată în acid etilendiaminotetraacetic (EDTA), soluție anticoagulantă de citrat dextroză (ACD) și tuburi pentru prepararea plasmei (PPT). Serul poate fi preparat în tuburi pentru ser și tuburi separatoare de ser (SST). Eșantioanele sunt testate utilizând sistemul Panther™ pentru procesarea, amplificarea, detectarea și cuantificarea automatizate ale eșantioanelor. Eșantioanele care conțin genotipurile de HCV de la 1 la 6 sunt validate pentru detectare și cuantificare în test.

Testul Aptima HCV Quant Dx este indicat pentru utilizare ca ajutor în diagnosticarea infecției cu HCV. Testul poate fi utilizat pentru confirmarea infecției active cu HCV la pacienții cu un rezultat pozitiv la anticorpi anti-HCV. Detectarea ARN-ului HCV indică faptul că virusul este replicat și, prin urmare, reprezintă dovada infecției active.

Testul Aptima HCV Quant Dx este destinat utilizării ca ajutor în gestionarea pacienților infectați cu HCV, supuși terapiei cu medicamente antivirale HCV. Testul măsoară nivelurile de ARN HCV la momentul inițial, în timpul tratamentului și după tratament, pentru a determina răspunsul virusologic susținut (SVR). Rezultatele obținute din testul Aptima HCV Quant Dx trebuie interpretate în contextul tuturor concluziilor clinice și de laborator relevante.

Testul Aptima HCV Quant Dx nu este destinat utilizării ca testare de screening pentru prezența HCV în sânge sau în produsele sanguine.

Rezumatul și explicația testării

HCV este un patogen transportat prin sânge și o problemă medicală publică la nivel internațional, până la 170 de milioane de oameni fiind infectați la nivel global și înregistrându-se 350.000 de decese anual din cauza unor afecțiuni asociate cu HCV, inclusiv ciroza și cancerul hepatic.[1,2] Transmiterea HCV se face prin expunerea la sânge, la produsele sanguine sau la activitățile cu potențial de expunere percutanată.[3,4] Din punct de vedere genetic, HCV conține un genom ARN cu catenă pozitivă, de aproximativ 9500 de nucleotide care codifică proteinele structurale (de bază, glicoproteinele E1 și E2, proteina cu canal ionic p7) și proteinele nestructurale (NS2, NS3, NS4A/B, NS5A/B), cele din urmă fiind proteine replicative virale cheie, și fiind vizate de antivirale cu acțiune directă.[4,5] Două regiuni netranslatate (UTR) ale genomului, 5'UTR și 3'UTR, funcționează în translatarea genomului și, respectiv, în rolurile de replicare/capsulare.[5] Regiunea 5'-UTR este regiunea genomică cel mai bine conservată dintre cele șase genotipuri de HCV majore.[6]

Din punct de vedere clinic, există o prevalență ridicată a infecției asimptomatice cu HCV, iar infecția cronică cu HCV apare la până la 75% dintre pacienți.[2] Algoritmii de testare de laborator a HCV necesită diagnosticarea infecțiilor active cu HCV la persoanele pozitive la anticorpi prin detectarea ARN-ului HCV în plasmă sau ser, pentru a permite o legătură adecvată cu asistența medicală.[7,8,9]

Cuantificarea ARN-ului HCV (încărcătura virală) a jucat un rol central în definirea și monitorizarea succesului tratamentului pentru HCV. Răspunsul virusologic susținut (SVR), definit ca ARN HCV nedetectat după o terapie reușită, este un marker cheie pentru o vindecare de HCV.[10,11]În terapia bazată pe interferon, răspunsul virusologic timpuriu (EVR), definit ca o scădere a încărcăturii virale HCV de 2 log sau mai mare după 12 săptămâni de tratament și un răspuns virusologic rapid (RVR), definit ca niveluri nedetectabile de ARN

HCV după 4 săptămâni de tratament, s-au dovedit a fi predictori pozitivi pentru SVR.[10,12,13] Acești markeri ai cineticii virale sunt utilizați în abordări bazate pe răspuns, adaptând opțiunile de tratament pentru oprirea sau extinderea terapiei pentru a obține SVR.[14] În plus, studiile de urmărire pe termen lung au demonstrat durabilitatea SVR după un tratament reușit, iar eradicarea virală împiedică progresia bolii hepatice.[10]

În era antiviralelor cu acțiune directă (DAA-uri), cuantificarea ARN HCV (încărcătura virală) a jucat un rol esențial în definirea și monitorizarea tratamentului cu succes al HCV. Răspunsul virusologic susținut (SVR) este definit ca fiind un ARN HCV nedetectabil (cu un test care are o limită de detecție de <25 UI/ml) după tratament.[10,11] Orientările recente ale AASLD sugerează testarea ARN HCV nu numai la momentul inițial, ci și periodic în timpul tratamentului (adică la 4 săptămâni) și la 12 săptămâni după terminarea tratamentului.[10,12,13]

Principiile procedurii

Testul Aptima HCV Quant Dx este un test de amplificare a acidului nucleic care utilizează tehnologia de amplificare mediată prin transcripție în timp real (TMA) pentru a detecta și cuantifica ARN-ul HCV pentru a veni în sprijinul diagnosticării sau pentru a stabili încărcătura virală la momentul inițial, precum și pentru a măsura răspunsurile în timpul tratamentului și după tratament. Testul vizează o regiune conservată a genomului HCV, detectând și cuantificând genotipurile 1, 2, 3, 4, 5 și 6. Testul este standardizat în conformitate cu AI doilea standard internațional al OMS pentru virusul hepatitei C (NIBSC Cod 96/798).[12]

Testul Aptima HCV Quant Dx implică trei etape principale, care au loc într-un singur tub pe sistemul Panther: capturarea țintei, amplificarea țintei prin TMA și detectarea produselor de amplificare (amplicon) de sondele marcate fluorescent (sonde).

În timpul captării țintei, ARN-ul viral este izolat din eșantioane. Eșantionul este tratat cu un detergent pentru a solubiliza anvelopa virală, pentru a denatura proteinele și pentru a elibera ARN-ul genomic viral. Oligonucleotidele de captare se hibridizează în zonele extrem de conservate ale ARN-ului HCV, dacă sunt prezente, din eșantionul de testare. Ținta hibridizată este, apoi, captată în microparticule magnetice care sunt separate de eșantion într-un câmp magnetic. Etapele de spălare îndepărtează componentele străine din eprubeta de reacție.

Amplificarea țintei se produce prin intermediul TMA, care este o metodă de amplificare a acidului nucleic mediată de transcripție, care utilizează două enzime, transcriptaza inversă a virusului leucemiei murine Moloney (MMLV) și polimeraza T7 ARN. Transcriptaza inversă este utilizată pentru a genera o copie ADN (care conține o secvență promotoare pentru polimeraza T7 ARN) a secvenței țintă. Polimeraza T7 ARN produce copii multiple ale ampliconului ARN din șablonul copiei ADN. Testul Aptima HCV Quant Dx utilizează metoda TMA pentru a amplifica o parte a regiunii 5' UTR a genomului HCV. Amplificarea acestei regiuni este realizată utilizând primeri specifici care sunt concepuți pentru a amplifica genotipurile 1, 2, 3, 4, 5 și 6 ale HCV.

Detectarea se realizează utilizând sonde de acid nucleic monocatenar, care sunt prezente în timpul amplificării țintei și care hibridizează în mod specific cu ampliconul, în timp real. Fiecare sondă are un fluorofor și o substanță extinctoare de fluorescență. Dacă sonda nu este hibridizată cu ampliconul, substanța extinctoare de fluorescență se află în imediata apropiere a fluoroforului și suprimă fluorescența. Atunci când sonda se leagă de amplicon, substanța extinctoare de fluorescență este mutată mai departe de fluorofor și va emite un semnal pe o anumită lungime de undă când este excitată de o sursă de lumină. Pe măsură ce mai multe sonde hibridizează la amplicon, se generează un semnal fluorescent mai mare. Timpul necesar ca semnalul fluorescent să atingă un prag specificat este proporțional cu concentrația inițială de HCV. Fiecare reacție are un calibrator intern/control intern (CI), care controlează variațiile în procesarea, amplificarea și detectarea eșantioanelor. Concentrația unei mostre este determinată de software-ul sistemului Panther utilizând semnalele HCV și CI pentru fiecare reacție și comparându-le cu informațiile de calibrare.

Rezumat al siguranței și performanțelor

Rezumatul siguranței și performanțelor (SSP) este disponibil în baza de date europeană privind dispozitivele medicale (Eudamed), unde este asociat cu identificatorii de dispozitiv (UDI-DI de bază). Pentru a localiza SSP pentru testul Aptima HCV Quant Dx, consultați codul BUDI (Basic Unique Device Identifier – Identificator unic de bază al dispozitivului): 54200455DIAGAPTHCVAJ.

Avertismente și precauții

A. Pentru diagnosticarea *in vitro*.

B. Pentru uz profesional.

C. Pentru a reduce riscul de rezultate nevalide, citiți cu atenție întregul prospect și Manualul operatorului pentru sistemul *Panther*/*Panther Fusion*™ pentru informații procedurale înainte de a efectua testul pe sistemul Panther.

D. Pentru mai multe avertismente, precauții și proceduri specifice pentru controlul contaminării, consultaţi *Manualul operatorului pentru sistemul Panther/Panther Fusion*.

În legătură cu laboratorul

E. PRECAUȚIE: Controalele pentru acest test conțin plasmă umană. Plasma este nereactivă la antigenul de suprafață al hepatitei B (HBsAg), anticorpii pentru HCV, anticorpii pentru HIV-1 și HIV-2 și antigenul HIV, atunci când este testată prin procedurile autorizate de Food and Drug Administration din SUA. În plus, plasma nu este reactivă pentru ARN-ul HCV și ARN-ul HIV-1 atunci când este testată cu testări de acid nucleic licențiate utilizând mostre compozite. Toate materialele provenite din sânge uman trebuie considerate potențial infecțioase și trebuie tratate cu respectarea precauțiilor universale.[14,15,16]

F. Numai personalul instruit corespunzător în utilizarea testului Aptima HCV Quant Dx și în manipularea materialelor potențial infecțioase trebuie să efectueze această procedură. Dacă se produce o scurgere, dezinfectați imediat în conformitate cu procedurile adecvate ale unității.

G. Utilizați doar instrumentarul și consumabilele de laborator de unică folosință prevăzute sau specificate.

H. Respectați precauțiile de laborator obișnuite. Nu pipetați cu ajutorul gurii. Nu consumați alimente sau băuturi și nu fumați în zonele de lucru desemnate. Purtați mănuși de unică folosință fără pudră, ochelari de protecție și halate de laborator atunci când manipulați eșantioane și reactivi din trusă. Spălați-vă temeinic mâinile după ce ați manipulat eșantioane sau reactivi din trusă.

I. Suprafețele de lucru, pipetele și alte echipamente trebuie decontaminate în mod regulat cu soluție de hipoclorit de sodiu între 2,5% și 3,5% (între 0,35 M și 0,5 M).

J. Eliminați toate materialele care au intrat în contact cu eșantioanele și cu reactivii în conformitate cu reglementările locale, naționale și federale.[14,15,16,17] Curățați temeinic și dezinfectați toate suprafețele de lucru.

K. Controalele conțin azidă de sodiu cu rol de conservant. Nu utilizați tuburi metalice pentru transferul reactivilor. Dacă soluțiile care conțin compuși ai azidei de sodiu sunt eliminate într-un sistem de canalizare, acestea trebuie diluate și clătite cu cantități generoase de apă de la robinet. Aceste precauții sunt recomandate pentru a evita acumularea de depuneri în tuburile metalice în care s-ar putea dezvolta condiții explozive.

L. Bunele practici standard pentru laboratoarele moleculare includ monitorizarea mediului înconjurător. Pentru a monitoriza mediul unui laborator, se recomandă următoarea procedură:

1. Luați un bețișor de vată și asociați-l cu tubul pentru părți alicote din eșantion (SAT) Aptima.
2. Etichetați fiecare SAT în mod corespunzător.
3. Umpleți fiecare SAT cu 1 ml de diluant pentru eșantioane Aptima.
4. Pentru a recolta mostrele superficiale, umeziți ușor un bețișor de vată în apă deionizată fără nuclează.
5. Tamponați suprafața de interes folosind o mișcare verticală, de sus în jos. Rotiți bețișorul de vată cu aproximativ o jumătate de tură, în timp ce tamponați locul.
6. Amplasați imediat în tub mostra recoltată pe bețișorul de vată și rotiți încet bețișorul de vată în diluant pentru a extrage potențialele materiale tamponate. Apăsați bețișorul de vată pe partea laterală a tubului de transport pentru a extrage cât mai mult lichid posibil. Aruncați bețișorul de vată și acoperiți tubul cu un capac.
7. Repetați etapele pentru restul mostrelor recoltate pe bețișorul de vată.
8. Testați bețișorul de vată prin intermediul testului molecular.

În legătură cu eșantioanele

M. Eșantioanele prezintă potențial contagios. Aplicați precauțiile universale[14,15,16] la efectuarea acestui test. Metodele adecvate de manipulare și eliminare vor fi stabilite în conformitate cu reglementările locale.[17] Numai personalul instruit corespunzător în utilizarea testului Aptima HCV Quant Dx și în manipularea materialelor potențial infecțioase trebuie să efectueze această procedură.

N. Mențineți condiții de depozitare adecvate în timpul expedierii eșantionului pentru a asigura integritatea acestuia. Nu a fost evaluată stabilitatea eșantionului în condiții de expediere diferite de cele recomandate.

O. Evitați contaminarea încrucișată pe parcursul etapelor de manipulare a eșantioanelor. Aveți grijă în special să evitați contaminarea prin răspândirea aerosolilor, la slăbirea sau scoaterea capacelor eșantioanelor. Eșantioanele pot conține niveluri extrem de ridicate de organisme. Asigurați-vă că recipientele cu eșantioane nu se ating între ele și eliminați materialele utilizate fără a le trece pe deasupra recipientelor deschise. Schimbați mănușile dacă acestea intră în contact cu eșantionul.

În legătură cu testul

P. Nu utilizați kitul de reactivi, calibratorul sau controalele după data expirării.

Q. Nu interschimbați, amestecați sau combinați reactivi ai testului din kituri cu numere diferite ale lotului principal. Lichidele pentru test pot proveni din numere de lot diferite. Controalele și calibratorul pot proveni din numere de lot diferite.

R. Evitați contaminarea microbiană și cu nucleaze a reactivilor.

S. Acoperiți și depozitați toți reactivii testului la temperaturile specificate. Performanța testului poate fi afectată de utilizarea unor reactivi ai testului depozitați necorespunzător. Consultați *Cerințe privind depozitarea și manipularea reactivilor* și *Procedura de testare cu sistemul Panther* pentru mai multe informații.

T. Nu combinați reactivi sau lichide ale testului fără instrucțiuni specifice. Nu umpleți până la refuz cu reactivi sau lichide. Sistemul Panther verifică nivelurile reactivilor.

U. Unii reactivi din acest kit sunt etichetați cu simbolurile de risc și siguranță.

Notă: *Declarația privind pericolele reflectă clasificările conform Safety Data Sheets (SDS) (Fișe tehnice de securitate (FTS)) la nivel european. Pentru informații privind comunicarea pericolelor specifice regiunii dvs., consultați FTS specifică regiunii în Biblioteca de fișe cu date de securitate la adresa www.hologicsds.com. Pentru informații suplimentare referitoare la simboluri, consultați legenda simbolurilor la www.hologic.com/package-inserts.*

Informații pericole UE	
—	**Reactiv de amplificare** *CLORURĂ DE MAGNEZIU 60-65%* — H412 – Nociv pentru mediul acvatic cu efecte pe termen lung. P273 – Evitați dispersarea în mediu. P501 – Aruncați conținutul/recipientul la o stație de eliminare a deșeurilor autorizată.
—	**Reactiv promotor** *CLORURĂ DE MAGNEZIU 60-65%* — H412 – Nociv pentru mediul acvatic cu efecte pe termen lung. P273 – Evitați dispersarea în mediu. P501 – Aruncați conținutul/recipientul la o stație de eliminare a deșeurilor autorizată.
—	**Reactiv enzimatic** *Triton X-100 1-5%* *HEPES 1-5%* — H412 – Nociv pentru mediul acvatic cu efecte pe termen lung. P273 – Evitați dispersarea în mediu. P501 – Aruncați conținutul/recipientul la o stație de eliminare a deșeurilor autorizată.
	**Controalele pentru kitul HCV VL** *AZIDĂ DE SODIU <1%* — **PERICOL** H300 – Mortal în caz de înghițire. H410 – Foarte toxic pentru mediul acvatic cu efecte pe termen lung. P264 – Spălați-vă fața, mâinile și orice suprafață de piele expusă bine după utilizare. P273 – Evitați dispersarea în mediu. P301 + P310 – ÎN CAZ DE ÎNGHIȚIRE: sunați imediat la un CENTRU DE INFORMARE TOXICOLOGICĂ sau un medic. P321 – Tratament specific (a se vedea instrucțiunile suplimentare de prim ajutor de pe această etichetă). P330 – Clătiți gura. P391 – Colectați scurgerile de produs.
—	**Calibratoare pentru kitul HCV VL** *HEPES 15-20%* *Sare lauril sulfat de litiu 5-10%* *Hidroxid de litiu, monohidrat 1-5%* *Acid succinic 1-5%* — H412 – Nociv pentru mediul acvatic cu efecte pe termen lung. P273 – Evitați dispersarea în mediu. P501 – Aruncați conținutul/recipientul la o stație de eliminare a deșeurilor autorizată.

—	**Soluție de reconstituire pentru enzimă** *Glicerol 20-25%* *Triton X-100 5-10%* *HEPES 1-5%* — H412 – Nociv pentru mediul acvatic cu efecte pe termen lung. P273 – Evitați dispersarea în mediu. P501 – Aruncați conținutul/recipientul la o stație de eliminare a deșeurilor autorizată.
—	**Reactiv de capturare a țintei** *HEPES 15-20%* *Sare lauril sulfat de litiu 5-10%* *Hidroxid de litiu, monohidrat 1-5%* *Acid succinic 1-5%* — H412 – Nociv pentru mediul acvatic cu efecte pe termen lung. P273 – Evitați dispersarea în mediu. P501 – Aruncați conținutul/recipientul la o stație de eliminare a deșeurilor autorizată.

Cerințe privind depozitarea și manipularea reactivilor

A. Tabelul următor prezintă condițiile de depozitare și stabilitatea pentru reactivi, controale și calibrator.

Reactiv	Depozitare în stare nedeschisă	Kit deschis (reconstituit)	
		Depozitare	Stabilitate
Reactiv de amplificare qHCV	Între 2°C și 8°C		
Soluție de reconstituire pentru amplificare qHCV	Între 2°C și 8°C	Între 2°C și 8°C	30 de zile[a]
Reactiv enzimatic qHCV	Între 2°C și 8°C		
Soluție de reconstituire pentru enzimă qHCV	Între 2°C și 8°C	Între 2°C și 8°C	30 de zile[a]
Reactiv promotor qHCV	Între 2°C și 8°C		
Soluție de reconstituire pentru promotor qHCV	Între 2°C și 8°C	Între 2°C și 8°C	30 de zile[a]
Reactiv de capturare a țintei qHCV	Între 2°C și 8°C	Între 2°C și 8°C	30 de zile[a]
qHCV NC CONTROL – (control negativ)	Între -15°C și -35°C	Între 15°C și 30°C	Flacon de unică folosință A se utiliza în decurs de 24 de ore
qHCV LPC CONTROL + (control slab pozitiv)	Între -15°C și -35°C	Între 15°C și 30°C	Flacon de unică folosință A se utiliza în decurs de 24 de ore
qHCV HPC CONTROL + (control puternic pozitiv)	Între -15°C și -35°C	Între 15°C și 30°C	Flacon de unică folosință A se utiliza în decurs de 24 de ore
qHCV PCAL (calibrator pozitiv)	Între -15°C și -35°C	Între 15°C și 30°C	Flacon de unică folosință A se utiliza în decurs de 24 de ore

[a] La scoaterea reactivilor din sistemul Panther, aceștia trebuie readuși imediat la temperaturile corespunzătoare de depozitare.

B. Eliminați orice reactivi reconstituiți și reactivul de capturare a țintei (TCR) nefolosiți după 30 de zile sau după data de expirare a Lotului principal, oricare dintre acestea survine mai întâi.

C. Reactivii depozitați pe sistemul Panther au o stabilitate de 72 de ore în cadrul sistemului. Reactivii pot fi încărcați în sistemul Panther de până la 8 ori. Sistemul Panther înregistrează fiecare încărcare a reactivilor.

D. După decongelarea calibratorului, soluția trebuie să fie limpede, adică să nu fie tulbure și să nu prezinte precipitate.



E. Reactivul promotor și reactivul reconstituit al promotorului sunt fotosensibili. Protejați aceste reactivi împotriva luminii în timpul depozitării și al pregătirii pentru utilizare.

Recoltarea și depozitarea eșantioanelor

Notă: *Manipulați toate eșantioanele ca și cum ar conține agenți potențial infecțioși. Utilizați precauțiile universale.*

Notă: *Evitați contaminarea încrucișată pe parcursul etapelor de manipulare a mostrei. De exemplu, eliminați materialul utilizat fără a-l trece pe deasupra tuburilor deschise.*

Notă: *Pentru depozitare se recomandă doar tuburi secundare din plastic.*

Pot fi utilizate eșantioane de sânge integral, recoltate în următoarele tuburi de sticlă sau plastic:

- Tuburile care conțin acid etilendiaminotetraacetic (EDTA) sau soluții anticoagulante citrat dextroză acide (ACD) sau
- Tuburi pentru prepararea plasmei (PPT)
- Tuburi pentru ser
- Tuburi separatoare de ser (SST)

Pentru ser, permiteți formarea cheagului înainte de o procesare ulterioară.

A. Recoltarea eșantionului

Sângele integral poate fi păstrat între 2°C și 30°C și trebuie centrifugat în decurs de 6 de ore de la recoltarea eșantionului. Separați plasma sau serul de globulele roșii peletizate, în conformitate cu instrucțiunile producătorului pentru tubul utilizat. Plasma sau serul pot fi testate pe sistemul Panther într-un tub primar sau transferate într-un tub secundar, cum ar fi tubul pentru părți alicote din eșantion Aptima. Pentru a obține volumul de reacție de 500 µl, volumul minim de plasmă sau ser pentru tuburile de recoltare primare este de maximum 1200 µl, iar pentru tuburile secundare, volumul minim este de 700 µl. Tabelul următor identifică cerințele de volum mort pentru fiecare tip de tub primar și secundar.

Tub (dimensiune și tip)	Volum mort pe Panther
Tub pentru părți alicote din mostră (SAT) Aptima	0,2 ml
12 x 75 mm	0,5 ml
13 x 100 mm	0,5 ml
13 x 100 mm cu gel	0,3 ml
16 x 100 mm cu gel	0,7 ml

Dacă nu sunt testate imediat, plasma și serul pot fi depozitate în conformitate cu specificațiile de mai jos. Dacă sunt transferate într-un tub secundar, plasma sau serul pot fi congelate la -20°C. Nu depășiți 3 cicluri de congelare-decongelare. Nu congelați eșantioanele în EDTA, ACD sau în tuburile de recoltare primare pentru ser.

B. Condiții de păstrare a eșantioanelor

1. Eșantioane de plasmă în EDTA și ACD

   Sângele integral poate fi păstrat între 2°C și 30°C și trebuie centrifugat în decurs de 6 de ore de la recoltarea eșantionului. Ulterior, plasma poate fi depozitată în una dintre următoarele condiții:

   - În tubul de recoltare primar sau în tubul secundar la o temperatură cuprinsă între 2°C și 25°C timp de până la 24 de ore,
   - În tubul de recoltare primar sau în tubul secundar la o temperatură cuprinsă între 2°C și 8°C pentru până la 5 zile, sau
   - În tubul secundar la o temperatură de -20°C timp de până la 60 de zile.

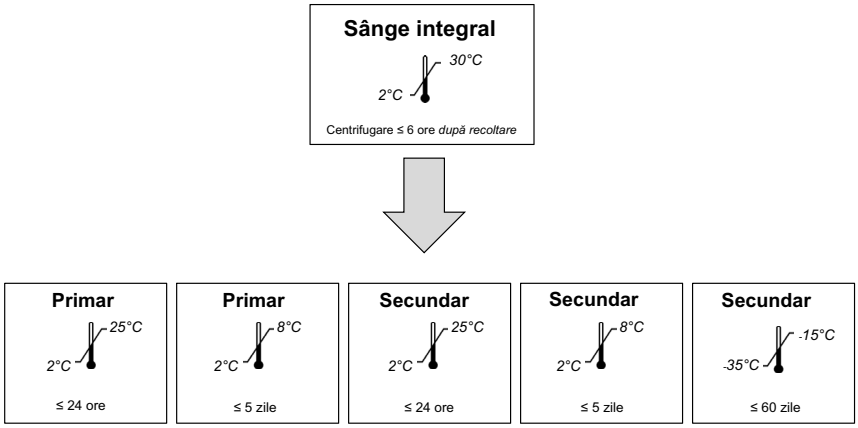


Figura 1. Condiții de depozitare pentru tuburile cu EDTA/ACD

2. Eșantioane PPT

   Sângele integral poate fi păstrat între 2°C și 30°C și trebuie centrifugat în decurs de 6 de ore de la recoltarea eșantionului. Ulterior, plasma poate fi depozitată în una dintre următoarele condiții:

   - În tubul de recoltare primar sau în tubul secundar la o temperatură cuprinsă între 2°C și 25°C timp de până la 24 de ore,
   - În tubul de recoltare primar sau în tubul secundar la o temperatură cuprinsă între 2°C și 8°C pentru până la 5 zile, sau
   - În tubul de recoltare primar sau în tubul secundar la o temperatură de -20°C timp de până la 60 zile.

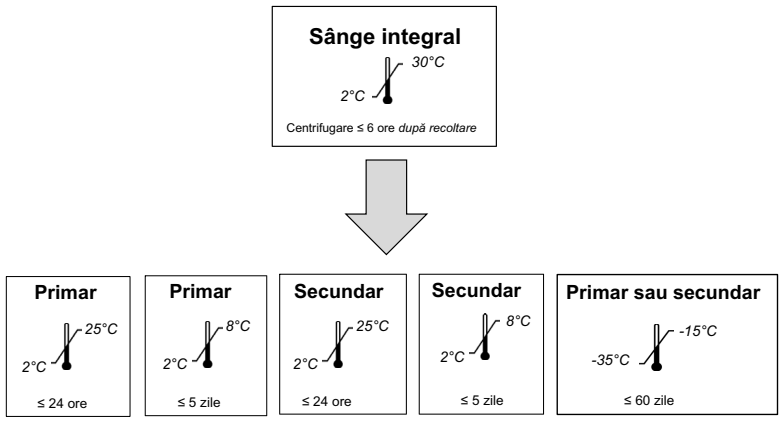


Figura 2. Condiții de depozitare pentru PPT

3. Eșantioane în tuburi pentru ser

   Sângele integral poate fi păstrat între 2°C și 30°C și trebuie centrifugat în decurs de 6 de ore de la recoltarea eșantionului. Ulterior, serul poate fi depozitat în una dintre următoarele condiții:

   - În tubul de recoltare primar sau în tubul secundar la o temperatură cuprinsă între 2°C și 30°C timp de până la 24 de ore,
   - În tubul de recoltare primar sau în tubul secundar la o temperatură cuprinsă între 2°C și 8°C pentru până la 5 zile, sau
   - În tubul secundar la o temperatură de -20°C timp de până la 60 de zile.

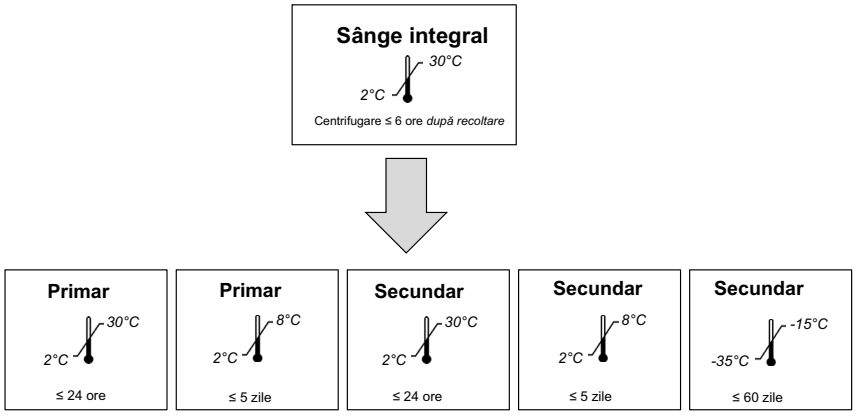


Figura 3. Condiții de depozitare pentru tuburile pentru ser

4. Eșantioane SST

   Sângele integral poate fi păstrat între 2°C și 30°C și trebuie centrifugat în decurs de 6 de ore de la recoltarea eșantionului. Ulterior, serul poate fi depozitat în una dintre următoarele condiții:

   - În tubul de recoltare primar sau în tubul secundar la o temperatură cuprinsă între 2°C și 30°C timp de până la 24 de ore,
   - În tubul de recoltare primar sau în tubul secundar la o temperatură cuprinsă între 2°C și 8°C pentru până la 5 zile, sau
   - În tubul de recoltare primar sau în tubul secundar la o temperatură de -20°C timp de până la 60 de zile.

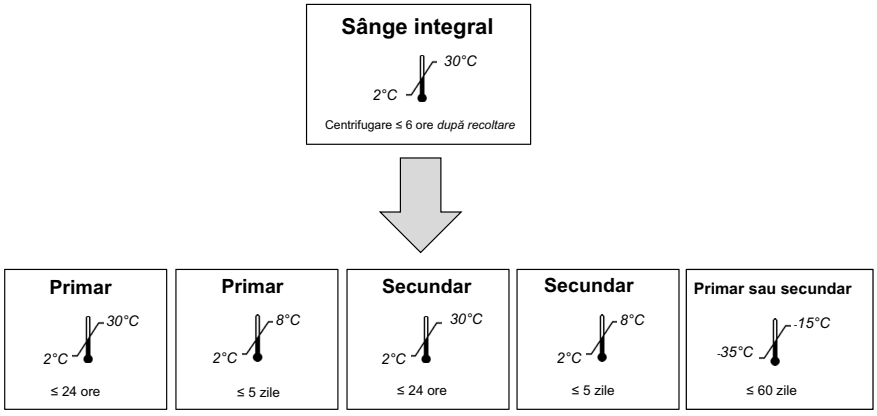


Figura 4. Condiții de depozitare pentru SST

C. Depozitare în stare congelată pe termen lung

Mostrele de plasmă sau de ser pot fi depozitate la o temperatură între -65°C și -70°C timp de până la 60 de zile în SAT.

D. Diluarea eșantioanelor de plasmă și ser

Eșantioanele de plasmă și ser pot fi diluate în SAT sau în tubul secundar pentru testare pe sistemul Panther. Consultați *Procedura de testare cu sistemul Panther*, etapa E.5 de mai jos pentru mai multe informații.

⚠ *Nu trebuie să se facă o interpretare diagnostică pe baza unui rezultat „Nedetectat" pentru eșantioanele de ser sau de plasmă care au fost diluate. Obțineți un nou eșantion nediluat și repetați testul.*

Notă: *Dacă un eșantion este diluat, acesta trebuie testat imediat după diluare. Nu congelați un eșantion diluat.*

Mostre pe sistemul Panther

Mostrele pot fi lăsate pe sistemul Panther, fără capac, timp de până la 8 ore. Mostrele pot fi scoase din sistemul Panther și testate, atât timp cât timpul total pe sistem nu depășește 8 ore înainte de pipetarea mostrei prin intermediul sistemului Panther.

Transportul eșantioanelor

Mențineți condițiile de depozitare a mostrelor, descrise în *Recoltarea și depozitarea eșantioanelor*.

Notă: *Eșantioanele trebuie expediate în conformitate cu reglementările naționale, internaționale și regionale aplicabile privind transporturile.*

Sistem Panther

Reactivii pentru testul Aptima HCV Quant Dx sunt enumerați mai jos pentru sistemul Panther. De asemenea, sunt enumerate și simbolurile de identificare a reactivilor, în dreptul numelui reactivului.

Reactivi și materiale furnizate

Kit de teste Aptima HCV Quant Dx, 100 de teste Nr. cat. PRD-03506
(1 cutie de teste, 1 kit de calibratoare și 1 kit de controale)
Pot fi comandate separat calibratoare și controale suplimentare. Consultați mai jos numerele de catalog respective.

Cutie de teste Aptima HCV Quant Dx
(păstrați la 2°C - 8°C după primire)

Simbol	Produs	Cantitate
A	**Reactiv de amplificare qHCV** *Acizi nucleici neinfecțioși uscați în soluție tamponată.*	1 flacon
E	**Reactiv enzimatic qHCV** *Transcriptază inversă și polimerază ARN uscată în soluție tamponată HEPES.*	1 flacon
PRO	**Reactiv promotor qHCV** *Acizi nucleici neinfecțioși uscați în soluție tamponată.*	1 flacon
AR	**Soluție de reconstituire pentru amplificare qHCV** *Soluție apoasă conținând glicerol și conservanți.*	1 x 7,2 ml
ER	**Soluție de reconstituire pentru enzimă qHCV** *Soluție tamponată HEPES conținând surfactant și glicerol.*	1 x 5,8 ml
PROR	**Soluție de reconstituire pentru promotor qHCV** *Soluție apoasă conținând glicerol și conservanți.*	1 x 4,5 ml
TCR	**Reactiv de capturare a țintei qHCV** *Acizi nucleici într-o soluție salină tamponată conținând faza solidă, acizi nucleici neinfecțioși și calibrator intern.*	1 x 72,0 ml
	Manșoane pentru reconstituire	3
	Fișă cu codurile de bare ale lotului principal	1 pagină

Kit de calibratoare Aptima HCV Quant Dx (Nr. cat. PRD-03507)
(păstrați la -15°C - -35°C după primire)

Simbol	Produs	Cantitate
PCAL	**Calibrator pozitiv qHCV** *Transcripție în soluție tamponată.*	5 x 2,5 ml
	Etichetă cu coduri de bare pentru calibrator	—

Kit de controale Aptima HCV Quant Dx (Nr. cat. PRD-03508)
(păstrați la -15°C - -35°C după primire)

Simbol	Produs	Cantitate
NC	**Control negativ qHCV** *Plasmă umană defibrinată negativă HCV conținând gentamicină și 0,2% azidă de sodiu cu rol de conservanți.*	5 x 0,8 ml
LPC	**Control slab pozitiv qHCV** *Armored RNA pentru HCV neinfecțios în plasmă umană defibrinată conținând gentamicină și 0,2% azidă de sodiu cu rol de conservanți.*	5 x 0,8 ml
HPC	**Control puternic pozitiv qHCV** *Armored RNA pentru HCV neinfecțios în plasmă umană defibrinată conținând gentamicină și 0,2% azidă de sodiu cu rol de conservanți.*	5 x 0,8 ml
	Etichetă cu coduri de bare pentru control	—

Materiale necesare dar disponibile separat

Notă: *Materialele disponibile de la Hologic au numerele de catalog notate, cu excepția cazului în care se specifică altfel.*

Material	Nr. cat.
Sistem Panther™	303095
Sistem Panther Fusion™	PRD-04172
Sistem Panther™, fluid continuu și reziduuri (Panther Plus)	PRD-06067
Kit de controale Aptima® HCV Quant Dx	PRD-03508
Kit de calibratoare Aptima® HCV Quant Dx	PRD-03507
Kit de procesare Panther pentru teste în timp real (numai pentru teste în timp real)	PRD-03455 (5000 de test)
Kitul de fluide de testare Aptima® (cunoscut și sub denumirea de Kit de fluide universal) *conține soluție de spălare Aptima®, soluție-tampon pentru lichidul de dezactivare Aptima® reactiv ulei Aptima®*	303014 (1000 de teste)
Unități multitub (MTU-uri)	104772-02
Kit de pungi pentru reziduuri Panther™	902731
Capac pentru coș de reziduuri Panther™	504405
Sau kit de procesare pentru sistem Panther™ *(la procesarea testelor TMA nedesfășurate în timp real, în paralel cu teste TMA în timp real) conține unități multitub (MTU-uri), pungi pentru reziduuri, capace pentru coșuri de reziduuri, detecție automată și fluide de testare*	303096 (5000 de teste)
Vârfuri, 1000 µl, filtrate, cu detectare de lichid, conductive și de unică folosință *Este posibil ca unele produse să nu fie disponibile în toate regiunile. Pentru informații specifice regiunii, contactați reprezentantul.*	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Înălbitor, soluție hipoclorit de sodiu între 5 și 8,25 % (0,7 M-1,16 M)	—
Mănuși de unică folosință, fără pudră	—
Capace de schimb nepenetrabile	103036A
Capace de schimb pentru reactivi *Flacoane de reconstituire a reactivului de amplificare, enzimatic și promotor* *Flacon TCR*	 CL0041 (100 de capace) CL0040 (100 de capace)
Huse căptușite cu plastic pentru masa de lucru din laborator	—
Șervețele fără fibre	—
Pipetor	—
Vârfuri	—
Opțiuni pentru tubul de recoltare primar: *13 mm x 100 mm* *13 mm x 75 mm* *16 mm x 100 mm*	 — — —
Centrifugă	—
Mixer cu turbionare	—

Materiale opționale

Material	Nr. cat.
Opțiuni pentru tubul secundar:	
12 mm x 75 mm	—
13 mm x 100 mm	—
16 mm x 100 mm	—
Tuburi pentru părți alicote din eșantion Aptima (SAT-uri) (pachet de 100 de bucăți)	FAB-18184
Capac pentru tub de transport (pachet de 100 de bucăți) *capac pentru SAT*	504415
Diluant pentru eșantioane Aptima®	PRD-03003
Kit de diluant pentru eșantioane Aptima® *conține diluant pentru eșantioane, 100 de SAT-uri și 100 de capace*	PRD-03478
Pipete de transfer	—
Paneluri disponibile comercial	—
Bețișoare cu vârf de vată	—
Agitator oscilant pentru tuburi	PRD-03488

Procedura de testare cu sistemul Panther

Notă: *Consultați Manualul operatorului pentru sistemul Panther/Panther Fusion pentru informații de procedură suplimentare.*

A. Pregătirea zonei de lucru

1. Curățați suprafețele de lucru unde vor fi preparați reactivii. Ștergeți suprafețele de lucru cu soluție de hipoclorit de sodiu între 2,5% și 3,5% (între 0,35 M și 0,5 M). Lăsați soluția de hipoclorit de sodiu să intre în contact cu suprafețele timp de cel puțin 1 minut, iar apoi clătiți cu apă deionizată (DI). Nu lăsați soluția de hipoclorit de sodiu să se usuce. Acoperiți suprafața mesei de lucru din laborator cu huse curate, absorbante, căptușite cu plastic.
2. Curățați o suprafață de lucru separată, unde vor fi preparate mostrele. Utilizați procedura descrisă mai sus (etapa A.1).
3. Curățați toate pipetoarele. Utilizați procedura de curățare descrisă mai sus (etapa A.1).

B. Prepararea calibratorului și a controalelor

Lăsați calibratorul și controlul să ajungă la o temperatură cuprinsă între 15°C și 30°C înainte de procesare, după cum urmează:

1. Scoateți calibratorul și controalele din locul de păstrare (între -15°C și -35°C) și amplasați-le la o temperatură cuprinsă între 15°C și 30°C. Pe tot parcursul procesului de decongelare, răsturnați ușor fiecare tub pentru o amestecare temeinică. Asigurați-vă că întregul conținut al tubului este decongelat înainte de utilizare.

   Opțiune. Tuburile pentru calibrator și controalele pot fi plasate pe un agitator oscilant pentru tuburi, pentru o amestecare temeinică. Asigurați-vă că întregul conținut al tubului este decongelat înainte de utilizare.

   Notă: *Evitați crearea de spumă excesivă la răsturnarea calibratorului și a controalelor. Spuma compromite funcția de detectare a nivelului la sistemul Panther.*

2. După ce conținutul tubului s-a decongelat, uscați exteriorul tubului cu un șervețel de unică folosință, curat și uscat.

3. Pentru a preveni contaminarea, nu deschideți tuburile în acest moment.

C. Reconstituirea/Pregătirea reactivului dintr-un kit nou

Notă: *Reconstituirea reactivilor trebuie efectuată înainte de începerea oricăror activități pe sistemul Panther.*

1. Pentru pregătirea reactivului de capturare a țintei (TCR), efectuați următoarele acțiuni:
   a. Scoateți TCR din locul de depozitare (între 2°C și 8°C). Verificați numărul de lot de pe flaconul cu TCR, pentru a vă asigura că acesta se potrivește cu numărul de lot de pe fișa cu codurile de bare ale lotului principal.
   b. Agitați imediat flaconul cu TCR de 10 ori, viguros. Lăsați flaconul cu TCR să se încălzească timp de minimum 45 de minute, pentru a rămâne la o temperatură cuprinsă între 15°C și 30°C. În această perioadă, rotiți și răsturnați flaconul cu TCR timp de cel puțin 10 minute.

      Opțiune. Flaconul TCR poate fi pregătit pe un agitator oscilant pentru tuburi, urmând instrucțiunile de mai jos: Îndepărtați TCR din locul de depozitare (între 2°C și 8°C) și agitați imediat ferm de 10 ori. Amplasați flaconul cu TCR pe un agitator oscilant pentru tuburi și lăsați TCR să se încălzească timp de minimum 45 de minute, la o temperatură cuprinsă între 15°C și 30°C.
   c. Asigurați-vă că tot precipitatul este în soluție și că particulele magnetice sunt suspendate înainte de utilizare.
2. Pentru reconstituirea reactivilor de amplificare, enzimatici și promotori, efectuați următoarele acțiuni:
   a. Scoateți reactivii liofilizați și soluțiile de reconstituire corespunzătoare din locul de depozitare (între 2°C și 8°C). Asociați fiecare soluție de reconstituire cu reactivul liofilizat al acesteia.
   b. Asigurați-vă că soluția de reconstituire și reactivul liofilizat au etichete de aceeași culoare. Verificați numerele de lot de pe fișa cu codurile de bare ale lotului principal pentru a vă asigura că s-au împerecheat reactivii corespunzători.
      i. Deschideți flaconul de reactiv liofilizat scoțând garnitura metalică și dopul din cauciuc.
      ii. Introduceți cu fermitate capătul crestat al colierului de reconstituire (negru) pe flacon (Figura 5, Etapa 1).
      iii. Deschideți flaconul aferent cu soluția de reconstituire și așezați capacul pe o suprafață de lucru curată, acoperită.
      iv. Amplasați flaconul cu soluție de reconstituire pe o suprafață stabilă (de exemplu, masa de lucru). Apoi răsturnați flaconul de reactiv liofilizat peste flaconul cu soluție de reconstituire și fixați bine colierul pe flaconul cu soluție de reconstituire (Figura 5, Etapa 2).
      v. Răsturnați lent ansamblul de flacoane (flaconul atașat la flaconul cu soluție) pentru a permite scurgerea soluției în flaconul din sticlă (Figura 5, Etapa 3).
      vi. Ridicați flacoanele asamblate și rotiți-le timp de minimum 10 secunde (Figura 5, Etapa 4).
      vii. Așteptați cel puțin 30 de minute pentru ca reactivul liofilizat să pătrundă în soluție.
      viii. După pătrunderea reactivului liofilizat în soluție, rotiți ansamblul de flacoane timp de cel puțin 10 secunde și apoi oscilați ușor soluția în flaconul din sticlă înainte și înapoi, pentru o amestecare temeinică.

c. Înclinați lent, din nou, ansamblul de flacoane, pentru a permite ca toată soluția să se scurgă înapoi în flaconul cu soluție de reconstituire (Figura 5, Etapa 5).

d. Scoateți cu atenție colierul de reconstituire și flaconul din sticlă (Figura 5, Etapa 6).

e. Puneți la loc capacul pe flacon. Înregistrați inițialele operatorului și data reconstituirii pe etichetă (Figura 5, Etapa 7).

f. Aruncați colierul de reconstituire și recipientul de sticlă (Figura 5, pasul 8).

Avertisment: *Evitați crearea de spumă excesivă în timpul reconstituirii reactivilor. Spuma compromite funcția de detectare a nivelului la sistemul Panther.*

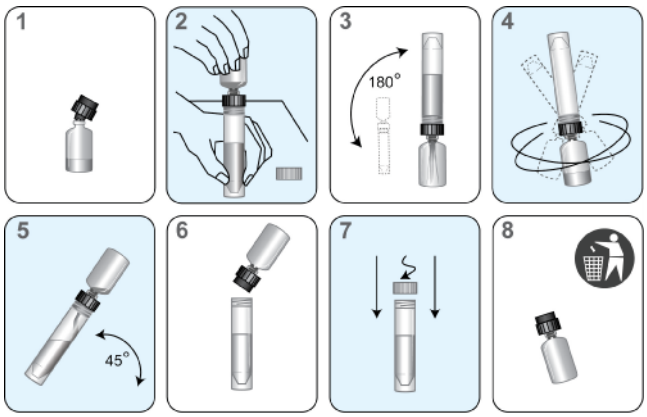


Figura 5. Procesul de reconstituire a reactivilor

D. Prepararea reactivului pentru reactivi preparați anterior

1. Scoateți reactivii preparați anterior din locul de depozitare (între 2°C și 8°C).
2. Reactivii de amplificare, enzimatici, promotori și TCR pregătiți anterior trebuie să atingă 15°C până la 30°C înainte de începerea testului.
3. Pentru TCR-ul preparat anterior, parcurgeți etapa C.1 de mai sus, înainte de încărcarea pe sistem.
4. Rotiți și răsturnați reactivii de amplificare, enzimatici și promotori pentru o amestecare temeinică, înainte de încărcarea acestora pe sistem. Evitați crearea de spumă excesivă în timpul răsturnării reactivilor.

   Opțiune: Reactivii preparați anterior pot fi pregătiți pe un agitator oscilant pentru tuburi, urmând instrucțiunile de mai jos: Scoateți reactivii din locul de depozitare (2 °C – 8 °C). Amplasați reactivii pe un agitator oscilant pentru tuburi și lăsați să se încălzească timp de minimum 30 de minute, la o temperatură cuprinsă între 15 °C și 30 °C.

5. Nu umpleți recipientele cu reactiv până la refuz. Sistemul Panther va recunoaște și respinge flacoanele care au fost umplute până la refuz.

E. Manipularea eșantioanelor

1. Asigurați-vă că eșantioanele procesate din tuburile primare sau eșantioanele nediluate din tuburile secundare au fost depozitate în mod corespunzător, conform *Recoltarea și depozitarea eșantioanelor*.
2. Asigurați-vă că eșantioanele congelate sunt decongelate complet. Turbionați eșantioanele decongelate timp de 3 până la 5 secunde pentru ca acestea să fie amestecate temeinic.
3. Lăsați eșantioanele să ajungă la o temperatură cuprinsă între 15°C și 30°C, înainte de procesare. Consultați *Mostre pe sistemul Panther* pentru informații suplimentare de încărcare pe sistem.

4. Asigurați-vă că fiecare tub de recoltare primar conține până la 1200 µl de eșantion sau fiecare SAT conține cel puțin 700 µl de eșantion. Consultați tabelul furnizat în *Recoltarea eșantionului* pentru a identifica cerințele de volum mort pentru fiecare tip de tub primar și secundar. Dacă este necesară diluarea eșantionului, consultați etapa E.5 de mai jos pentru informații suplimentare.
5. Diluați un eșantion de plasmă sau de ser 1:3 într-un SAT sau 1:100 într-un tub secundar.

   Un eșantion poate fi diluat într-un tub secundar pentru testare pe sistemul Panther.

⚠ *Nu trebuie să se facă o interpretare diagnostică pe baza unui rezultat „Nedetectat" pentru eșantioanele de ser sau de plasmă care au fost diluate. Obțineți un nou eșantion nediluat și repetați testul.*

***Notă:** Dacă un eșantion este diluat, acesta trebuie testat imediat după diluare.*

a. Diluarea eșantioanelor cu volum redus

   Volumul eșantioanelor poate fi mărit până la volumul minim necesar (700 µl) utilizând diluantul pentru eșantioane Aptima. Eșantioanele cu cel puțin 240 µl pot fi diluate cu două părți diluant pentru eșantioane (1:3), după cum urmează:

   i. Amplasați 240 µl de eșantion în SAT.
   ii. Adăugați 480 µl de diluant pentru eșantioane Aptima.
   iii. Acoperiți tubul cu un capac.
   iv. Răsturnați ușor de 5 ori pentru amestecare.

   Eșantioanele diluate 1:3 pot fi testate utilizând opțiunea 1:3 pe sistemul Panther (consultați *Manualul operatorului pentru sistemul Panther/Panther Fusion* pentru mai multe informații). Software-ul va raporta automat rezultatul curat, prin aplicarea factorului de diluție. Aceste eșantioane vor fi marcate ca eșantioane diluate.

b. Diluarea eșantioanelor cu titru mare

   Dacă rezultatul unui eșantion depășește limita superioară a cuantificării (ULoQ), acesta poate fi diluat cu 99 părți de diluant pentru eșantioane Aptima (1:100), după cum urmează:

   i. Amplasați 30 µl de eșantion în SAT sau într-un tub secundar.
   ii. Adăugați 2970 µl de diluant pentru eșantioane Aptima.
   iii. Acoperiți tubul cu un capac.
   iv. Răsturnați ușor de 5 ori pentru amestecare.

   Eșantioanele diluate 1:100 pot fi testate utilizând opțiunea 1:100 pe sistemul Panther (consultați *Manualul operatorului pentru sistemul Panther/Panther Fusion* pentru mai multe informații). Software-ul va raporta automat rezultatul curat, prin aplicarea factorului de diluție. Aceste eșantioane vor fi marcate ca eșantioane diluate.

   ***Notă:** Pentru eșantioanele diluate cu concentrații pure mai mari decât ULoQ, rezultatele vor fi raportate utilizând notația științifică.*

6. Chiar înainte de încărcarea eșantioanelor într-un stativ pentru probe, centrifugați fiecare eșantion la 1.000-3.000*g* timp de 10 minute. Nu scoateți capacele. Bulele din tub compromit funcția de detectare a nivelului la sistemul Panther.

   Consultați secțiunea *Pregătirea sistemului*, pasul F.2 de mai jos, pentru informații despre încărcarea stativului și îndepărtarea capacelor.

F. Pregătirea sistemului

1. Configurați sistemul conform instrucțiunilor din *Manualul operatorului pentru sistemul Panther/Panther Fusion* și *Note procedurale.* Asigurați-vă că s-au utilizat stativele pentru reactivi de dimensiuni corespunzătoare și adaptoarele TCR adecvate.
2. Încărcați mostrele în stativul pentru mostre. Parcurgeți etapele următoare pentru fiecare tub pentru mostre (eșantion și, dacă este necesar, calibrator și controale):
   a. Desfaceți capacul unui tub pentru mostre, dar încă nu îl scoateți.

      Notă: *Aveți grijă în special să evitați contaminarea prin răspândirea aerosolilor. Desfaceți ușor capacele de pe mostre.*

   b. Încărcați tubul pentru mostre în stativul pentru mostre.

   c. Repetați etapele 2.a și 2.b pentru fiecare mostră rămasă.

   d. După încărcarea mostrelor în stativul pentru mostre, scoateți și aruncați capacul fiecărui tub pentru mostre dintr-un stativ pentru mostre. Pentru a evita contaminarea, nu treceți niciun capac pe deasupra altor stative pentru mostre sau tuburi pentru mostre.

   e. Dacă este necesar, utilizați o pipetă de transfer de unică folosință nouă, pentru eliminarea oricăror bule sau a spumei.

   f. După eliminarea ultimului capac, încărcați stativul pentru mostre într-un compartiment de mostre.

      Notă: *Dacă procesați simultan teste și tipuri de mostre diferite, securizați dispozitivul de fixare a mostrelor înainte de încărcarea stativului pentru mostre într-un compartiment de mostre.*

   g. Repetați etapele de la 2.a până la 2.f pentru următorul stativ pentru mostre.

Note procedurale

A. Calibrator și controale

1. Tuburile de calibrator pozitiv qHCV, controlul slab pozitiv qHCV, control puternic pozitiv qHCV și control negativ qHCV pot fi încărcate în orice poziție din stativul pentru mostre și în orice compartiment de turbiomostre pe sistemul Panther. Pipetarea eșantionului va începe în momentul în care este îndeplinită una dintre cele două condiții de mai jos:
   a. Calibratorul și controalele sunt procesate în prezent de către sistem.

   b. Pe sistem sunt înregistrate rezultate valide pentru calibrator și control.

2. De îndată ce tuburile pentru calibrator și tuburile pentru control au fost pipetate și sunt în curs de procesare pentru un anumit kit de reactivi al testului Aptima HCV Quant Dx, eșantioanele pot fi testate cu kitul asociat și reconstituit timp de maxim 24 de ore, **cu excepția cazului în care:**
   a. Rezultatul calibratorului sau rezultatele controalelor sunt nevalide.

   b. Kitul asociat de reactivi ai testului este scos din sistem.

   c. Kitul asociat de reactivi ai testului a depășit limitele de stabilitate.

3. Calibratorul și fiecare tub de control pot fi utilizate o singură dată. Încercările de a folosi tubul de mai multe ori pot genera erori de procesare.

B. Pudrarea mănușilor

Ca în orice sistem cu reactiv, pudra în exces de pe anumite mănuși poate conduce la contaminarea tuburilor deschise. Sunt recomandate mănușile nepudrate.

Controlul calității

O procesare sau un rezultat al eșantionului poate fi invalidat(ă) de către un operator dacă sunt observate și documentate dificultăți de ordin tehnic, legate de operator sau instrument pe parcursul efectuării testului. În acest caz, eșantioanele trebuie retestate.

Calibrarea testului

Pentru generarea unor rezultate valide, trebuie finalizată o calibrare a testului. Un singur calibrator pozitiv este procesat în triplicat, de fiecare dată când un kit de reactivi este încărcat pe sistemul Panther. Odată stabilită, calibrarea este valabilă până la 24 de ore. Software-ul sistemului Panther alertează operatorul atunci când este necesară o calibrare. Operatorul scanează un coeficient de calibrare găsit în fișa cu codurile de bare ale lotului principal, furnizată cu fiecare kit de reactivi.

În timpul procesării, criteriile de acceptare a calibratorului sunt verificate automat de software-ul sistemului Panther. Dacă sunt valabile mai puțin de două replicate ale calibratorului, software-ul invalidează automat procesarea. Mostrele din orice procesare invalidată trebuie retestate folosind un calibrator proaspăt preparat și controale proaspăt preparate.

Controale negative și pozitive

Pentru generarea unor rezultate valide, trebuie testat un set de controale ale testului. O replicare a controlului negativ, a controlului slab pozitiv și a controlului puternic pozitiv trebuie testate de fiecare dată când un kit de reactivi este încărcat pe sistemul Panther. Odată stabilite, controalele sunt valabile până la 24 de ore. Software-ul sistemului Panther alertează operatorul atunci când sunt necesare controale.

În timpul procesării, criteriile de acceptare a controalelor sunt verificate automat de software-ul sistemului Panther. Pentru a genera rezultate valide, controlul negativ trebuie să obțină un rezultat „Nedetectat”, iar controalele pozitive trebuie să obțină rezultate care să se încadreze în parametrii predefiniți (țintă nominală LPC: 2,36 $\log_{10}$ UI/ml, țintă nominală HPC: 5,36 $\log_{10}$ UI/ml). Dacă oricare dintre controale are un rezultat nevalid, software-ul invalidează automat procesarea. Mostrele din orice procesare invalidată trebuie retestate folosind un calibrator proaspăt preparat și controale proaspăt preparate.

Calibrator intern/Control intern

Fiecare mostră conține un calibrator intern/un control intern (CI). În timpul procesării, criteriile de acceptabilitate CI sunt verificate automat de software-ul sistemului Panther. Dacă un rezultat CI este nevalid, rezultatul mostrei este invalidat. Fiecare mostră cu un rezultat CI nevalid trebuie retestată pentru a se obține un rezultat valid.

Software-ul sistemului Panther este conceput pentru a verifica cu exactitate procesele, atunci când procedurile sunt efectuate în conformitate cu instrucțiunile din acest prospect și din *Manualul operatorului pentru sistemul Panther/Panther Fusion*.

Interpretarea rezultatelor

Sistemul Panther determină automat concentrația de ARN HCV pentru eșantioane și controale, prin compararea rezultatelor cu o curbă de calibrare. Concentrațiile de ARN HCV sunt raportate în UI/ml și log_{10} UI/ml. Interpretarea rezultatelor este oferită în Tabelul 1. Dacă este utilizată diluția 1:3 sau 1:100 pentru eșantioanele diluate, sistemul Panther calculează automat concentrația ARN-ului HCV pentru eșantionul pur prin înmulțirea concentrației diluate cu factorul de diluție, iar eșantioanele diluate sunt marcate ca diluate.

Notă: *Pentru eșantioanele diluate, rezultatele enumerate ca „Nedetectat" sau „Detectat <10" pot fi generate prin diluarea unui eșantion cu o concentrație mai mare, dar apropiată de LoD sau de LLoQ (limita de detecție sau limita inferioară de cuantificare). Se recomandă recoltarea și testarea unui alt eșantion pur, dacă nu se obține un rezultat cantitativ.*

Sistemul Panther nu oferă un rezultat calitativ (adică „Reactiv" sau „Nereactiv") pentru utilizare în diagnosticare. Operatorul trebuie să interpreteze concentrația de ARN HCV raportată într-un rezultat calitativ (Tabelul 1). Eșantioanele cu rezultate enumerate ca „Nedetectat" nu sunt reactive pentru ARN-ul HCV. Eșantioanele cu rezultate enumerate ca „Detectat <10", cu rezultate enumerate în intervalul liniar și >100.000.000 (limită superioară de cuantificare) indică faptul că a fost detectat ARN-ul HCV și că aceste eșantioane sunt reactive pentru ARN-ul HCV.

Tabelul 1: Interpretarea rezultatelor

Rezultatul raportat al testului Aptima HCV Quant Dx		**Interpretarea concentrației de ARN HCV**	**Interpretarea calitativă a diagnosticului utilizatorului**[a]
UI/ml	**Valoare log_{10}**[b]		
Nedetectat	Nedetectat	ARN HCV nedetectat.	Nereactiv pentru ARN HCV
Detectat <10	<1,00	ARN-ul HCV este detectat, dar la un nivel sub LLoQ (limita inferioară de cuantificare)	Reactiv pentru ARN HCV
de la 10 la 100.000.000	de la 1,00 la 8,00	Concentrația de ARN HCV se încadrează în intervalul liniar cuprins între 10 și 100.000.000 UI/ml	Reactiv pentru ARN HCV
>100.000.000	>8,00	Concentrația de ARN HCV este mai mare decât ULoQ	Reactiv pentru ARN HCV
Nevalid[c]	Nevalid[c]	A existat o eroare la generarea rezultatului. Eșantionul trebuie retestat	Nevalid

[a] Poate fi făcută o interpretare a diagnosticului pe baza eșantioanelor de ser sau de plasmă care nu au fost diluate.
[b] Valoarea este redusă la două zecimale.
[c] Rezultatele nevalide sunt afișate cu font de culoare albastră.

Criteriile de acceptabilitate pentru fiecare dintre controalele testului Aptima HCV Quant Dx sunt prezentate în Tabelul 2.

Notă: *Intervalul de recuperare enumerat mai jos se modifică în funcție de valoarea atribuită fiecărui lot specific. Consultați concentrația atribuită listată pe fișa de coduri de bare pentru control furnizată cu fiecare cutie de controale.*

Tabelul 2: Criterii de acceptare pentru intervalul de recuperare pentru controalele testului Aptima HCV Quant Dx

Produs	**Intervalul de recuperare pentru procesări valide**
Control negativ	N/A
Control slab pozitiv	+/- 0,5 log_{10} IU/mL
Control puternic pozitiv	+/- 0,5 log_{10} IU/mL

Limitări

A. Utilizarea acestui test este limitată la personalul care a fost instruit cu privire la procedură. Nerespectarea instrucțiunilor din acest prospect poate duce la rezultate eronate.

B. Rezultatele sigure depind de recoltarea, transportul, depozitarea și procesarea adecvată a eșantioanelor.

C. Deși rare, mutațiile din regiunile extrem de conservate ale genomului viral acoperite de primeri și/sau de sondele din testul Aptima HCV Quant Dx pot determina nedetectarea virusului.

Performanțe analitice

Limita de detecție (LoD) utilizând AI doilea standard internațional al OMS

Limita de detecție (LoD) a testului este definită ca fiind concentrația de ARN HCV care este detectată la o mostrabilitate de minimum 95%, în conformitate cu CLSI EP17-A2.[18]

LoD a fost determinată prin testarea panelurilor din AI doilea standard internațional al OMS pentru ARN-ul virusului hepatitei C (NIBSC 96/798 genotipul 1), diluate în plasmă și ser EDTA umane negative la HCV. Un minim de 36 de replicări din fiecare diluție au fost testate cu fiecare din cele trei loturi de reactivi pentru un număr minim de 108 de replicări per diluție. Analiza probit a fost efectuată pentru a genera limitele de detecție previzionate. Valorile LoD sunt rezultatele lotului de reactivi cu limita de detecție previzionată maximă. LoD 95% pentru testul Aptima HCV Quant Dx utilizând AI doilea standard internațional al OMS este de 4,3 UI/ml pentru plasmă și de 3,9 UI/ml pentru ser.

Limita de detecție la nivelul genotipurilor de HCV

LoD a fost determinată prin testarea diluțiilor de eșantioane clinice pozitive la HCV pentru genotipurile 1, 2, 3, 4, 5 și 6 din plasma și serul umane negative la HCV. Concentrațiile au fost determinate utilizând un test aprobat. Un minim de 20 de replicări din fiecare membru al panelului au fost testate cu fiecare din cele trei loturi de reactivi pentru un număr minim de 60 de replicări pe membru al panelului. Analiza probit a fost efectuată pentru generarea limitelor de detecție previzionate 95%. Valorile LoD prezentate în Tabelul 3 sunt rezultatele lotului de reactivi cu limita de detecție previzionată maximă.

Tabelul 3: Limita de detecție la nivelul genotipurilor de HCV utilizând eșantioane clinice

Genotip	Limită de detecție previzionată	Concentrație (UI/ml)	
		Plasmă	Ser
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

Intervalul liniar

Intervalul liniar a fost stabilit prin testarea panelurilor de Armored RNA (aRNA) HCV 1a, diluate în plasmă și ser umane negative la HCV în conformitate cu CLSI EP06-A.[19] Panelurile s-au încadrat într-un interval de concentrații între 1,0 log_{10} UI/ml și 8,2 log_{10} UI/ml. Testul Aptima HCV Quant Dx a demonstrat liniaritate în intervalul testat, cu o limită superioară de cuantificare (ULoQ) de 8,0 log_{10} UI/ml, așa cum se arată în Figura 6.

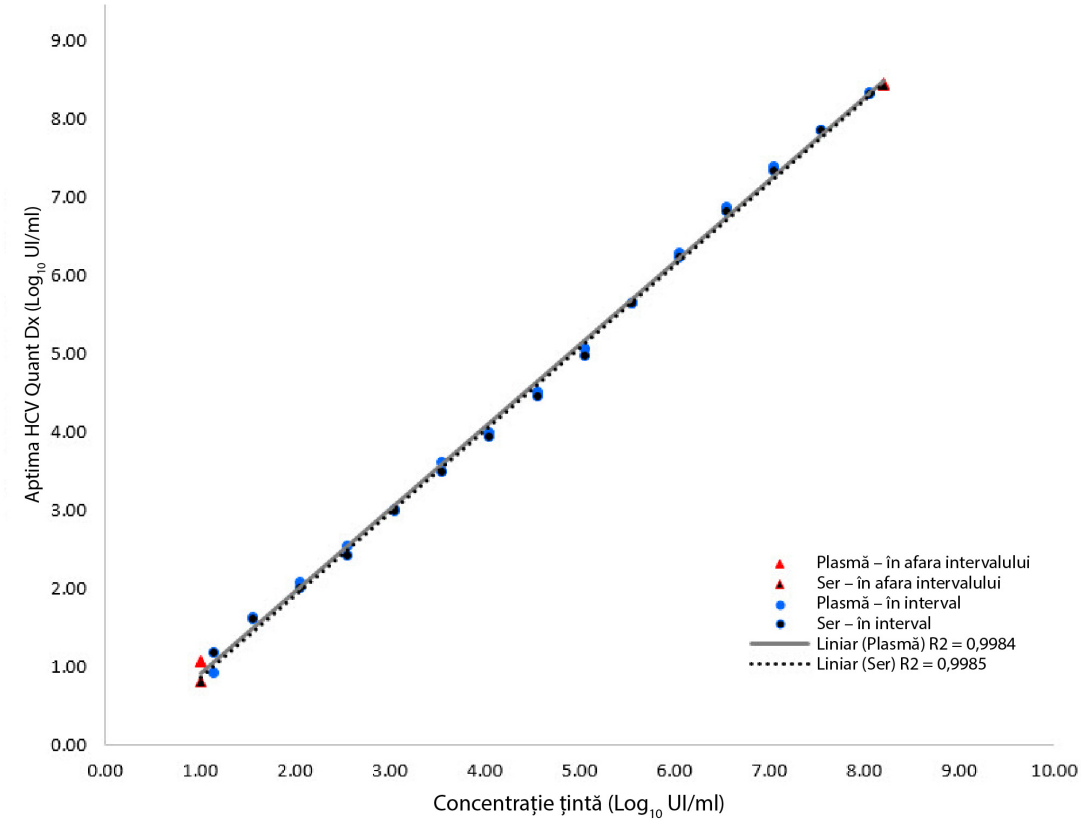


Figura 6. Liniaritatea în plasmă și ser

Liniaritatea la nivelul genotipurilor de HCV

Liniaritatea și intervalul liniar al genotipurilor de HCV de la 1 (1a pentru plasmă și 1b pentru ser) până la 6 au fost stabilite prin testarea unor cazuri clinice pozitive individuale diluate, câte unul pentru fiecare genotip de HCV pentru intervalul inferior al testului combinat cu aRNA (HCV 1a) pentru intervalul superior al testului (peste 100.000 UI/ml). Pentru toate genotipurile au fost testate diluții în plasmă și ser uman negative. Linearitatea a fost demonstrată pentru toate cele șase genotipuri în intervalul testat, după cum se arată în Figura 7 pentru plasmă și în Figura 8 pentru ser.

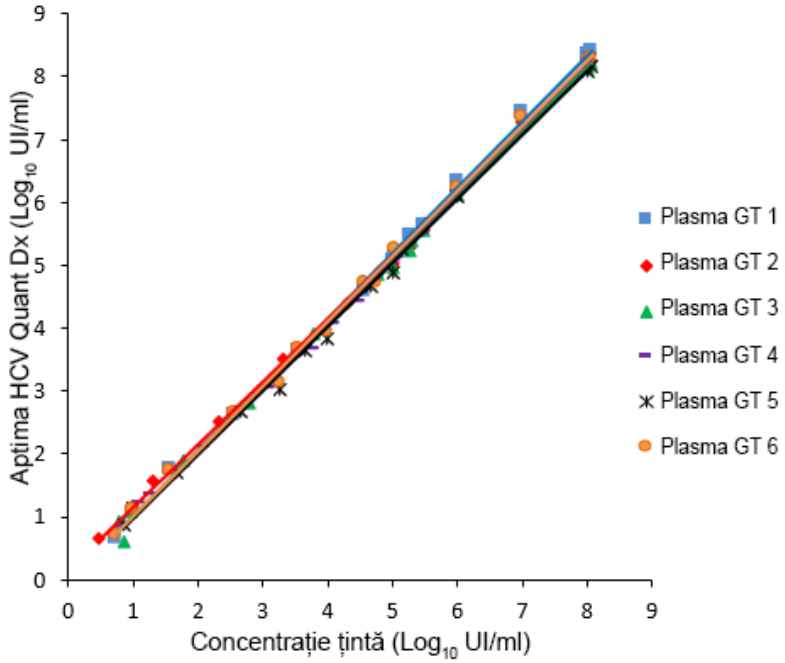


Figura 7. Intervalul liniar și liniaritatea (plasmă)

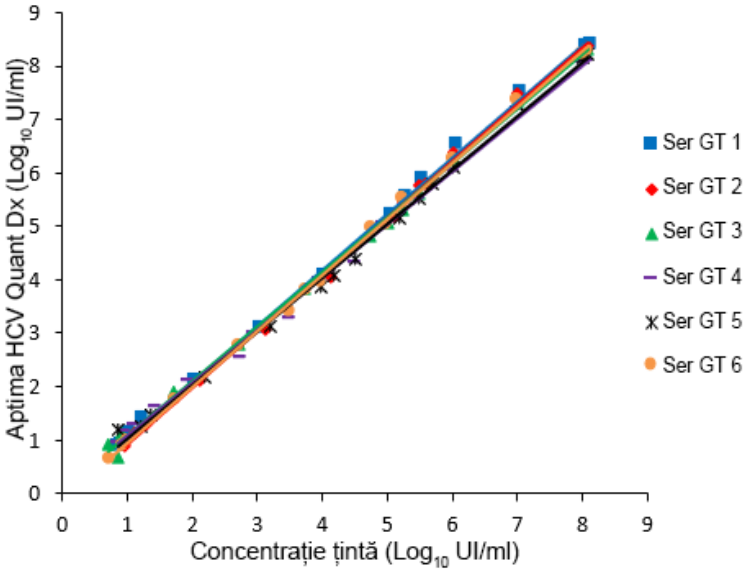


Figura 8. Intervalul liniar și liniaritatea (ser)

Limita inferioară de cuantificare utilizând Al doilea standard internațional al OMS

Limita inferioară de cuantificare (LLoQ) este definită drept cea mai scăzută concentrație la care ARN-ul HCV este cuantificat în mod fiabil cu o eroare totală conform CLSI EP17-A2.[18] Eroarea totală a fost estimată prin două metode: Eroarea analitică totală (TAE) = |abatere| + 2SD și Eroarea totală (TE) = SQRT(2) x 2SD. Pentru a asigura acuratețea și precizia măsurătorilor, eroarea totală a testului Aptima HCV Quant Dx a fost setată la 1 $\log_{10}$ UI/ml (adică, la LLoQ, diferența dintre două măsurători mai mare de 1 $\log_{10}$ UI/ml este semnificativă din punct de vedere statistic).

LLoQ a fost determinată prin testarea panelurilor din Al doilea standard Internațional al OMS pentru ARN-ul virusului hepatitei C (NIBSC 96/798 genotipul 1) diluate în plasmă și ser umane negative la HCV. Treizeci și șase (36) de replicări ale fiecărei diluții au fost testate cu fiecare dintre cele trei loturi de reactivi pentru un minim de 108 replicări pentru fiecare diluție. Rezultatele obținute din lotul de reactivi cu cea mai mare concentrație mai mare sau egală cu LoD și care îndeplinesc cerințele TE și TAE sunt prezentate în Tabelul 4 pentru plasmă și în Tabelul 5 pentru ser. LLoQ pentru Al doilea standard Internațional al OMS este de 7 UI/ml (0,82 $\log_{10}$ UI/ml) pentru plasmă și de 9 UI/ml (0,93 $\log_{10}$ UI/ml) pentru ser, așa cum este rezumat în Tabelul 6. LLoQ a fost stabilită pentru genotipuri (a se vedea *Determinarea limitei inferioare de cuantificare (LLoQ) la nivelul genotipurilor de HCV*). Aceste date privind genotipurile stabilesc LLoQ globală pentru test ca fiind 10 UI/ml.

Tabelul 4: LLoQ utilizând Al doilea standard internațional al OMS pentru HCV diluat în plasmă

Lot de reactiv	Aptima HCV Quant Dx	Aptima HCV Quant Dx	SD	Abatere	Calculat TE	Calculat TAE
	(UI/ml)	($\log_{10}$ UI/ml)	($\log_{10}$ UI/ml)	($\log_{10}$ UI/ml)	($\log_{10}$ UI/ml)	($\log_{10}$ 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

SD = deviație standard

Tabelul 5: LLoQ utilizând Al doilea standard internațional al OMS pentru HCV diluat în ser

Lot de reactiv	Aptima HCV Quant Dx	Aptima HCV Quant Dx	SD	Abatere	Calculat TE	Calculat TAE
	(UI/ml)	($\log_{10}$ UI/ml)	($\log_{10}$ UI/ml)	($\log_{10}$ UI/ml)	($\log_{10}$ UI/ml)	($\log_{10}$ 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

SD = deviație standard

Tabelul 6: Sinteza LLoQ utilizând AI doilea standard internațional al OMS pentru HCV

Lot de reactiv	LLoQ plasmă		LLoQ ser	
	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

Determinarea limitei inferioare de cuantificare (LLoQ) la nivelul genotipurilor de HCV

LLoQ a fost determinată prin testarea diluțiilor de eșantioane clinice pozitive la HCV pentru genotipurile 1, 2, 3, 4, 5 și 6 din plasma și serul umane negative la HCV. Alocarea concentrației pentru eșantioanele clinice a fost determinată utilizând un test comparativ. Treizeci și șase (36) de replicări ale fiecărui membru al panelului au fost testate cu fiecare dintre cele trei loturi de reactivi pentru un minim de 108 replicări pentru fiecare membru al panelului. Rezultatele obținute din lotul de reactivi cu cea mai mare concentrație mai mare sau egală cu LoD și care îndeplinesc cerințele TE și TAE, calculate în conformitate cu CLSI EP 17-A2,[18] sunt prezentate în Tabelul 7 pentru plasmă și în Tabelul 8 pentru ser. Doar un rezultat mai mare și unul mai mic decât LLoQ per genotip sunt raportate în Tabelul 7 și Tabelul 8 de mai jos, deoarece aceste rezultate reflectă cel mai bine limita LLoQ așteptată. Limitele LLoQ pentru genotipurile între 1 și 6 din plasmă și ser sunt sintetizate în Tabelul 9. Genotipul 6 a avut cea mai mare limită LLoQ pentru ser, de 10 UI/ml. Aceasta a stabilit LLoQ globală pentru test ca fiind 10 UI/ml.

Tabelul 7: Determinarea LLoQ la nivelul genotipurilor în plasmă

Genotip	Aptima HCV Quant Dx[a] (UI/ml)	Aptima HCV Quant Dx[a] (log_{10} UI/ml)	SD (log_{10} UI/ml)	Abatere (log_{10} UI/ml)	TE calculat (log_{10} UI/ml)	TAE calculat (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

SD = deviație standard

[a] Au fost procesate niveluri suplimentare, însă datele nu sunt raportate în tabel.

Tabelul 8: Determinarea LLoQ la nivelul genotipurilor în ser

Genotip	Aptima HCV Quant Dx[a] (UI/ml)	Aptima HCV Quant Dx[a] (log_{10} UI/ml)	SD (log_{10} UI/ml)	Abatere (log_{10} UI/ml)	TE calculat (log_{10} UI/ml)	TAE calculat (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

SD = deviație standard

[a] Au fost procesate niveluri suplimentare, însă datele nu sunt raportate în tabel.

Tabelul 9: Sinteza LLoQ la nivelul genotipurilor în plasmă și ser

Genotip HCV	LLoQ plasmă		LLoQ ser	
	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

Trasabilitatea la standardul OMS

O serie de standarde secundare cu concentrații cunoscute au fost utilizate pe întreg parcursul dezvoltării și fabricării produsului, pentru stabilirea trasabilității la standardul OMS. Concentrațiile testate pentru standardul OMS HCV au fost cuprinse între 4,00 și 2,30 log_{10} UI/ml, standardele secundare au inclus concentrații cuprinse între 1,50 și 8,46 log_{10} UI/ml. Controalele și calibratoarele pentru testul Aptima HCV Quant Dx au fost, de asemenea, testate alături de standardele secundare și de standardul OMS. Toate panelurile au avut rezultate similare și au fost distribuite liniar la nivelul intervalului liniar al testului, după cum se prezintă în Figura 9.

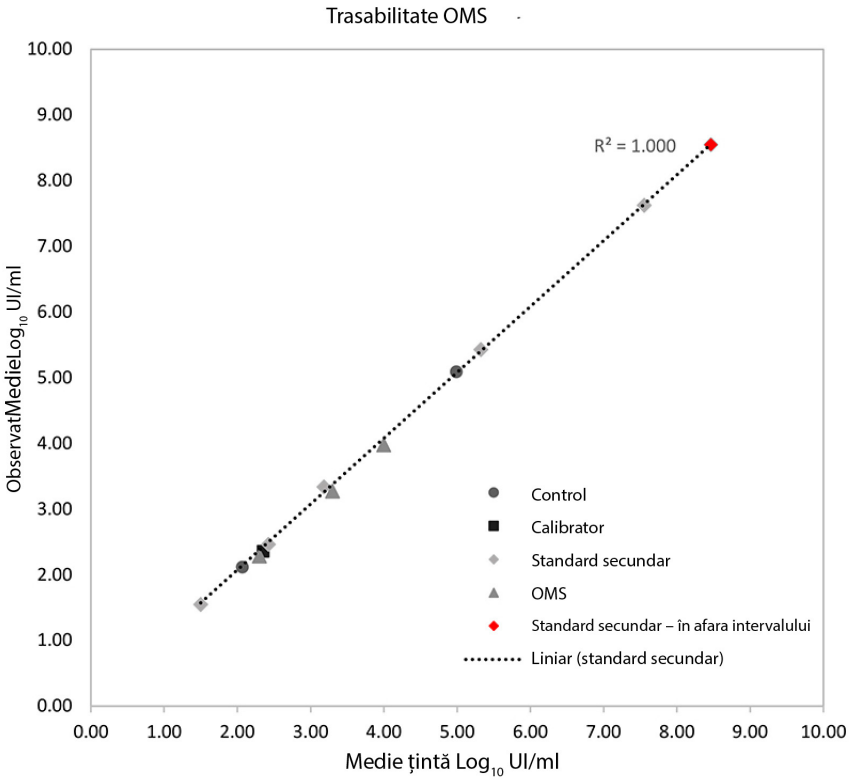


Figura 9. Trasabilitatea între concentrațiile în conformitate cu AI treilea standard OMS HCV și concentrația observată din testul Aptima HCV Quant Dx

Precizie

Panelul de precizie Aptima HCV Quant Dx a fost construit prin diluarea plasmei clinice HCV-pozitive și a ARNa-ului HCV 1a în plasmă clinică HCV-negativă (cei mai mari doi membri ai panelului au fost aRNA). Șapte membri ai panelului pozitiv au acoperit intervalul de testare (între 1,86 log_{10} UI/ml și 7,68 log_{10} UI/ml) și au fost testați în trei replicări per procesare de către un singur operator, folosind un lot pilot de reactivi pe un sistem Panther pe parcursul a 21 de zile de testare, cu două procesări pe zi.

Tabelul 10 arată precizia rezultatelor testului (exprimată în log_{10} UI/ml) între procesări, în cadrul procesărilor și per total. Variabilitatea totală a fost de ≤ 0,14 la nivelul tuturor membrilor panelului, în principal datorită variabilității din cadrul procesării (adică datorită erorii aleatorii).

Tabelul 10: Precizia testului Aptima HCV Quant Dx

N	Concentrație medie (UI/ml)	Concentrație medie (log_{10} UI/ml)	Între zile SD	Între procesări SD	În cadrul procesării SD	Total SD
126	72	1,86	0,02	0,06	0,12	0,14
126	182	2,26	0,00	0,07	0,07	0,10
126	617	2,79	0,00	0,06	0,08	0,10
126	1.950	3,29	0,00	0,07	0,05	0,08
126	8.128	3,91	0,00	0,06	0,07	0,10
126	616.595	5,79	0,03	0,04	0,06	0,08
125[a]	47.863.009	7,68	0,05	0,05	0,06	0,09

SD = deviație standard

[a] Numărul de rezultate valide care se încadrează în intervalul liniar al testului.

Notă: Variabilitatea pentru unii factori poate fi negativă din punct de vedere numeric, lucru valabil dacă variabilitatea este foarte scăzută din cauza factorilor respectivi. Când se întâmplă acest lucru, SD este afișată ca 0,00.

Substanțe potențial interferente

A fost evaluată sensibilitatea testului Aptima HCV Quant Dx la interferența generată de nivelurile ridicate de substanțe endogene sau de medicamentele prescrise frecvent la indivizii infectați cu HCV. Au fost testate mostrele de plasmă negative la HCV îmbogățite cu HCV la o concentrație de aproximativ 15 UI/ml (1,2 log_{10} UI/ml) și 1995 UI/ml (3,3 log_{10} UI/ml).

Nu s-a observat nicio interferență în performanța testului în prezența albuminei (90 mg/ml), a hemoglobinei (5 mg/ml), a trigliceridelor (30 mg/ml) sau a bilirubinei neconjugate (0,2 mg/ml).

Eșantioanele clinice de plasmă de la pacienții cu niveluri ridicate de substanțe definite sau de la pacienții suferind de boli, au fost testate zece mostre pentru fiecare substanță, dintre cele enumerate în Tabelul 11 au fost testate cu testul Aptima HCV Quant Dx. Nu s-a observat nicio interferență în performanțele testului.

Tabelul 11: Tipuri de eșantioane clinice testate

	Tipuri de eșantioane clinice
1	Factor reumatoid (RF)
2	Anticorp antinuclear (ANA)
3	Anticorpul Anti-Jo-1 (JO-1)
4	Lupus eritematos sistemic (LES)
5	Artrită reumatoidă (AR)
6	Scleroză multiplă (MS)
7	Hiperglobulinemie
8	Alanin aminotransferază (ALT) crescută
9	Aspartataminotransferază (AST) crescută
10	Ciroză alcoolică (AC)
11	Mielom multiplu (MM)
12	Lipemic (lipide crescute)
13	Icteric (bilirubină crescută)
14	Hemolizat (hemoglobină crescută)
15	Albumină proteică crescută
16	Anticorpi pentru HBV
17	Anticorpi pentru HIV-1
18	Anticorpi pentru HIV-2

Nu s-a observat nicio interferență în performanța testului în prezența substanțelor exogene enumerate în Tabelul 12 la concentrații de cel puțin de trei ori mai mari decât C_{max} (plasmă umană).

Tabelul 12: Substanțe exogene

Grup de substanțe exogene	Substanțe exogene testate
1	Telaprevir, claritromicină, interferon alfa-2a, dolutegravir, azitromicină
2	Simeprevir, sofosbuvir
3	Efavirenz, boceprevir, interferon alfa-2b pegilat, emtricitabină, raltegravir, amoxicilină
4	Abacavir sulfat, ribavirină, dasabuvir, rilpivirină, rifampin/rifampicină
5	Lopinavir, tenofovir, lamivudină, valganciclovir
6	Heparină, EDTA, citrat de sodiu

Performanțe cu eșantioane negative la HCV

Specificitatea a fost determinată utilizând 198 de eșantioane proaspete și 538 de eșantioane clinice negative la HCV congelate. Un total de 370 de eșantioane de plasmă și 366 de eșantioane de ser au fost confirmate ca fiind negative la HCV utilizând teste aprobate. Specificitatea a fost calculată ca procentaj al mostrelor negative la HCV cu rezultatele „Nedetectat”. ARN-ul HCV nu a fost detectat în toate cele 736 de mostre. Specificitatea a fost de 100% (736/736, CI 95%: 99,6%-100%).

Tabelul 13: Performanțe în eșantioanele clinice de ser și plasmă negative la HCV

	Plasmă proaspătă	Plasmă congelată	Plasmă Total	Proaspăt Ser	Ser congelat	Ser Total	Combinat
Replicate valide (n)	100	270	370	98	268	366	736
Nedetectat	100	270	370	98	268	366	736
Specificitate (CI 95%)	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
	(97,1-100)	(98,9-100)	(99,2-100)	(97,0-100)	(98,9-100)	(99,2-100)	(99,6-100)

CI = interval de încredere

Specificitatea analitică

Potențiala reactivitate încrucișată la agenții patogeni enumerați în Tabelul 14 a fost evaluată în plasma umană negativă la HCV în prezența sau absența a aproximativ 15 UI/ml (1,2 $\log_{10}$ UI/ml) sau 1995 (3,3 $\log_{10}$ UI/ml) de HCV. Nu s-a observat reactivitate încrucișată. Nu a fost observată nicio interferență în prezența agenților patogeni.

Tabelul 14: Agenți patogeni testați pentru specificitatea analitică

Agent patogen	Concentrație	
Virusul hepatitei A	100.000	copii/ml
Virusul hepatitei B (HBV)	100.000	UI/ml[a]
Virusul hepatitei G	1.470	genom/ml
HIV-1	100.000	copii/ml
HIV-2	100.000	UFP/ml[b]
Virusul Herpes simplex de tip 1 (HSV-1)	100.000	UFP/ml
Virusul Herpes simplex de tip 2 (HSV-2)	100.000	UFP/ml
Virusul herpetic uman tip 6B	100.000	copii/ml
Virusul herpetic uman tip 8	2.667	TCID50 U/ml[c]
Virusul T-limfotropic uman virus tip 1 (HTLV-1)	100.000	pv/ml[d]
Virusul T-limfotropic uman virus tip 2 (HTLV-2)	100.000	pv/ml
Parvovirus B19	100.000	UI/ml
Virusul West Nile	100.000	UFP/ml
Virusul dengue tip 1	100.000	UFP/ml
Virusul dengue tip 2	100.000	UFP/ml
Virusul dengue tip 3	100.000	UFP/ml
Virusul dengue tip 4	100.000	UFP/ml
Citomegalovirus	100.000	UFP/ml
Virusul Epstein-Barr	100.000	copii/ml
Virusul rubeolic	100.000	UFP/ml
Papilomavirus uman	100.000	celule/ml
Adenovirus de tip 5	100.000	TCID50 U/ml
Virusul gripei tip A	100.000	TCID50 U/ml
Virusul encefalitei japoneze	NA	NA
Virusul encefalitei St. Louis	NA	NA
Virusul encefalitei Murray Valley	2.643	DL50/ml[e]
Virusul febrei galbene	100.000	celule/ml

Agent patogen	Concentrație	
Corynebacterium diphtheriae	1.000.000	UFC/ml[f]
Streptococcus pneumoniae	1.000.000	UFC/ml
Staphylococcus aureus	1.000.000	UFC/ml
Propionibacterium acnes	1.000.000	UFC/ml
Staphylococcus epidermidis	1.000.000	UFC/ml
Candida albicans	1.000.000	UFC/ml
Neisseria gonorrhoeae	1.000.000	UFC/ml
Chlamydia trachomatis	1.000.000	UFI/ml[g]
Trichomonas vaginalis	1.000.000	celule/ml

[a] UI/ml = unități internaționale per ml

[b] UFP/ml = unități formatoare de placă per ml

[c] TCID50 U/ml = unități cultură tisulară doză infecțioasă per ml

[d] pv/ml = particule virale per ml

[e] DL50/ml = doză letală per ml

[f] UFC/ml = unități formatoare de colonii per ml

[g] UFI/ml = unități formatoare de incluziuni per ml

Mostre clinice conținând virusuri diferite de HCV

Agenții patogeni enumerați în Tabelul 15 au fost evaluați prin obținerea eșantioanelor clinice individuale, infectate în mod natural. Acestea au fost testate în prezența sau absența a aproximativ 15 UI/ml (1,2 log_{10} UI/ml) sau 1995 UI/ml (3,3 log_{10} UI/ml) de virus HCV. Nu s-a observat reactivitate încrucișată. Nu s-a observat nicio interferență.

Tabelul 15: Mostre clinice testate pentru specificitatea analitică

Microorganism	Matrice	N (donatori)
HBV	Ser	5
HBV	Plasmă	5
Virusul dengue	Plasmă	10
Virusul hepatitei A	Plasmă	10
HTLV-1	Plasmă	10
HTLV-2	Plasmă	10
HIV-1	Plasmă	10
Virusul West Nile	Plasmă	10

Echivalența matricei

O sută șaptezeci și șase de seturi de mostre de tuburi de recoltare a sângelui potrivite (tuburi de ser, SST, PPT, ACD, K2 EDTA, K3 EDTA) au fost evaluate pentru echivalența matricei. Dintre aceste seturi de mostre, 68 au fost seturi infectate natural pozitiv la HCV și 108 au fost seturi negative la HCV. Douăzeci și șase dintre cele 68 de mostre pozitive au fost diluate în continuare cu 13 mostre negative din tuburi de recoltare a sângelui la 1:10, 1:100 și 1:1000 sau 1:100, 1:10.000 și 1:100.000, cu concentrații în intervalul dinamic al testului (146 de replicări pozitive pentru fiecare tub de recoltare). Corelația a fost măsurată prin utilizarea tubului de colectare a serului ca element de comparație.

Tabelul 16: Studiu de echivalență a matricei

Tub de colectare a sângelui	Regresie Deming	CI 95% al pantei		CI 95% al interceptării		R^2	Diferență medie (log_{10})
		Limită superioară	Limită superioară	Limită inferioară	Limită superioară		
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

Diluarea mostrelor utilizând diluantul pentru eșantioane Aptima (1:3)

Pentru a evalua acuratețea de detecție a ARN-ului HCV în mostrele diluate cu diluantul pentru eșantioane Aptima, plasmă sau ser, mostrele între 1,67 log_{10} UI/ml și 6,34 log_{10} UI/ml au fost diluate 1:3 cu diluant pentru eșantioane Aptima (240 µl de mostră combinate cu 480 µl de diluant pentru eșantioane Aptima). Fiecare mostră a fost testată în stare pură și diluată (1:3) în triplicat. Testarea a fost efectuată utilizând un singur lot de reactivi de test pe un sistem Panther cu două loturi de diluanți pentru eșantioane Aptima. Diferența dintre rezultatele testului pur și cel diluat a fost calculată pentru fiecare set de mostre, după cum se arată în Tabelul 17 pentru plasmă și în Tabelul 18 pentru ser.

Tabelul 17: Rezumatul comparației matricei de diluție 1:3 pentru eșantioanele de plasmă de Log_{10} UI/ml

Matricea de plasmă Concentrație medie raportată (log_{10} UI/ml) n = 3	Diluant Concentrație medie raportată (log_{10} UI/ml) n = 6	Diferență Diluant din matricea de plasmă (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]Rezultat din două replicări. Un rezultat „Detectat”, dar necuantificat.
[b]Rezultat din patru replicări. Două rezultate „Detectat”, dar necuantificate.

Tabelul 18: Rezumatul comparației matricei de diluție a mostrei de ser 1:3 pentru Log_{10} UI/ml

Matricea de ser Concentrație medie raportată (log_{10} UI/ml) n = 3	Diluant Concentrație medie raportată (log_{10} UI/ml) n = 6	Diferență Diluant din matricea de ser (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

[a]Rezultat din două replicări. Un rezultat „Detectat”, dar necuantificat.

Diluarea mostrelor utilizând diluantul pentru eșantioane Aptima (1:100)

Pentru a evalua acuratețea detectării ARN-ului HCV în mostre diluate cu plasmă sau ser Diluant pentru eșantioane Aptima, cinci eșantioane de plasmă infectată natural și cinci mostre de ser infectate natural, împreună cu zece eșantioane fiecare îmbogățită cu plasmă și ser negative la HCV cu țintire a aRNA-ului HCV peste ULoQ, 8 log_{10} UI/ml la 8,30 log_{10} UI/ml au fost testate în triplicat. S-a realizat o diluție de 1:100 cu o parte mostră și 99 de părți diluant pentru eșantioane Aptima chiar înainte de testare. Testarea a fost efectuată utilizând un singur lot de reactivi de test pe un sistem Panther cu două loturi de diluanți pentru eșantioane Aptima. Diferența dintre rezultatele testului pur și cel diluat a fost calculată pentru fiecare set de mostre, după cum se arată în Tabelul 19 pentru plasmă și în Tabelul 20 pentru ser.

Tabelul 19: Rezumatul comparației matricei de diluție 1:100 pentru eșantioanele de plasmă de Log_{10} UI/ml

Matrice	Diluție	Matricea de plasmă Concentrație medie raportată (log_{10} UI/ml) n = 3	Diluant Concentrație medie raportată (log_{10} UI/ml) n = 6	Diferență
Plasmă	1:100	8,03[a]	7,95	-0,08
		8,07[a]	7,93	-0,15
		8,14[a]	7,97	-0,17
		8,16[a]	7,94	-0,22
		8,09[a]	7,96	-0,13
		8,38[a]	7,97	-0,42
		7,98[a]	7,89	-0,09
		8,08[a]	7,89	-0,19
		8,14[a]	7,92	-0,22
		8,08[a]	7,97	-0,11
		6,41	6,22	-0,19
		6,73	6,58	-0,15
		6,88	6,75	-0,14
		6,54	6,51	-0,03
		6,55	6,29	-0,27

[a]Eșantion îmbogățit

Tabelul 20: Rezumatul comparației matricei de diluție a mostrei de ser 1:100 pentru Log_{10} UI/ml

Matrice	Diluție	Matricea de ser Concentrație medie raportată (log_{10} UI/ml) n = 3	Diluant Concentrație medie raportată (log_{10} UI/ml) n = 6	Diferență
Ser	1:100	8,04[a]	7,94	-0,09
		8,07[a]	7,91	-0,16
		7,99[a]	7,91	-0,08
		8,03[a]	7,92	-0,11
		7,99[a]	7,89	-0,09
		8,05[a]	7,85	-0,20
		8,16[a]	7,93	-0,23
		8,16[a]	7,90	-0,26
		8,06[a]	7,89	-0,17
		8,26[a]	7,92	-0,34
		7,34	7,09	-0,25
		7,07	6,83	-0,24
		7,18	6,80	-0,38
		7,35[b]	7,12	-0,23
		7,07	6,68	-0,39

[a]Eșantion îmbogățit

[c]Rezultat obținut pentru două din trei replicări testate. Un replicat cu deviație extremă a fost eliminat.

Confirmarea LLoQ-ului în eșantioane clinice diluate în diluant pentru eșantioane

LLoQ-ul pentru testul Aptima HCV Quant a fost confirmat cu eșantioane clinice cu genotipul 1 HCV diluate în diluant pentru eșantioane Aptima. Eșantioanele au fost preparate în plasmă umană și ser negative la HCV la 21, 30 și 45 UI/ml. Fiecare panel a fost diluat la 1:3 în diluant pentru eșantioane Aptima chiar înainte de testare, pentru generarea unor concentrații finale de aproximativ 7, 10 și 15 UI/ml. Treizeci și șase (36) de replicări pentru fiecare membru al panelului au fost testate cu un lot de reactiv pe parcursul a trei zile. Un LLoQ ≤10 UI/ml pentru plasmă și ser HCV diluate în diluant pentru eșantioane Aptima a fost confirmată după cum se prezintă în Tabelul 21.

Tabelul 21: Confirmarea LLoQ-ului – Mostre clinice în diluant pentru eșantioane Aptima

Matrice	Concentrație țintă (UI/ml)	Concentrație țintă (log_{10} UI/ml)	% Detectat	Aptima HCV Quant Dx (UI/ml)	Aptima HCV Quant Dx (log_{10} UI/ml)	SD (log_{10} UI/ml)	Abatere (log_{10} UI/ml)	TE calculat (log_{10} UI/ml)	TAE calculat (log_{10} UI/ml)
Plasmă	7	0,85	100%	9	0,94	0,25	0,10	0,71	0,60
Ser	7	0,85	100%	9	0,96	0,21	0,12	0,60	0,54

Precizia mostrelor diluate

Panelul de precizie Aptima HCV Quant Dx a fost construit prin diluarea plasmei clinice HCV-pozitive și a aRNA-ului HCV în plasmă clinică HCV-negativă. Acestea au fost diluate în continuare în diluant pentru eșantioane Aptima Specimen. Panelurile pozitive au fost diluate în diluant pentru eșantioane Aptima. Acestea au fost testate în trei replicări per procesare de către un operator utilizând un lot-pilot de reactivi pe un singur sistem Panther pe parcursul a 21 de zile de testare, două procesări pe zi.

Tabelul 22 arată precizia rezultatelor testului (în log_{10} UI/ml) între procesări, în cadrul procesării, între zile și per total. Variabilitatea totală a fost de ≤ 0,15 la nivelul tuturor membrilor panelului, în principal datorită variabilității din cadrul procesării (adică datorită erorii aleatorii).

Tabelul 22: Precizia panelurilor diluate în diluantul pentru eșantioane Aptima

Diluție	N	Concentrație medie (log_{10} UI/ml)	Deviație standard			
			Între zile	Între procesări	În cadrul procesării	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] Numărul de rezultate valide care se încadrează în intervalul liniar al testului

Notă: *Variabilitatea pentru unii factori poate fi negativă din punct de vedere numeric lucru valabil dacă variabilitatea este foarte scăzută din cauza factorilor respectivi. Când se întâmplă acest lucru, SD și CV sunt afișate ca 0.*

Transferul (Carryover-ul)

Pentru a stabili dacă sistemul Panther minimizează riscul rezultatelor fals pozitive provenite din contaminarea la transfer (carryover), a fost efectuat un studiu folosind paneluri îmbogățite pe trei sisteme Panther. Transferul (carryover-ul) a fost evaluat utilizând mostre de plasmă îmbogățite cu aRNA cu titru ridicat (7 log_{10} UI/ml) intercalate între mostrele negative la HCV într-un format matriceal. Testarea a fost efectuată în mai mult de cincisprezece procesări. Rata globală de transfer (carryover) a fost de 0,14% (1/704)

Panelul de seroconversie

Au fost testate 11 seturi de paneluri de seroconversie HCV, în total 72 de mostre. Rezultatele testului Aptima HCV Quant Dx au fost comparate cu rezultatele testării pentru anticorpi anti-HCV. Numărul de zile până la primul rezultat reactiv este menționat în Tabelul 23. Testul Aptima HCV Quant Dx a detectat prezența HCV în medie cu 20 de zile mai devreme decât testările pentru anticorpi.

Tabelul 23: Rezumatul datelor panelului de seroconversie

ID panel	Număr de membri testați ai panelului	Număr de membri reactivi ai panelului			Zile până la primul rezultat reactiv			Diferența în zile până la primul rezultat reactiv (în funcție de data recoltării sângelui)	
		Aptima HCV Quant Dx	Testare1 anticorpi anti-HCV	Testare2 anticorpi anti-HCV	Aptima HCV Quant Dx	Testare1 anticorpi anti-HCV	Testare2 anticorpi anti-HCV	Zile anterioare testării1 anticorpi anti-HCV	Zile anterioare testării2 anticorpi anti-HCV
PHV911	4	4	3	3	3[a]	14	14	11	11
PHV913	4	4	0	2	0	9[b]	7	9	7
PH919	7	4	3	3	25	28	28	3	3
PH920	9	9	7	6	0[c]	13	16	13	16
PH921	11	11	9	7	0	7	18	7	18
PH923	6	6	2	2	0	21	21	21	21
PH924	6	6	3	3	0	59	59	59	59
PH925	5	5	1	1	0	27	27	27	27
PH926	5	5	1	0	0	14	14[b]	14	14
6227	7	4	2	2	42	74	74	32	32
6229	8	8	4	3	0	17	20	17	20
Total	72	66	35	32			Medie	19,36	20,73
							Mediană	14	18

Testarea1 pentru anticorpi anti-HCV a fost finalizată cu testul Abbot Prism HCV

Testarea2 pentru anticorpi anti-HCV a fost finalizată cu testul Ortho Enhanced SAVE, cu următoarele excepții:

Panelurile 6227 și 6229, care au fost testate cu testul Ortho ELISA Anti-HCV 3.0

[a] Prima recoltare de sânge nu a fost testată, din cauza indisponibilității mostrei de la furnizor.

[b] Toate recoltările de sânge din acest panel au fost nereactive pentru anticorpi anti-HCV. Ultima zi de recoltare a sângelui a fost utilizată ca „Zile până la primul rezultat reactiv”.

[c] A doua recoltare de sânge nu a fost testată, din cauza indisponibilității mostrei de la furnizor

Studiul de reproducibilitate

Reproductibilitatea a fost evaluată pe sistemul Panther și în trei locații externe din SUA. Doi operatori au efectuat testarea în fiecare locație. Fiecare operator a efectuat două procesări pe zi pe parcursul a trei zile, folosind 3 loturi de reactivi pe parcursul testării. Fiecare procesare a avut 3 replicări ale fiecărui membru al panelului. Per total, au fost testate 108 replicări pentru fiecare membru al panelului.

Reproductibilitatea a fost testată utilizând membrii panelului preparați folosind plasmă negativă la HCV. Membrii panelului pozitiv au fost pozitivi pentru genotipul 1, genotipul 2 sau genotipul 3 de HCV. Concentrațiile de ARN HCV au cuprins intervalul liniar al testului.

Tabelul 24 arată reproductibilitatea și precizia rezultatelor testului pentru fiecare membru pozitiv al panelului între locații, între operatori, între loturi, între zile, între procesări, în cadrulf procesării și în general, precum și proporția de replicări cu rezultate în afara intervalului raportabil al testului Aptima HCV Quant Dx.

Coeficientul de variație a fost calculat folosind următoarea ecuație, unde σ^2 este variația de referință a datelor după transformarea $\log_{10}$.

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

Pentru membrul panelului negativ la HCV, au fost testate 108 replicări și ARN-ul HCV nu a fost detectat în toate cele 108 replicări (concordanță pentru negativ = 100%, CI 95%: 96,6%–100%). Pentru toți membrii panelului pozitivi la HCV, valorile concordanței au fost 100%.

Tabelul 24: Reproductibilitatea nivelului de ARN HCV pentru testul Aptima HCV Quant Dx pe sistemul Panther pentru membrii pozitivi ai panelului

GT	N	Media observată		Între centre	Între loturi	Între operatori/zile[a]	Între cicluri	În cadrul ciclurilor	Total	Sub LLoQ n (%)	Peste ULoQ n (%)
		IU/mL	Log_{10} IU/mL	SD (%CV)	SD (%CV)	SD (%CV)	SD (%CV)	SD (%CV)	SD (%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)
2	108	11,3	1,0	0,062 (14,29)	0,075 (17,28)	0,112 (26,28)	0,000 (0,00)	0,290 (75,02)	0,326 (86,94)	53 (49,1)	0 (0,0)
	108	13,9	1,1	0,000 (0,00)	0,125 (29,36)	0,128 (30,18)	0,068 (15,83)	0,211 (51,69)	0,285 (73,45)	46 (42,6)	0 (0,0)
	108	62,6	1,8	0,000 (0,00)	0,044 (10,18)	0,101 (23,48)	0,069 (16,00)	0,124 (29,25)	0,180 (43,24)	0 (0,0)	0 (0,0)
	108	351,0	2,5	0,022 (5,18)	0,062 (14,38)	0,004 (1,01)	0,045 (10,31)	0,081 (18,70)	0,113 (26,56)	0 (0,0)	0 (0,0)
	108	14519,2	4,1	0,000 (0,00)	0,051 (11,78)	0,048 (11,01)	0,011 (2,42)	0,092 (21,50)	0,116 (27,25)	0 (0,0)	0 (0,0)
	108	5810012,3	6,8	0,000 (0,00)	0,017 (4,00)	0,041 (9,54)	0,015 (3,53)	0,104 (24,25)	0,114 (26,73)	0 (0,0)	0 (0,0)
	108	77499195,7	7,9	0,000 (0,00)	0,018 (4,24)	0,028 (6,56)	0,000 (0,00)	0,077 (17,77)	0,084 (19,46)	0 (0,0)	10 (9,3)

GT	N	Media observată		Între centre	Între loturi	Între operatori/zile[a]	Între cicluri	În cadrul ciclurilor	Total	Sub LLoQ n (%)	Peste ULoQ n (%)
		IU/mL	Log_{10} IU/mL	SD (%CV)	SD (%CV)	SD (%CV)	SD (%CV)	SD (%CV)	SD (%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)

%CV = coeficient de variație log-normal, GT = genotip, SD = deviație standard (log_{10} UI/ml)

Notă: Variabilitatea unor factori poate fi negativă numeric. Acest lucru se poate întâmpla dacă variabilitatea acelor factori este foarte mică. În aceste cazuri, SD și CV sunt afișate ca 0.

[a] Diferența Între operatori poate confundată cu cea Între zile; prin urmare, estimările pentru diferența Între operatori și Între zile sunt combinate în Între operatori/zile.

Performanțe clinice

Corelația metodelor

Performanța testului Aptima HCV Quant Dx a fost evaluată pe baza unui test comparativ cu marcaj CE prin testarea eșantioanelor clinice nediluate de la pacienții infectați cu HCV pe trei sisteme Panther folosind patru loturi de reactivi. Un total de 1058 de mostre de plasmă și de ser (872 plasmă, 186 ser) la nivelul tuturor genotipurilor de HCV din intervalul liniar comun pentru ambele teste a fost utilizat pentru regresia liniară, după cum se arată în Figura 10.

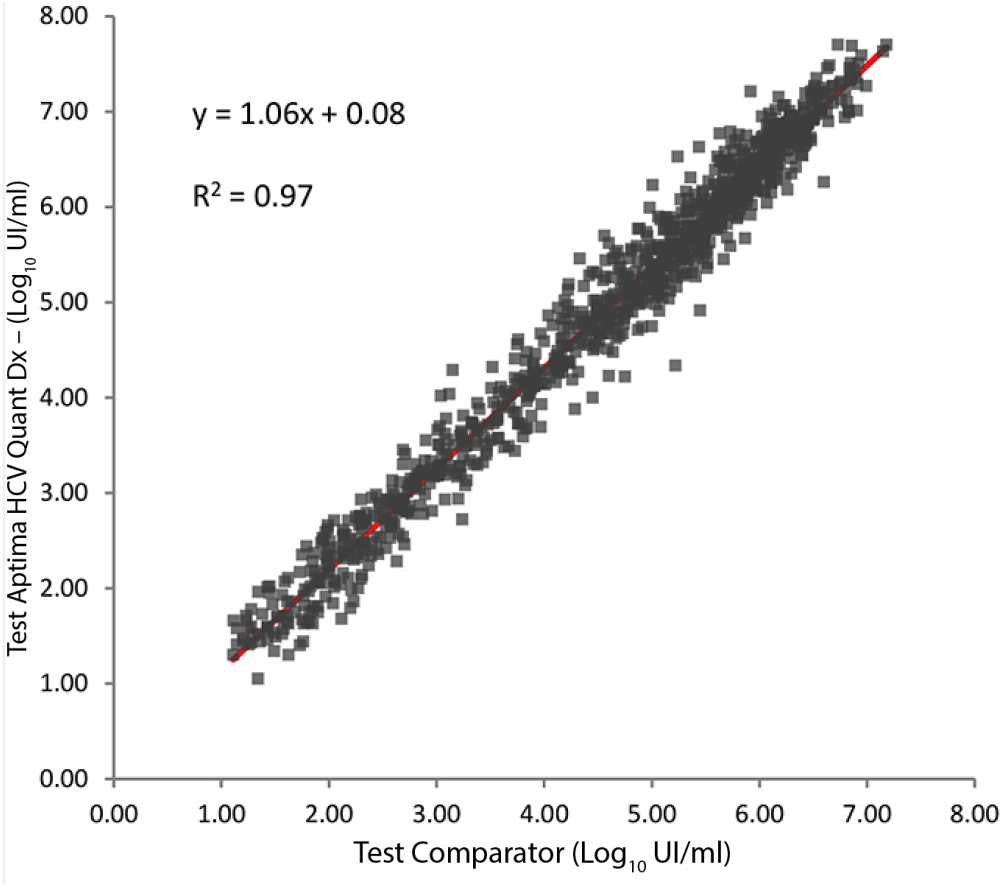


Figura 10. Corelația dintre testul Aptima HCV Quant Dx și testul comparativ

Studiul de utilitate clinică

Studiul a fost conceput pentru a demonstra utilitatea clinică prin estimarea caracteristicilor de performanță pentru obținerea unui răspuns virusologic susținut (SVR) sau a unui răspuns virusologic nesusținut (NSVR) la momente de timp relevante din punct de vedere clinic stabilite în timpul tratamentului antiviral de 8, 12 sau 24 de săptămâni. Studiul a evaluat, de asemenea, impactul covariatelor (de exemplu, vârsta, sexul, rasa, nivelul ARN-ului HCV la momentul inițial, prezența sau absența cirozei) asupra răspunsului SVR.

Eșantioanele au fost colectate prospectiv de la subiecți cu genotip 1, 2 și 3 infectați cronic cu HCV care începeau tratamentul cu tratamente pe bază de sofosbuvir de 8, 12 sau 24 de săptămâni, folosind medicamente aprobate de FDA, prescrise în conformitate cu etichetarea aprobată de FDA și/sau cu ghidurile de tratament pentru HCV ale AASLD/IDSA.[20,21] Au fost eligibili subiecții care nu au primit sau au primit tratament anti-HCV, precum și subiecții fără ciroză sau cu ciroză compensată, după cum este aplicabil pentru fiecare regim de tratament.

Determinarea încărcăturii virale de ARN HCV a fost efectuată la momentul inițial, săptămâna 1, săptămâna 2, săptămâna 4, săptămâna 8, săptămâna 12 și săptămâna 24 cu ajutorul testului Aptima HCV Quant Dx. Rezultatele de la sfârșitul tratamentului (EOT) și de urmărire după săptămâna 4 și săptămâna 12 de tratament au fost determinate cu ajutorul testului Aptima HCV Quant Dx și a două teste cantitative aprobate pentru ARN-ul HCV. SVR a fost definit ca fiind un nivel de ARN HCV <LLoQ, așa cum a fost determinat de un test cantitativ aprobat pentru mostra de după săptămâna 12 de tratament.

Dintre cei 352 de subiecți înrolați din 35 de centre clinice din SUA, 274 de subiecți au avut un statut de SVR concludent și au putut fi evaluați pentru analiză. 56 de subiecți au avut statutul de SVR neevaluabil și nu au fost incluși în analiză. Alți 22 de subiecți au avut un statut de SVR concludent, dar au fost nevalorificabili din cauza lipsei rezultatelor de dinaintea tratamentului/la momentul inițial, a faptului că toate rezultatele în timpul tratamentului au fost <LLoQ sau nu au fost detectate, sau că genotipurile nu au fost stabilite cu un test aprobat. În acest studiu, 90,5% (248/274) dintre subiecți au obținut SVR și 9,5% (26/274) au obținut NSVR (a se vedea Tabelul 31 până la Tabelul 33 pentru numărul de subiecți în funcție de genotip și DRA). Cea mai mare încărcătură virală la momentul inițial a fost de 7,58 $\log_{10}$ UI/ml, așa cum a fost determinată prin testul Aptima HCV Quant Dx. Toți subiecții evaluabili au finalizat terapia, fără eșecuri în timpul tratamentului (de exemplu, lipsa răspunsului). Un total de 2449 de mostre colectate la diferite momente de timp de la fiecare subiect au fost testate în trei centre de testare din SUA.

Tabelul 25 prezintă datele demografice și caracteristicile clinice ale subiecților pentru cei 274 de subiecți evaluabili.

Tabelul 25: Date demografice și caracteristici clinice

Caracteristici		
Total	N	274
Sex	Femei, n (%)	112 (40,9)
	Bărbați, n (%)	162 (59,1)
Vârstă (ani)	n	274
	Medie	55,1
	Mediană	56,0
	SD	10,40
	Minim	23
	Maxim	83
	21–49, n (%)	61 (22,3)
	50–70, n (%)	203 (74,1)
	>70, n (%)	10 (3,6)
Etnie	n	274
	Hispanici sau latino-americani, n (%)	65 (23,7)
	Non-hispanici sau latino-americani, n (%)	202 (73,7)
	Etnie necunoscută, n (%)	6 (2,2)
	Declarare a etniei refuzată, n (%)	1 (0,4)
Rasă[a]	n	274
	Albi, n (%)	223 (81,4)
	Negri sau afro-americani, n (%)	43 (15,7)
	Asiatici, n (%)	1 (0,4)
	Amerindieni sau nativi din Alaska, n (%)	3 (1,1)
	Nativi din Hawaii/insulele Pacificului, n (%)	0 (0,0)
	Alte rase, n (%)	3 (1,1)
	Rasă necunoscută, n (%)	1 (0,4)
	Declarare a rasei refuzată, n (%)	0 (0,0)
Genotip	n	274
	Genotip 1, n (%)	158 (57,7)
	Genotip 2, n (%)	66 (24,1)
	Genotip 3, n (%)	50 (18,2)
Stare tratament pentru HCV	n	274
	Fără tratament, n (%)	232 (84,7)
	Cu tratament, n (%)	42 (15,3)
	Cu recidivă, n (%)	32 (76,2)
	Cu răspuns nul, n (%)	1 (2,4)
	Fără răspuns, n (%)	2 (4,8)
	Cu răspuns parțial, n (%)	3 (7,1)
	Descoperire, n (%)	1 (2,4)
	Rebound, n (%)	0 (0,0)
	Răspuns la tratament necunoscut, n (%)	3 (7,1)
	Lipsă, n (%)	0 (0,0)
Stare cirotică	n	274
	Cirotici, n (%)	98 (35,8)
	Non-cirotici, n (%)	176 (64,2)

[a] Subiecții pot raporta rase multiple

Tabelul 26 prezintă repartizarea finală a regimului medicamentos pentru cei 274 de subiecți evaluabili.

Tabelul 26: Rezumatul repartizării finale a regimului medicamentos al subiecților în funcție de genotip

Atribuire regim medicamentos	Genotip HCV, n (%)		
	1	2	3
Sofosbuvir și peginterferon și ribavirină timp de 12 săptămâni	25 (15,8)	-	3 (6,0)
Sofosbuvir și simeprevir și/sau ribavirină timp de 12 săptămâni	63 (39,9)	-	-
Sofosbuvir și simeprevir și/sau ribavirină timp de 24 săptămâni	4 (2,5)	-	-
Sofosbuvir și ribavirină timp de 12 săptămâni	-	66 (100)	-
Sofosbuvir și ribavirină timp de 24 săptămâni	6 (3,8)	-	47 (94,0)
Ledipasvir și sofosbuvir timp de 8 săptămâni	14 (8,9)	-	-
Ledipasvir și sofosbuvir timp de 12 săptămâni	39 (24,7)	-	-
Ledipasvir și sofosbuvir timp de 24 săptămâni	7 (4,4)	-	-
Total subiecți eligibili	158	66	50

Tabelul 27 evaluează asocierea dintre covariatele la momentul inițial (vârsta, rasa, sexul, încărcătura virală de referință a HCV la momentul inițial [variabilă binară] și statutul de ciroză) și SVR folosind raportul de șanse (OR) cu ajutorul unei analize de regresie logistică univariată (neajustată). Rezultatele pentru cei 274 de subiecți evaluabili au fost evaluate în funcție de genotipul HCV. Pentru genotipurile 1 și 2, subiecții cirotici au avut mai puține șanse decât cei necirrotici să obțină SVR (OR=0,16 [CI Wald 95%: 0,04–0,63], P=0,009 și, respectiv, OR=0,13 [CI Wald 95%: 0,02–0,70], P=0,017). Valorile CI 95% pentru alte covariate pentru genotipul 1 și 2 și toate covariatele pentru genotipul 3 au inclus valoarea 1 și nu au fost semnificative din punct de vedere statistic.

Tabelul 27: Evaluarea predictorilor de referință ai SVR la momentul inițial

GT	Categorie	N	Grupare	N (%)	Procentaj Realizare SVR	Raport de șanse (CI Wald 95%) Utilizare analiză LR univariată	Valoare P
1	Vârstă	158	≥40 ani	146 (92,4)	91,8	0 [0–∞)	Necalculabilă
			<40 ani	12 (7,6)	100		
	Sex	158	Bărbați	92 (58,2)	90,2	0,44 (0,11–1,69)	0,231
			Femei	66 (41,8)	95,5		
	Rasă	158	Albi	116 (73,4)	94,0	2,10 (0,63–7,03)	0,227
			Non-albi	42 (26,6)	88,1		
	Încărcătură virală ARN HCV la momentul inițial[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		
	Stare cirotică	158	Cirotici	57 (36,1)	84,2	0,16 (0,04–0,63)	0,009
			Non-cirotici	101 (63,9)	97,0		
2	Vârstă	66	≥40 ani	60 (90,9)	88,3	1,51 (0,15–14,91)	0,722
			<40 ani	6 (9,1)	83,3		
	Sex	66	Bărbați	36 (54,5)	86,1	0,69 (0,15–3,15)	0,631
			Femei	30 (45,5)	90,0		
	Rasă	66	Albi	61 (92,4)	86,9	0 [0–∞)	Necalculabilă
			Non-albi	5 (7,6)	100		
	Încărcătură virală ARN HCV la momentul inițial	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		
	Stare cirotică	66	Cirotici	22 (33,3)	72,7	0,13 (0,02–0,70)	0,017
			Non-cirotici	44 (66,7)	95,5		
3	Vârstă	50	≥40 ani	44 (88,0)	86,4	0 [0–∞)	NC
			<40 ani	6 (12,0)	100		
	Sex	50	Bărbați	34 (68,0)	85,3	0,39 (0,04–3,62)	0,405
			Femei	16 (32,0)	93,8		
	Rasă	50	Albi	46 (92,0)	87,0	0 [0–∞)	Necalculabilă
			Non-albi	4 (8,0)	100		
	Încărcătură virală ARN HCV la momentul inițial[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		
	Stare cirotică	50	Cirotici	19 (38,0)	78,9	0,26 (0,04–1,58)	0,143
			Non-cirotici	31 (62,0)	93,5		

CI = interval de încredere, GT = genotip, LR = regresie logistică

[a] Covariata la momentul inițial a încărcăturii virale de ARN HCV nu include subiecții care nu au furnizat o încărcătură virală ARN HCV cantitativă înainte de inițierea terapiei.

Răspunsul la terapia antivirală

Caracteristicile de performanță ale testului au fost stabilite pentru persoanele tratate cu anumite regimuri DAA. Nu sunt disponibile informații cu privire la valoarea predictivă a testului atunci când sunt utilizate alte terapii combinate DAA.

Definiții:

Încărcătură virală (VL) în săptămâna 1 = ARN HCV < LLoQ = 10 UI/ml în săptămâna 1 de tratament antiviral

VL în săptămâna 2 = ARN HCV < LLoQ = 10 UI/ml în săptămâna 2 de tratament antiviral

VL în săptămâna 4 = ARN HCV < LLoQ = 10 UI/ml în săptămâna 4 de tratament antiviral

VL în săptămâna 8 = ARN HCV < LLoQ = 10 UI/ml în săptămâna 8 de tratament antiviral

VL în săptămâna 8 VL (EOT): ARN HCV < LLoQ în săptămâna 8 de tratament antiviral

VL în săptămâna 12 = ARN HCV < LLoQ = 10 UI/ml în săptămâna 12 de tratament antiviral

VL în săptămâna 12 VL (EOT): ARN HCV < LLoQ în săptămâna 12 de tratament antiviral

VL în săptămâna 24 VL (EOT): ARN HCV < LLoQ în săptămâna 24 de tratament antiviral

Răspuns virusologic susținut (SVR)12: ARN HCV < LLoQ în săptămâna 12 după terminarea tratamentului antiviral, măsurat cu un test independent pentru ARN-ul HCV.

Tabelul 28 și Tabelul 29 arată frecvența răspunsului și, respectiv, a lipsei răspunsului SVR, în funcție de genotip și de regimul medicamentos, în general, și pentru subiecții cirotici, non-cirotici, care nu au primit tratament și cei care au primit tratament. Majoritatea subiecților au obținut SVR la toate genotipurile: 92,4% la genotipul 1, 87,9% la genotipul 2 și 88,0% la genotipul 3. Între genotipuri, ratele SVR au fost în general mai mari la subiecții necirrotici decât la cei cirotici și similare între subiecții care nu au primit tratament și ce care au primit tratament.

Tabelul 28: Frecvența răspunsului SVR în funcție de genotip și de regimul medicamentos

GT	DRA	Subiecți cu răspuns SVR n (%)				
		Global	Cirotici	Non-cirotici	Naivi la tratament	Experimentați în tratament
1	Ledipasvir și sofosbuvir timp de 8 săptămâni	13/14 (92,9)	N/A	13/14 (92,9)	13/14 (92,9)	N/A
	Ledipasvir și sofosbuvir timp de 12 săptămâni	39/39 (100)	9/9 (100)	30/30 (100)	34/34 (100)	5/5 (100)
	Ledipasvir și sofosbuvir timp de 24 săptămâni	6/7 (85,7)	6/7 (85,7)	N/A	N/A	6/7 (85,7)
	Sofosbuvir și peginterferon și ribavirină timp de 12 săptămâni	24/25 96,0)	7/7 (100)	17/18 (94,4)	22/23 (95,7)	2/2 (100)
	Sofosbuvir și ribavirină timp de 24 săptămâni	6/6 (100)	1/1 (100)	5/5 (100)	5/5 (100)	1/1 (100)
	Sofosbuvir și simeprevir și/sau ribavirină timp de 12 săptămâni	54/63 (85,7)	21/29 (72,4)	33/34 (97,1)	45/54 (83,3)	9/9 (100)
	Sofosbuvir și simeprevir și/sau ribavirină timp de 24 săptămâni	4/4 (100)	4/4 (100)	N/A	2/2 (100)	2/2 (100)
2	Sofosbuvir și ribavirină timp de 12 săptămâni	58/66 (87,9)	16/22 (72,7)	42/44 (95,5)	53/60 (88,3)	5/6 (83,3)
3	Sofosbuvir și peginterferon și ribavirină timp de 12 săptămâni	3/3 (100)	3/3 (100)	N/A	1/1 (100)	2/2 (100)
	Sofosbuvir și ribavirină timp de 24 săptămâni	41/47 (87,2)	12/16 (75,0)	29/31 (93,5)	35/39 (89,7)	6/8 (75,0)

DRA = atribuire a regimului medicamentos, GT = genotip, N/A = regimul medicamentos nu este aplicabil pentru acest grup de pacienți

Tabelul 29: Frecvența lipsei răspunsului SVR în funcție de genotip și de regimul medicamentos

GT	DRA	Subiecți fără răspuns SVR n (%)				
		Global	**Cirotici**	**Non-cirotici**	**Naivi la tratament**	**Experimentați în tratament**
1	Ledipasvir și sofosbuvir timp de 8 săptămâni	1/14 (7,1)	N/A	1/14 (7,1)	1/14 (7,1)	N/A
	Ledipasvir și sofosbuvir timp de 12 săptămâni	0/39 (0,0)	0/9 (0,0)	0/30 (0,0)	0/34 (0,0)	0/5 (0,0)
	Ledipasvir și sofosbuvir timp de 24 săptămâni	1/7 (14,3)	1/7 (14,3)	N/A	N/A	1/7 (14,3)
	Sofosbuvir și peginterferon și ribavirină timp de 12 săptămâni	1/25 (4,0)	0/7 (0,0)	1/18 (5,6)	1/23 (4,3)	0/2 (0,0)
	Sofosbuvir și ribavirină timp de 24 săptămâni	0/6 (0,0)	0/1 (0,0)	0/5 (0,0)	0/5 (0,0)	0/1 (0,0)
	Sofosbuvir și simeprevir și/sau ribavirină timp de 12 săptămâni	9/63 (14,3)	8/29 (27,6)	1/34 (2,9)	9/54 (16,7)	0/9 (0,0)
	Sofosbuvir și simeprevir și/sau ribavirină timp de 24 săptămâni	0/4 (0,0)	0/4 (0,0)	N/A	0/2 (0,0)	0/2 (0,0)
2	Sofosbuvir și ribavirină timp de 12 săptămâni	8/66 (12,1)	6/22 (27,3)	2/44 (4,5)	7/60 (11,7)	1/6 (16,7)
3	Sofosbuvir și peginterferon și ribavirină timp de 12 săptămâni	0/3 (0,0)	0/3 (0,0)	N/A	0/1 (0,0)	0/2 (0,0)
	Sofosbuvir și ribavirină timp de 24 săptămâni	6/47 (12,8)	4/16 (25,0)	2/31 (6,5)	4/39 (10,3)	2/8 (25,0)

DRA = atribuire a regimului medicamentos, GT = genotip, N/A = regimul medicamentos nu este aplicabil pentru acest grup de pacienți

Tabelul 30 arată procentajul de subiecți cu răspuns virusologic (definit ca rezultate ale testului Aptima HCV Quant Dx <LLoQ) pentru fiecare genotip și repartizare a regimului medicamentos la fiecare vizită în timpul tratamentului și în săptămâna de după tratament. Majoritatea subiecților au obținut SVR până în săptămâna 4, indiferent de genotipuri, iar toți subiecții au obținut SVR până în săptămâna 8.

Tabelul 30: Probabilitatea realizării SVR în săptămânile de tratament și post-tratament

GT	DRA	N	Cu răspuns SVR % (n)	Fără răspuns SVR % (n)	Procentajul de subiecți cu răspuns virusologic în funcție de vizită[a] n (%)						
					Săptămâni					EOT	PT04
					1	2	4	8	12		
1	LDV + SOF (8 săptămâni)	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 săptămâni)	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 săptămâni)	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 săptămâni)	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 săptămâni)	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 săptămâni)	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 săptămâni)	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 săptămâni)	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 săptămâni)	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 săptămâni)	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 = atribuire a regimului medicamentos, EOT = sfârșitul tratamentului, N/A = nu se aplică deoarece vizita corespunde EOT pentru tratamentul dat sau depășește fereastra de tratament, PT04 = săptămâna 4 post-tratament

[a]Răspunsul viral în timpul tratamentului și după tratament definit ca <10 UI/ml.

Notă: EOT nu este inclus în săptămâna de tratament

Pentru subiecții cu genotip 1, 95,5% (150/157) dintre subiecții evaluați au avut răspunsuri virale la tratament până în săptămâna 4. Cei 7 subiecți de genotip 1 care nu au răspuns până în săptămâna 4 (3 subiecți tratați cu LDV + SOF [12 săptămâni], 2 subiecți tratați cu LDV + SOF [24 săptămâni], câte 1 subiect tratat cu SOF + RBV [24 săptămâni] sau SOF + SIM ± RBV [12 săptămâni]) au avut răspunsuri virale la tratament până în săptămâna 8. Doi (2) subiecți tratați cu SOF + SIM ± RBV (12 săptămâni) au recidivat la sfârșitul tratamentului și 6 (1 subiect tratat cu LDF + SOF [8 săptămâni], 1 subiect tratat cu LDF + SOF [24 săptămâni] și 4 subiecți tratați cu SOF + SIM ± RBV [12 săptămâni]) au recidivat până în săptămâna 4 post-tratament.

Pentru subiecții cu genotip 2, 95,4% (62/65) dintre subiecții evaluați au avut răspunsuri virale la tratament până în săptămâna 4. Cei 3 subiecți de genotip 2 care nu au avut răspuns până în săptămâna 4 au avut răspunsuri virale la tratament până în săptămâna 8. Un (1) subiect tratat cu SOF + RBV (12 săptămâni) a recidivat la sfârșitul tratamentului, iar 4 subiecți cu același regim de medicamente au recidivat până în săptămâna 4 post-tratament.

Pentru subiecții cu genotip 3, 100% (49/49) dintre subiecții evaluați au avut răspunsuri virale la tratament până în săptămâna 4. Niciun (0) subiect nu a recidivat la sfârșitul tratamentului și 5 subiecți tratați cu SOF + RBV (24 de săptămâni) au recidivat până în săptămâna 4 post-tratament.

Pe baza rezultatelor acestui studiu, testul Aptima HCV Quant Dx poate fi utilizat ca un ajutor în gestionarea pacienților infectați cu HCV care urmează un tratament antiviral pe bază de sofosbuvir și poate fi utilizat pentru a determina răspunsul și lipsa răspunsului SVR. Rezultatele testului pot fi utilizate pentru a măsura cantitativ nivelurile de ARN HCV în plasma umană la momentul inițial și în timpul tratamentului.

Studiul de utilitate diagnostică

Sensibilitatea a fost evaluată la 338 de subiecți pozitivi la anticorpi anti-HCV dintr-o populație cu risc ridicat. Tabelul 31 prezintă caracteristicile demografice și clinice ale subiecților.

Tabelul 31: Caracteristici demografice și clinice la subiecții pozitivi la anticorpi anti-HCV

Caracteristici		
Total	*N*	338
Sex	Femei, n (%)	80 (23,7)
	Bărbați, n (%)	258 (76,3)
Vârstă (ani)	Medie	48,2
	Mediană	51,0
	SD	11,01
	<21, n (%)	2 (0,6)
	21–49, n (%)	152 (45,0)
	50–70, n (%)	182 (53,8)
	>70, n (%)	2 (0,6)
Rasă/Etnie[a]	Albi, n (%)	86 (25,4)
	Negri, n (%)	118 (34,9)
	Asiatici, n (%)	1 (0,3)
	Hispanici, n (%)	123 (36,4)
	Etnii combinate, n (%)	4 (1,2)
	Alte rase/etnii, n (%)	10 (3,0)
	Rasă/Etnie necunoscută, n (%)	0 (0,0)
Factori de risc[b]	Utilizare de droguri injectabile, n (%)	294 (87,0)
	Beneficiari ai factorilor de coagulare fabricați înainte de 1990, n (%)	0 (0,0)
	Diagnosticați/tratați pentru hepatită, n (%)	172 (50,9)
	Diagnosticați/tratați pentru HIV, n (%)	13 (3,8)
	Istoric de detenție, n (%)	311 (92,0)
	Primitori de transfuzii de sânge sau componente sanguine, n (%)	39 (11,5)
	Primitori de transplant, n (%)	0 (0,0)
	Hemodializați, n (%)	3 (0,9)
	Cu niveluri crescute de ALT persistente, n (%)	2 (0,6)
	Născuți între 1945 și 1965, n (%)	192 (56,8)
Stare infectare cu HCV	Pozitivi la ARN HCV, n (%)	259 (76,6)
	Negativi la ARN HCV, n (%)	79 (23,4)

ALT = alanin aminotransferază, HIV = virusul imunodeficienței umane
[a] Pot raporta rase multiple.
[b] Poate raporta factori de risc multipli.

Eșantioanele au fost testate cu un test calitativ de ARN HCV aprobat, un test de anticorpi anti-HCV aprobat și testul Aptima HCV Quant Dx. Studiul a inclus 338 de subiecți reactivi la anticorpi anti-HCV. Conform orientărilor AASLD actuale, un NAAT aprobat de FDA cu un nivel de detecție de 25 UI/ml sau mai mic[20] ar trebui să fie utilizat pentru a confirma starea pozitivă a infecției cu HCV în urma unui rezultat al testului de anticorpi anti-HCV reactiv. Concordanța dintre starea pacientului infectat și rezultatele testului Aptima HCV Quant Dx a fost determinată folosind o valoare de cutoff de 25 UI/ml. Eșantioanele <25 UI/ml au fost considerate „Nedetectat", iar eșantioanele cu rezultate ≥25 UI/ml au fost considerate „Detectat". Consultați Tabelul 32.

Rezultatele testului Aptima HCV Quant Dx au fost comparate cu starea de infectare a pacientului pe baza rezultatelor aprobate ale testului de anticorpi anti-HCV și a rezultatelor aprobate ale testului ARN calitativ. Starea de infectare a pacientului a fost considerată pozitivă la HCV în cazul în care atât testul de anticorpi anti-HCV aprobat, cât și testul calitativ aprobat au avut rezultate reactive. Starea de infectare a pacientului a fost considerată negativă la HCV dacă testul de anticorpi anti-HCV aprobat a avut un rezultat nereactiv.

Dintre cei 338 de subiecți cu rezultate reactive la anticorpii anti-HCV, 256 au fost detectați cu testul Aptima HCV Quant Dx (% de concordanță pozitivă = 98,8%). Dintre cei trei subiecți la care ARN-ul HCV a fost cuantificat sub 25 UI/ml sau nu a fost detectat, doi subiecți au avut un rezultat detectat, dar necuantificat (ARN HCV < 10 UI/ml) și un subiect a avut un rezultat cantitativ al ARN-ului HCV de 12 UI/ml.

Tabelul 32: Concordanța dintre rezultatele testului Aptima HCV Quant Dx și starea de infectare a pacientului folosind o valoare de cutoff de 25 UI/ml

Aptima HCV Quant Dx Rezultatul testului	**Starea de infectare a pacientului**		**Total**
	Pozitiv la HCV	**Negativ la HCV**	
ARN HCV cuantificat la sau peste 25 UI/ml	256	0	256
ARN HCV cuantificat sau detectat sub 25 UI/ml sau nedetectat	3[a]	79	82
Total	259	79	338
% concordanță pozitivă (CI 95% scor)	98,8 (96,7–99,6)	N/A	N/A
% concordanță negativă (CI 95% scor)	N/A	100 (95,4–100)	N/A

CI = interval de încredere, N/A = neaplicabil

[a] Testul Aptima HCV Quant Dx a detectat, dar nu a cuantificat ARN-ul HCV (<10 UI/ml) pentru doi subiecți, iar la al treilea subiect, ARN-ul HCV a fost cuantificat la 12 UI/ml.

Acest studiu demonstrează utilitatea clinică a testului Aptima HCV Quant Dx pentru a diagnostica corect subiecții cu infecție activă continuă cu ARN HCV și pentru a-i distinge de subiecții cu infecții inactive într-o populație cu expunere anterioară la HCV (serologie pozitivă la anticorpi anti-HCV).

Reactivitatea încrucișată la subiecți cu boli hepatice care nu sunt legate de HCV

Au fost obținute mostre de ser și de plasmă (n=214) de la persoane cu alte boli hepatice (la care infecția activă cu HCV nu a fost indicată ca fiind cauza principală). Mostrele au fost testate cu un test anti-HCV aprobat și cu un test calitativ de ARN HCV aprobat pentru a confirma că mostrele sunt negative la HCV. Au fost excluse șaptesprezece (17) mostre pozitive la HCV (cu rezultate pozitive la testul anti-HCV și/sau rezultate reactive la testul calitativ de ARN HCV) și trei mostre neeligibile. Testarea testului Aptima HCV Quant Dx a fost efectuată intern cu trei loturi de kituri de reactivi. Tabelul 33 prezintă datele demografice ale subiecților și starea bolii hepatice pentru cei 194 de subiecți evaluabili.

Tabelul 33: Caracteristicile demografice ale subiecților și starea bolii hepatice

Caracteristici		Toate
Total	N	194
Sex	n	193
	Femei, n (%)	116 (60,1)
	Bărbați, n (%)	77 (39,9)
Vârstă (ani)	n	194
	Medie	55,2
	Mediană	56,0
	SD	12,19
	Minim	25
	Maxim	82
	21–49, n (%)	60 (30,9)
	50–70, n (%)	114 (58,8)
	>70, n (%)	20 (10,3)
Etnie	n	194
	Hispanici sau latino-americani, n (%)	9 (4,6)
	Non-hispanici sau latino-americani, n (%)	147 (75,8)
	Etnie necunoscută, n (%)	38 (19,6)
	Declarare a etniei refuzată, n (%)	0 (0,0)
Rasă[a]	n	194
	Albi, n (%)	122 (62,9)
	Negri sau afro-americani, n (%)	20 (10,3)
	Asiatici, n (%)	17 (8,8)
	Amerindieni sau nativi din Alaska, n (%)	0 (0,0)
	Nativi din Hawaii/insulele Pacificului, n (%)	1 (0,5)
	Alte rase, n (%)	34 (17,5)
	Etnie necunoscută, n (%)	2 (1,0)
	Declarare a rasei refuzată, n (%)	0 (0,0)
Boală hepatică[b]	n	194
	Hepatită autoimună, n (%)	31 (16,0)
	Boala hepatică alcoolică, n (%)	51 (26,3)
	HBV cronic, n (%)	34 (17,5)
	Ciroză biliară primară, n (%)	37 (19,1)
	NASH, n (%)	39 (20,1)
	Boli hepatice multiple raportate, n (%)	2 (1,0)

HBV = virusul hepatitei B, NASH = steatohepatită non-alcoolică.

[a] Subiecții pot raporta rase multiple.

[b] Subiecții cu boli hepatice multiple au raportat atât hepatită autoimună, cât și ciroză biliară primară.

Tabelul 34 prezintă specificitatea testului Aptima HCV Quant Dx în funcție de boala hepatică și distribuția rezultatelor testului Aptima HCV Quant Dx pe categorii de încărcătură virală. Specificitatea a fost de 100% la subiecții cu virusul hepatitei cronice B (HBV), ciroză biliară primară, steatohepatită non-alcoolică (NASH) și boli hepatice multiple raportate. ARN-ul HCV a fost detectat la niveluri foarte scăzute la 1 subiect cu hepatită autoimună (<10 UI/ml) și la 4 subiecți cu boală hepatică alcoolică (<10 UI/ml pentru 3 subiecți și 16 UI/ml pentru 1 subiect). La unul dintre cei 5 subiecți a fost detectat ARN HCV printr-un test cantitativ HCV aprobat.

Tabelul 34: Specificitatea testului Aptima HCV Quant Dx și rezultatele distribuției la subiecții negativi la anticorpi anti-HCV și ARN HCV cu boli hepatice nelegate de HCV

Boală hepatică	Specificitate (%) CI 95%[a]	Nu Detectat	<10 UI/ml	10 – <25 UI/ml	de la 25 la 100.000.000 UI/ml	>100.000.000 UI/ml	Total
Hepatită autoimună	96,8 (83,8–99,4)	30 (96,8)	1 (3,2)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	31
Boala hepatică alcoolică	92,2 (81,5–96,9)	47 (92,2)	3 (5,9)[b]	1 (2,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	51
HBV cronic	100 (89,8-100)	34 (100)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	34
Ciroză biliară primară	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
Boli hepatice multiple[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 = virusul hepatitei B, NASH = steatohepatită non-alcoolică

[a] CI scor.

[b] La un subiect a fost detectat ARN HCV printr-un test cantitativ HCV aprobat de FDA.

[c] Subiecții au avut atât hepatită autoimună, cât și ciroză biliară primară.

Bibliografie

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

Contact Information and Revision History

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

IVD

CE 2797

EC REP
Hologic BV
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

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

Pentru adresa de e-mail și numărul de telefon ale Serviciului de asistență tehnică și de asistență pentru clienți specifice fiecărei țări, accesați www.hologic.com/support.

Accidentele grave petrecute în raport cu dispozitivul în Uniunea Europeană trebuie raportate producătorului și autorității competente a Statului Membru în care este stabilit utilizatorul și/sau pacientul.

Hologic, Aptima, Panther, Panther Fusion și siglele asociate sunt mărci comerciale sau mărci comerciale înregistrate ale Hologic, Inc. și/sau ale filialelor sale din Statele Unite și/sau din alte țări.

Armored RNA este o marcă comercială a Asuragen, Inc.

Toate celelalte mărci comerciale care apar în acest prospect aparțin proprietarilor respectivi.

Este posibil ca acest produs să facă obiectul unuia sau mai multor brevete în S.U.A. identificate la adresa www.hologic.com/patents.

©2016–2025 Hologic, Inc. Toate drepturile rezervate.

AW-28216-3101 Rev. 001

2025-12

Istoric revizuiri	Data	Descriere
AW-28216-3101 Rev. 001	decembrie 2025	• Versiunea iniţială.