

Aptima™ HCV Quant Dx Assay

Bestemd voor *in-vitro* diagnostiek.

Alleen voor export uit de VS.

Algemene informatie	2
Beoogd gebruik	2
Samenvatting en uitleg van de test	2
Uitgangspunten van de procedure	3
Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen	4
Eisen voor opslag en verwerking van reagentia	6
Monsterafname en -opslag	7
Monsters in het Panther-systeem	10
Vervoer van monsters	10
Panther-systeem	11
Geleverde reagentia en materialen	11
Benodigde maar apart geleverde materialen	13
Optionele materialen	14
Testprocedure voor het Panther-systeem	14
Procedurele opmerkingen	18
Kwaliteitscontrole	19
Assaykalibratie	19
Negatieve en positieve controles	19
Interne kalibrator/interne controle	19
Interpretatie van resultaten	20
Beperkingen	21
Prestaties	22
Detectielimiet (LOD) op basis van de 2e internationale WHO-norm	22
Detectielimiet voor alle HCV-genotypen	23
Lineair bereik	24
Lineariteit voor HCV-genotypen	25
Ondergrens van kwantificering op basis van de 2e internationale Who-norm	25
Bepaling van de ondergrens van kwantificering (LLOQ) voor alle HCV-genotypen	27
Nauwkeurigheid	29
Potentieel storende stoffen	29
Specificiteit	31
Analytische specificiteit	32
Klinische monsters met andere virussen dan HCV	33
Herhaalbaarheid van klinische monsters	33
Monsterverdunning met behulp van een monsterverdunningsmiddel	34
Correlatie van methoden	36
Diagnostische overeenstemming	36
Vermenging	37
Seroconversiepanel	37
Literatuur	38

Algemene informatie

Beoogd gebruik

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

Plasma kan zijn geprepareerd in ethyleendiaminetetra-azijnzuur (EDTA), zuur-citraat-dextrose-oplossing (ACD) en PPT-buizen (Plasma Preparation Tubes). Serum kan zijn geprepareerd in serumbuizen en in SST-buizen (serumseparatorbuizen). Monsters worden onderzocht met het Panther-systeem voor geautomatiseerde verwerking, amplificatie, detectie en kwantificering van monsters. Monsters met HCV-geotypen 1 tot en met 6 zijn gevalideerd voor detectie en kwantificering in de assay.

De Aptima HCV Quant Dx Assay is geïndiceerd voor gebruik als hulpmiddel bij de diagnose van een HCV-infectie. De assay kan worden gebruikt ter bevestiging van een actieve HCV-infectie bij patiënten met een positieve uitslag voor HCV-antistoffen. De aanwezigheid van HCV-RNA duidt erop dat het virus repliceert en is daarmee bewijs van een actieve infectie.

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

De Aptima HCV Quant Dx Assay is niet bestemd voor gebruik als screeningstest op aanwezigheid van HCV in bloed of bloedproducten.

Samenvatting en uitleg van de test

HCV is een ziekteverwekker die via bloed wordt overgedragen, en vormt wereldwijd een last voor de volksgezondheid met wel 170 miljoen geïnfecteerde mensen wereldwijd en jaarlijks 350.000 sterfgevallen als gevolg van aan HCV verwante aandoeningen, waaronder cirrose en leverkanker.^{1,2} Overdracht van HCV vindt plaats via blootstelling aan bloed, bloedproducten of activiteiten met de kans op percutane blootstelling.^{3,4} In genetische termen bevat HCV een positief enkelstrengs RNA-genoom van ongeveer 9.500 nucleotiden die voor structurele eiwitten coderen (core, E1- en E2-glycoproteïnen, p7-ionkanaal) en voor niet-structurele eiwitten (NS2, NS3, NS4A/B, NS5A/B), waarvan de laatste cruciale replicerende eiwitten en targets van direct werkende antivirale middelen zijn.^{4,5} Twee niet-vertaalde gebieden (UTR) van het genoom, 5'UTR en 3'UTR, hebben een functie bij de vertaling van genomen respectievelijk bij de replicatie-/verpakkingsrollen.⁵ De 5'-UTR is het uiterst geconserveerde genoomgebied van de zes belangrijkste HCV-geotypen.⁶

In klinisch opzicht is er een hoge prevalentie van asymptomatische HCV-infectie en, ondanks detecteerbare antilichamen (doorgaans binnen 5-12 weken), treedt bij wel 75% van de patiënten een chronische HCV-infectie op.² Voor algoritmen voor HCV-laboratoriumonderzoeken zijn diagnoses van actieve HCV-infecties nodig bij voor antilichamen positieve individuen via opsporing van HCV-RNA in plasma of serum zodat de juiste behandeling kan worden ingezet.^{7,8,9}

Kwantificering van HCV-RNA (virale lading) heeft een belangrijke rol gespeeld bij de definitie en bewaking van een succesvolle HCV-behandeling. De SVR (blijvende virologische respons), gedefinieerd als niet-gedetecteerd HCV-RNA na succesvolle behandeling, is een belangrijke marker voor genezing van HCV.^{10,11} Bij behandeling met interferon werd aangetoond dat een vroegtijdige virologische respons (EVR), gedefinieerd als een daling van 2 log of meer in virale HCV-lading na 12 weken behandeling, en een snelle virologische respons (RVR), gedefinieerd als niet-detecteerbare spiegels HCV-RNA na 4 weken behandeling, positieve voorspellers waren voor SVR.^{10,12,13} Deze markers voor virale kinetiek worden gebruikt bij op respons geleide behandelingen waarop behandelingsmogelijkheden voor het stoppen of uitbreiden van therapie voor het bereiken van SVR zijn gebaseerd.¹⁴ Bovendien hebben langdurige follow-uponderzoeken duurzaamheid van SVR na succesvolle behandeling aangetoond, en uitroeiing van het virus progressie van leverziekte.¹⁰

In het tijdperk van direct werkende antivirale middelen (DAA's) wordt de virale HCV-lading voorafgaand aan behandeling gemeten ter bepaling van de uitgangswaarde van de virale lading, tijdens de behandeling voor de respons tijdens de behandeling en na behandeling ter evaluatie van de SVR (of terugval). Bijna alle patiënten hadden tijdens behandeling een virologische respons op DAA's, gedefinieerd als onder de ondergrens van kwantificering (<LLOQ) voor de assay, gevolgd door meer dan 90% SVR-percentages na 12 weken na behandeling met de meeste doseringen.^{8,11} HCV-RNA-detectie en -kwantificering blijft een belangrijke rol spelen bij HCV-diagnose en behandeling van de patiënten die met antivirale middelen worden behandeld.

Uitgangspunten van de procedure

De Aptima HCV Quant Dx Assay is een nucleïnezuuramplificatietest die gebruik maakt van realtime door transcriptie gemedieerde amplificatietechnologie (TMA) ter detectie en kwantificering van HCV-RNA voorafgaand aan behandeling ter ondersteuning van de diagnose of ter vaststelling van de uitgangswaarde van de virale lading, en om de respons te meten tijdens en na de behandeling. De assay is gericht op een geconserveerd gebied van het HCV-genoom, ter detectie en kwantificering van genotypen 1, 2, 3, 4, 5 en 6. De assay is gestandaardiseerd op basis van de 2e internationale WHO-norm voor het hepatitis-C-virus (NIBSC-code 96/798).¹²

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

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

Targetamplificatie treedt op via TMA, een via transcriptie gemedieerde nucleïnezuuramplificatiemethode waarbij twee enzymen, MMLV (Moloney-muizenleukemievirus)-reverse-transcriptase en T7 RNA-polymerase, worden gebruikt. De reverse-transcriptase wordt gebruikt voor het maken van een DNA-kopie (met een promotersequentie voor T7 RNA-polymerase) van de targetsequentie. Via T7 RNA-polymerase meerdere kopieën van RNA-amplicon aangemaakt op basis van het DNA-kopiesjabloon. De Aptima HCV Quant Dx Assay maakt gebruik van de TMA-methode om een deel van het 5' UTR van het HCV-

genoom te amplificeren. Amplificatie van dit specifieke gebied wordt bereikt met behulp van specifieke primers die zijn bestemd voor amplificatie van HCV-genotypen 1, 2, 3, 4, 5 en 6.

Detectie wordt gerealiseerd met behulp van fluorescerende probes van enkelstrengs nucleïnezuur tijdens amplificatie van de target die zorgen voor realtime hybridisatie specifiek aan het amplicon. Elke probe is uitgerust met een fluorofoor en een quencher (uitdover). Wanneer geen hybridisatie met het amplicon plaatsvindt, bevindt de quencher zich in de buurt van de fluorofoor en onderdrukt het fluorescentie. Wanneer de fluorescerende probe bindt aan het amplicon, raakt de quencher verder verwijderd van de fluorofoor en zendt die een signaal uit op een bepaalde golflengte als gevolg van excitatie door een lichtbron. Hoe meer hybridisatie tussen fluorescerende probes en amplicon plaatsvindt, des te sterker het fluorescerende signaal. De tijd tot de afgifte van een fluorescerende signaal loopt gelijk aan die van de beginconcentratie van HCV. Elke reactie heeft een interne kalibrator/interne controle (IC) die controleert op variaties in de verwerking, amplificatie en detectie van het monster. De concentratie van een monster wordt vastgesteld door de Panther-systeemsoftware met behulp van de HCV- en IC-signalen voor elke reactie en deze te vergelijken met de kalibratiegegevens.

Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen

- A. Ter verkleining van het risico van ongeldige resultaten dient u de gehele bijsluiter en de *gebruikershandleiding van het Panther-systeem* zorgvuldig te lezen voor u deze assay gebruikt.

Met betrekking tot het laboratorium



- B. LET OP: De controles bij deze assay bevatten humaan plasma. Het plasma is negatief voor hepatitis-B-oppervlakte-antigeen (HBsAg), antistoffen tegen HCV, antistoffen tegen HIV-1 en HIV-2, en HIV-antigeen wanneer getest met door de Amerikaanse FDA (Food and Drug Administration) gelicentieerde procedures. Daarnaast is het plasma niet-reactief voor HCV-RNA en HIV-1-RNA wanneer getest met gelicentieerde nucleïnezuurtests met gepoolde monsters. Alle materiaal van menselijk bloed dient te worden beschouwd als potentieel besmettelijk en moet worden gehanteerd met universele voorzorgsmaatregelen.^{15,16,17}
- C. Alleen personeel dat adequaat is opgeleid in het gebruik van de Aptima HCV Quant Dx Assay en in het omgaan met potentieel besmettelijk materiaal, mag deze procedure uitvoeren. Als er materiaal is gemorst, desinfecteer dan onmiddellijk volgens de toepasselijke procedures binnen de instelling.
- D. Gebruik alleen de meegeleverde of aangegeven wegwerpartikelen voor in het laboratorium.
- E. Pas de normale voorzorgsmaatregelen voor een laboratorium toe. Niet met de mond pipetteren. Eet, drink of rook niet in de aangegeven werkgebieden. Draag poederloze wegwerphandschoenen, oogbescherming en labjassen tijdens het verwerken van monsters en kitreagentia. Was de handen grondig na het verwerken van monsters en kitreagentia.
- F. Werkoppervlakken, pipetten en overige apparatuur moeten regelmatig worden ontsmet met 2,5% tot 3,5% (0,35 M tot 0,5 M) natriumhypochlorietoplossing.
- G. Voer alle materiaal af dat in contact is gekomen met monsters en reagentia volgens lokale, regionale en landelijke voorschriften.^{15,16,17,18} Reinig en desinfecteer alle werkoppervlakken grondig.
- H. De controles bevatten natriumazide als conserveringsmiddel. Gebruik geen metalen buizen om reagentia over te zetten. Als oplossingen met natriumazideverbindingen via de gootsteen worden afgevoerd, moeten ze worden verdund en doorgespoeld met ruime

hoeveelheden stromend water. Deze voorzorgsmaatregelen worden aanbevolen om te voorkomen dat afzettingen zich ophopen in metalen buizen waarin explosieve situaties kunnen ontstaan.

- I. Goede standaardpraktijken voor laboratoria voor moleculaire diagnostiek omvatten controle van de laboratoriumomgeving. De volgende procedure wordt voorgesteld ter bewaking van een laboratoriumomgeving:
 1. Pak een wattenstaafje en voeg het bij de Aptima-SAT-buis.
 2. Plak het juiste etiket op elke SAT-buis.
 3. Vul elke SAT-buis met 1 ml Aptima-monsterverdunningsmiddel.
 4. Bevochtig een staafje lichtjes met nucleasevrij gedeïoniseerd water om oppervlaktemonsters af te nemen.
 5. Neem een monster af door met het staafje van boven naar beneden over het betreffende oppervlak te gaan. Draai het staafje ongeveer een halve slag terwijl u het monster afneemt.
 6. Plaats het afgenomen monster onmiddellijk in de bus en roer het wattenstaafje voorzichtig met wervelende bewegingen door de verdunner om potentieel afgenomen materiaal te onttrekken. Druk het staafje tegen de binnenkant van de transportbuis om zo veel mogelijk vloeistof te onttrekken. Gooi het staafje weg en doe een dop op de bus.
 7. Herhaal de stappen voor de resterende monsters.
 8. Test het monster met een moleculaire assay.

Met betrekking tot het monster

- J. De monsters kunnen besmettelijk zijn. Gebruik universele voorzorgsmaatregelen^{15,16,17} bij het uitvoeren van deze assay. De juiste methoden voor verwerking en afvoer moeten worden vastgesteld in overeenstemming met plaatselijke voorschriften.¹⁸ Alleen personeel dat adequaat is opgeleid in het gebruik van de Aptima HCV Quant Dx Assay en in het omgaan met besmettelijk materiaal, mag deze procedure uitvoeren.
- K. Zorg dat de monsters worden verzonden onder de juiste opslagomstandigheden om hun integriteit te waarborgen. De stabiliteit van de monsters in andere dan de aanbevolen verzendingsomstandigheden is niet geëvalueerd.
- L. Voorkom kruisbesmetting tijdens de stappen waarin de monsters worden verwerkt. Wees vooral voorzichtig als u de doppen van de monsters losmaakt of verwijdert om besmetting via verspreiding van aerosolen te voorkomen. De monsters kunnen uitermate veel organismen bevatten. Zorg ervoor dat monsterrecipiënten niet met elkaar in contact komen en voer gebruikt materiaal niet over open recipiënten af. Vervang uw handschoenen als deze met een monster in contact komen.

Met betrekking tot de assay

- M. Gebruik de reagenskit, de kalibrator of de controles niet na de uiterste houdbaarheidsdatum.
- N. Verwissel, meng of combineer geen assayreagentia uit kits met verschillende hoofdpartijnummers. De assayvloeistoffen kunnen afkomstig zijn van verschillende

partijnummers. De controles en de kalibrator kunnen afkomstig zijn van verschillende partijnummers.

- O. Voorkom microbiële en nucleaseverontreiniging van de reagentia.
- P. Doe een dop op alle assayreagentia bij gespecificeerde temperaturen en sla ze op. Gebruik van verkeerd opgeslagen reagentia kan de uitslag van de assay negatief beïnvloeden. Zie *Eisen voor opslag en verwerking van reagentia* en *Testprocedure voor het Panther-systeem* voor meer informatie.
- Q. Combineer geen assayreagentia of vloeistoffen zonder specifieke aanwijzingen. Flessen voor reagentia of vloeistoffen mogen niet helemaal worden gevuld. Het Panther-systeem verifieert het peil van de reagentia.

Eisen voor opslag en verwerking van reagentia

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

Reagens	Ongeopend bewaard	Open kit (gereconstitueerd)	
		Opslag	Stabiliteit
qHCV-amplificatiereagens	2 °C tot 8 °C		
qHCV-amplificatiereconstitutieoplossing	2 °C tot 8 °C	2 °C tot 8 °C	30 dagen ^a
qHCV-enzymreagens	2 °C tot 8 °C		
qHCV-enzymreconstitutieoplossing	2 °C tot 8 °C	2 °C tot 8 °C	30 dagen ^a
qHCV-promoterreagens	2 °C tot 8 °C		
qHCV-promoterreconstitutieoplossing	2 °C tot 8 °C	2 °C tot 8 °C	30 dagen ^a
qHCV Target Capture Reagent	2 °C tot 8 °C	2 °C tot 8 °C	30 dagen ^a
qHCV NC CONTROL – (negatieve controle)	-15 °C tot -35 °C	15 °C tot 30 °C	Wegwerpflacon Binnen 24 uur gebruiken
qHCV LPC CONTROL + (laag-positieve controle)	-15 °C tot -35 °C	15 °C tot 30 °C	Wegwerpflacon Binnen 24 uur gebruiken
qHCV HPC CONTROL + (hoog-positieve controle)	-15 °C tot -35 °C	15 °C tot 30 °C	Wegwerpflacon Binnen 24 uur gebruiken
qHCV PCAL (positieve kalibrator)	-15 °C tot -35 °C	15 °C tot 30 °C	Wegwerpflacon Binnen 24 uur gebruiken

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

- B. Voer ongebruikte gereconstitueerde reagentia en TCR (Target Capture Reagent) na 30 dagen af of, indien dat eerder het geval is, na de uiterste houdbaarheidsdatum van de hoofdpartij.
- C. Reagentia in het Panther-systeem blijven daarin 72 uur stabiel. Reagentia kunnen maximaal 5 keer in het Panther-systeem worden geplaatst. Het Panther-systeem registreert elke keer dat de reagentia worden geladen.

- D. Na ontdooiing van de kalibrator moet de oplossing helder zijn, dus niet troebel en zonder neerslag.
- ⚠ E. Het promoterreagens en het gereconstitueerde promoterreagens zijn lichtgevoelig. Bescherm deze reagentia tegen licht tijdens opslag of voorbereiding voor gebruik.

Monsterafname en -opslag

Let op: *Behandel alle monsters alsof ze potentieel besmettelijke stoffen bevatten. Pas universele voorzorgsmaatregelen toe.*

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

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

- buizen met de antistollingsmiddelen ethyleendiaminetetra-azijnzuur (EDTA) of zuur-citraat-dextrose (ACD) of
- PPT-buizen (Plasma Preparation Tubes)
- serumbuizen
- SST-buizen (serumseparatorbuizen)

Serum kan pas verder verwerkt worden na stolselvorming.

A. Monsterafname

Volbloed kan worden bewaard bij 2 °C tot 30 °C en moet binnen 6 uur na monsterafname worden gecentrifugeerd. Scheid het plasma of serum van de gepelleteerde rode bloedcellen volgens de instructies van de fabrikant van de gebruikte buis. Plasma of serum kan in de primaire buis of in een secundaire SAT-buis (Specimen Aliquot Tube) worden overgezet en op het Panther-systeem worden getest. De minimumhoeveelheid serum of plasma voor primaire afnamebuizen is 1.200 µl en voor SAT-buizen is de minimumhoeveelheid 700 µl voor een reactiehoeveelheid van 500 µl.

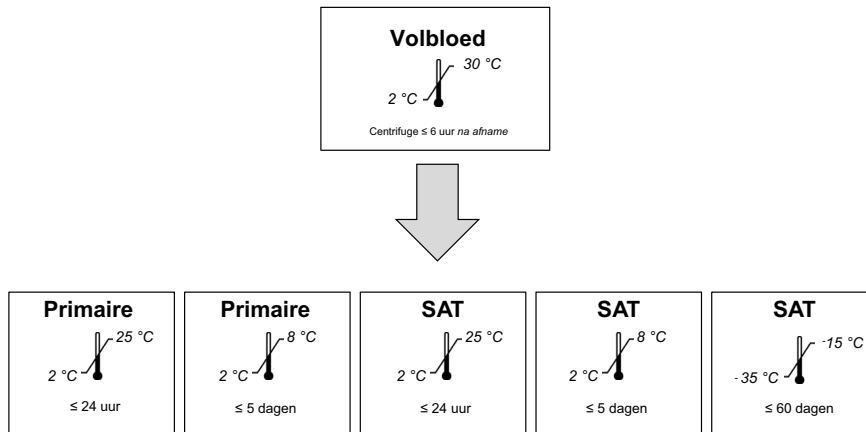
Als ze niet onmiddellijk worden getest kunnen plasma en serum worden bewaard volgens onderstaande specificaties. Als plasma of serum wordt overgezet in een SAT-buis kan die bij -20 °C worden ingevroren. Doorloop niet meer dan 3 vries-dooicycli. Bevries de monsters niet in primaire EDTA-, ACD- of serumafnamebuizen.

B. Opslagomstandigheden voor monsters

1. EDTA- en ACD-plasmamonsters

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

- tot maximaal 24 uur in de primaire afnamebuis of SAT bij 2 °C tot 25 °C,
- tot maximaal 5 dagen in de primaire afnamebuis of SAT bij 2 °C tot 8 °C of
- tot maximaal 60 dagen in de SAT bij -20 °C.

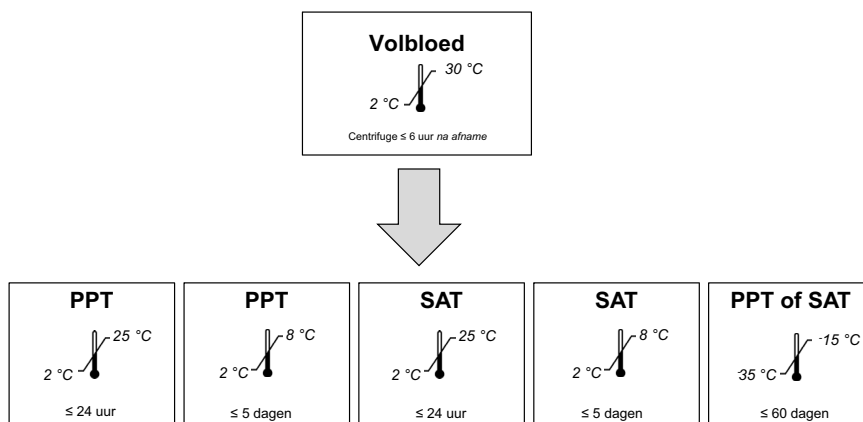


Afbeelding 1. Bewaarcondities voor EDTA-/ACD-buizen

2. PPT-monsters

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

- tot maximaal 24 uur in de primaire afnamebuis of SAT bij 2 °C tot 25 °C,
- tot maximaal 5 dagen in de primaire afnamebuis of SAT bij 2 °C tot 8 °C of
- tot maximaal 60 dagen in de primaire afnamebuis of SAT bij -20 °C.

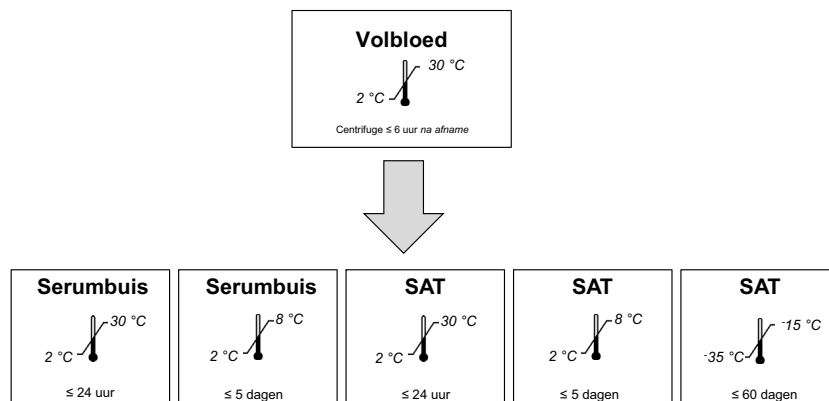


Afbeelding 2. Opslagomstandigheden voor PPT-buizen

3. Serumbuismonsters

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

- tot maximaal 24 uur in de primaire afnamebuis of SAT bij 2 °C tot 30 °C,
- tot maximaal 5 dagen in de primaire afnamebuis of SAT bij 2 °C tot 8 °C of
- tot maximaal 60 dagen in de SAT bij -20 °C.

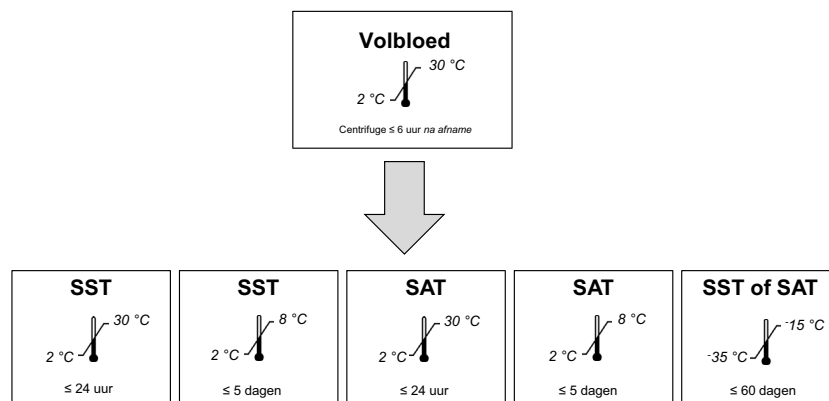


Afbeelding 3. Opslagomstandigheden voor serumbuizen

4. SST-monsters

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

- tot maximaal 24 uur in de primaire afnamebuis of SAT bij 2 °C tot 30 °C,
- tot maximaal 5 dagen in de primaire afnamebuis of SAT bij 2 °C tot 8 °C of
- tot maximaal 60 dagen in de primaire afnamebuis of SAT bij -20 °C.



Afbeelding 4. Opslagomstandigheden voor SST-buizen

C. Langdurig bewaren in de vriezer

Plasma- of serummonsters kunnen maximaal 60 dagen bij -70 °C worden bewaard in SAT-buizen.

D. Verdunning van plasma- en serummonsters

Plasma- en serummonsters mogen in de SAT worden verdund voor onderzoek in het Panther-systeem. Zie *Testprocedure voor het Panther-systeem*, stap E.6 hieronder voor meer informatie.



Plasma- en serummonsters mogen alleen worden verdund voor kwantitatieve resultaten. Verdun plasma- of serummonsters niet voor diagnostische uitslagen.

Let op: *als een monster wordt verdund, moet het onmiddellijk na verdunning worden getest. Vries een verdund monster niet in.*

Monsters in het Panther-systeem

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

Vervoer van monsters

De monsters moeten onder dezelfde omstandigheden worden bewaard als beschreven in *Monsterafname en -opslag*.

Let op: *De monsters moeten worden vervoerd volgens de toepasselijke nationale, internationale en regionale transportvoorschriften.*

Panther-systeem

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

Geleverde reagentia en materialen

Let op: Informatie over eventuele gevarenaanduidingen en veiligheidsmaatregelen die met reagentia in verband worden gebracht, vindt u in de Safety Data Sheet Library (bibliotheek met veiligheidsinformatiebladen) op www.hologic.com/sds.

Aptima HCV Quant Dx Assayset, 100 tests, cat.nr. PRD-03506

(1 assaydoos, 1 kalibratorkit en 1 controlekit)

Extra kalibrators en controles kunnen apart worden besteld. Raadpleeg de respectieve catalogusnummers hieronder.

Aptima HCV Quant Dx Assay-doos

(na ontvangst bewaren bij 2 °C tot 8 °C)

Symbol	Onderdeel	Hoeveelheid
A	qHCV-amplificatiereagens <i>Niet-besmettelijke nucleïnezuren gedroogd in gebufferde oplossing.</i>	1 flacon
E	qHCV-enzymreagens <i>Reverse-transcriptase en RNA-polymerase gedroogd in met HEPES gebufferde oplossing.</i>	1 flacon
PRO	qHCV-promoterreagens <i>Niet-besmettelijke nucleïnezuren gedroogd in gebufferde oplossing.</i>	1 flacon
AR	qHCV-amplificatiereconstitutieoplossing <i>Oplossing in water met glycerol en conserveringsmiddelen.</i>	1 x 7,2 ml
ER	qHCV-enzymreconstitutieoplossing <i>Met HEPES gebufferde oplossing met een surfactans en glycerol.</i>	1 x 5,8 ml
PROR	qHCV-promoterreconstitutieoplossing <i>Oplossing in water met glycerol en conserveringsmiddelen.</i>	1 x 4,5 ml
TCR	qHCV Target Capture Reagent <i>Nucleïnezuren in een gebufferde zoutoplossing met vastefase-, niet-besmettelijke nucleïnezuren en een interne kalibrator.</i>	1 x 72,0 ml
	Reconstitutiekragen	3
	Streepjescodeblad hoofdpartij	1 blad

Aptima HCV Quant Dx-kit met kalibrator (Cat.nr. PRD-03507)
(na ontvangst bewaren bij -15 °C tot -35 °C)

Symbol	Onderdeel	Hoeveelheid
PCAL	qHCV-positieve kalibrator <i>Transcript in gebufferde oplossing.</i>	5 x 2,5 ml
	Streepjescodelabel kalibrator	—

Aptima HCV Quant Dx-kit met controles (Cat.nr. PRD-03508)
(na ontvangst bewaren bij -15 °C tot -35 °C)

Symbol	Onderdeel	Hoeveelheid
NC	Negatieve qHCV-controle <i>HCV-negatief gedefibrineerd humaan plasma met gentamicine en 0,2% natriumazide als conserveringsmiddelen.</i>	5 x 0,8 ml
LPC	Laag-positieve qHCV-controle <i>Niet-besmettelijk HCV Armored RNA in gedefibrineerd humaan plasma met gentamicine en 0,2% natriumazide als conserveringsmiddelen.</i>	5 x 0,8 ml
HPC	Hoog-positieve qHCV-controle <i>Niet-besmettelijk HCV Armored RNA in gedefibrineerd humaan plasma met gentamicine en 0,2% natriumazide als conserveringsmiddelen.</i>	5 x 0,8 ml
	Streepjescodelabel controles	—

Benodigde maar apart geleverde materialen

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

Materiaal	Cat.nr.
Panther-systeem	—
Panther-runkit voor realtime assays (uitsluitend voor realtime assays)	PRD-03455 (5.000 tests)
<i>Aptima-kit met assayvloeistof (ook bekend als universele vloeistofkit) bevat Aptima-wasoplossing, Aptima-buffer voor deactiveringsvloeistof en Aptima-oliereagens</i>	303014 (1.000 tests)
<i>Apparaten voor meerdere buizen (MTU's)</i>	104772-02
<i>Panther-afvalzakkit</i>	902731
<i>Panther-afvalbakdeksel</i>	504405
of runkit voor het Panther-systeem <i>(bij het uitvoeren van niet-realtime TMA-assays parallel aan realtime TMA-assays) bevat MTU's, afvalzakken, afvalbakdeksels, automatische detectie en assayvloeistoffen</i>	303096 (5.000 tests)
Punten, 1.000 µl, geleidend, vloeistofdetectie	10612513 (Tecan)
Bleekmiddel, 5% tot 7% (0,7 M tot 1,0 M) natriumhypochlorietoplossing	—
Poederloze wegwerphandschoenen	—
Vervangende niet-doorprikbare doppen	103036A
Vervangende doppen voor reagentia	
<i>Reconstitutieflessen voor amplificatie-, enzym- en promoterreagens</i>	CL0041 (100 doppen)
<i>TCR-fles</i>	CL0040 (100 doppen)
Laboratoriumtafelbladen met plastic achterkant	—
Pluisvrije doekjes	—
Pipet	—
Punten	—
Er kunnen primaire afnamebuizen met de volgende afmetingen worden gebruikt:	—
<i>13 mm x 100 mm</i>	
<i>13 mm x 75 mm</i>	
<i>16 mm x 100 mm</i>	
Centrifuge	—
Vortexmixer	—

Optionele materialen

Materiaal	Cat.nr.
Aptima-SAT-buizen (100 stuks)	503762
Dop voor transportbuizen (100 stuks) <i>dop voor SAT-buis</i>	504415
Aptima-monsterverdunningsmiddel	PRD-03003
Aptima-monsterverdunningsmiddelkit <i>bevat monsterverdunningsmiddel, 100 SAT-buizen en 100 doppen</i>	PRD-03478
Transferpipetten	—
In de handel verkrijgbare panels, zoals: <i>HCV van QCMD (kwaliteitscontrole voor moleculaire diagnostiek) of SeraCare ACCURUN HCV-panels</i>	—
Wattenstaafjes	—
Schudmachine	—

Testprocedure voor het Panther-systeem

Let op: Raadpleeg de gebruikershandleiding van het Panther-systeem voor aanvullende informatie over procedures.

A. Voorbereiding werkgebied

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

B. Voorbereiding kalibrator en controles

Laat de kalibrator en de controles voor verwerking als volgt op 15 °C tot 30 °C komen:

1. Haal de kalibrator en de controles uit de opslag (-15 °C tot -35 °C) en breng ze op een temperatuur van 15 °C tot 30 °C. Keer elke buis tijdens het gehele ontdooiproces rustig om om de inhoud goed te mengen. Controleer vóór gebruik of de inhoud van de buis volledig ontdooid is.

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

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

2. Droog na ontdooiing van de inhoud de buitenkant van de buis af met een schoon, droog wegwerpdoekje.
3. Open de buizen niet om vervuiling te voorkomen.

C. Reconstitutie van de reagens/bereiding van een nieuwe kit

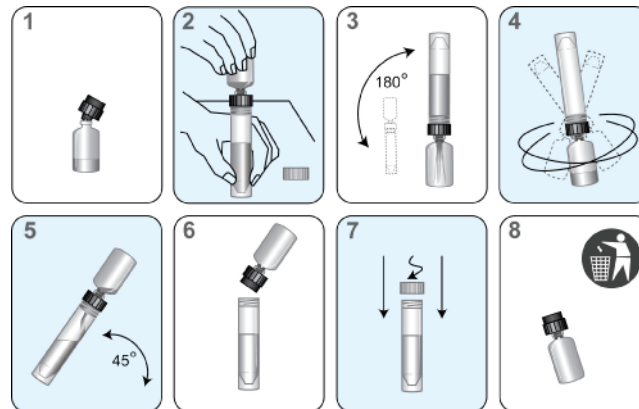
Let op: Reagentia moeten voorafgaand aan gebruik met het Panther-systeem worden gereconstitueerd.

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

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

- c. Kantel de aan elkaar bevestigde flessen weer langzaam, zodat alle oplossing terug in de fles met reconstitutieoplossing terugstroomt (Afbeelding 5, stap 5).
- d. Verwijder de reconstitutiekraag en het glazen flesje voorzichtig (Afbeelding 5, stap 6).
- e. Zet de dop weer op de fles. Noteer de initialen van de gebruiker en de datum van reconstitutie op het etiket (Afbeelding 5, stap 7).
- f. Gooi de reconstitutiekraag en het glazen flesje weg (Afbeelding 5, stap 8).

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



Afbeelding 5. Proces van reconstitutie van reagens

D. Bereiding van reagentia voor eerder bereide reagentia

1. Haal de eerder bereide reagentia uit de opslag (2 °C tot 8 °C).
2. Eerder bereide amplificatie-, enzym-, enzym- en promoterreagentia en TCR moeten op 15 °C tot 30 °C worden gebracht voorafgaand aan de aanvang van de assay.
3. Voer voor eerder bereid TCR stap C.1 hierboven uit voordat u het met het systeem gebruikt.
4. Om de amplificatie-, enzym- en promoterreagentia grondig te mengen voor ze in het systeem worden gebruikt, dient u ze rond te draaien en om te keren. Voorkom overmatige schuimvorming bij het omkeren van reagentia.
5. Flessen met reagentia mogen niet helemaal worden gevuld. Het Panther-systeem herkent te volle flessen en verwerkt die niet.

E. Verwerking van monsters

1. Controleer of bevroren monsters goed ontdooid zijn. Meng de ontdooidde monsters gedurende 3 tot 5 seconden goed met de vortexmixer.
2. Laat de monsters voor verwerking op een temperatuur van 15 °C tot 30 °C komen. Raadpleeg *Monsters in het Panther-systeem* voor aanvullende informatie.
3. Controleer of elke primaire afnamebuis ten minste 1.200 µl monster bevat. Controleer of elke Aptima-SAT-buis ten minste 700 µl monster bevat. Als het monster moet worden verdund, raadpleeg dan stap E.6 hieronder voor meer informatie.
4. Meng de monsters in de SAT-buizen gedurende 3 tot 5 seconden goed met de vortexmixer.

5. Vlak voordat u de monsters in een monsterrek plaatst, centrifugeert u elk monster gedurende 10 minuten op 1.000 tot 3.000g. Verwijder de doppen niet. Luchtbellen in de buis verstoren detectie van het vloeistofpeil door het Panther-systeem.

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

6. Een plasma- of serummonster in de SAT-buis verdunnen

Een monster mag in de SAT worden verdund voor onderzoek met het Panther-systeem.

- ⚠ Monsters mogen alleen worden verdund voor kwantitatieve resultaten. Verdun monsters niet voor diagnostische uitslagen.

Let op: Als een monster wordt verdund, moet het onmiddellijk na verdunning worden getest.

- a. Verdunning van laagvolumemonsters

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

- i. Doe 240 µl monster in een SAT-buis.
- ii. Voeg 480 µl monsterverdunningsmiddel toe.
- iii. Doe een dop op de buis.
- iv. Draai de buis rustig 5 keer om om de inhoud te mengen.

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

- b. Verdunning van monster met een hoge titer

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

- i. Doe 30 µl monster in een SAT-buis.
- ii. Voeg 2.970 µl monsterverdunningsmiddel toe.
- iii. Doe een dop op de buis.
- iv. Draai de buis rustig 5 keer om om de inhoud te mengen.

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

Let op: De resultaten van verdunde monsters met onverdunde concentraties die groter zijn dan de bovengrens van kwantificering, zullen in de wetenschappelijke notatie worden gerapporteerd.

F. Gereedmaken van het systeem

1. Stel het systeem in volgens de instructies in de *gebruikershandleiding van het Panther-systeem* en *Procedurele opmerkingen*. Zorg ervoor dat u reagensrekken en TCR-adapters van het juiste formaat gebruikt.
2. Plaats de monsters in het monsterrek. Voer voor elke monsterbuis (monster en, wanneer nodig, kalibrator en controles) de volgende stappen uit:
 - a. Maak één monsterdop los, maar verwijder de dop nog niet.
Let op: Wees vooral voorzichtig om besmetting via verspreiding van aerosolen te voorkomen. Maak de doppen op de monsters voorzichtig los.
 - b. Plaats de monsterbuis in het monsterrek.
 - c. Herhaal stap 2.a en 2.b voor elk resterend monster.
 - d. Wanneer de monsters in het monsterrek zijn geplaatst, dient u de dop van elke monsterbuis in één monsterrek eraf te halen en af te voeren. Houd een dop niet boven andere monsterrekken of monsterbuizen om vervuiling te voorkomen.
 - e. Gebruik zo nodig een nieuwe wegwerptransferpipet om luchtbellen of schuim te verwijderen.
 - f. Wanneer de laatste dop eraf is gehaald, plaatst u het monsterrek in een monstervak.
Let op: Als u tegelijkertijd andere assays met andere monstertypes uitvoert, zet de monsterhouder voorafgaand aan het plaatsen van het monsterrek in het monstervak.
 - g. Herhaal stappen 2.a tot en met 2.f voor het volgende monsterrek.

Procedurele opmerkingen

A. Kalibrator en controles

1. De buizen voor de positieve qHCV-kalibrator, de laag-positieve qHCV-controle, de hoog-positieve qHCV-controle en de negatieve qHCV-controle kunnen in elke positie in het monsterrek en in elke monstervakbaan in het Panther-systeem worden geplaatst. Monsters worden gepipetteerd wanneer aan een van de volgende twee voorwaarden is voldaan:
 - a. De kalibrator en controles worden op het moment verwerkt door het systeem.
 - b. Geldige resultaten voor de kalibrator en controles worden in het systeem geregistreerd.
2. Wanneer de kalibrator en controlebuizen zijn gepipetteerd en voor de Aptima HCV Quant Dx Assay-reagenskit worden verwerkt, kunnen monsters tot maximaal 24 uur met de bijbehorende gereconstitueerde kit worden getest behalve in de volgende gevallen:
 - a. de resultaten voor de kalibrator of controles zijn ongeldig;
 - b. de bijbehorende assayreagentiakit is uit het systeem verwijderd;
 - c. de bijbehorende assayreagentiakit heeft de stabiliteitsgrenzen overschreden.
3. De kalibrator en elke controlebuis kan maar één keer worden gebruikt. Pogingen om de buis vaker dan een keer te gebruiken kunnen leiden tot verwerkingsfouten.

B. Handschoenpoeder

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

Kwaliteitscontrole

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

Assaykalibratie

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

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

Negatieve en positieve controles

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

Bij verwerking worden criteria voor het accepteren van controles automatisch geverifieerd door de software op het Panther-systeem. Voor geldige resultaten moet de negatieve controle het resultaat 'Niet aangetroffen' opleveren en de resultaten van de positieve controles moeten binnen de vooraf gedefinieerde parameters vallen. Als een van de controles een ongeldig resultaat heeft, beschouwt de software de run automatisch als ongeldig. Monsters in een ongeldige run moeten opnieuw worden getest met een net voorbereide kalibrator en net bereide controles.

Interne kalibrator/interne controle

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

De software op het Panther-systeem software is ontworpen om processen nauwkeurig te verifiëren wanneer procedures worden uitgevoerd volgens de instructies in de bijsluiters en de *gebruikershandleiding van het Panther-systeem*.

Interpretatie van resultaten

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

Let op: Voor verdunde monsters mogen resultaten met de vermelding 'Niet aangetroffen' of '< 10 aangetroffen' worden gegenereerd door verdunning van een monster met een concentratie hoger dan de LOD (detectielimiet) of LLOQ (ondergrens van kwantificering), maar er niet ver af. Aanbevolen wordt nog een verdund monster af te nemen en te testen als er geen kwantitatief resultaat wordt verkregen.

Het Panther-systeem levert geen kwalitatief resultaat (d.w.z. 'reactief' of 'niet-reactief') voor diagnostisch gebruik. De gebruiker moet de gerapporteerde HCV-RNA-concentratie interpreteren naar een kwalitatief resultaat (Tabel 1). Monsters met het resultaat 'Niet aangetroffen' zijn niet-reactief voor HCV-RNA. Monsters met het resultaat '< 10 aangetroffen' of binnen het lineaire bereik en > 100.000.000 (bovengrens van kwantificering) wijzen erop dat HCV-RNA is aangetroffen en dat deze monsters reactief zijn voor HCV-RNA.

Tabel 1: Interpretatie van de uitslag

Gerapporteerd resultaat Aptima HCV Quant Dx Assay		Interpretatie van HCV-RNA-concentratie	Diagnostische kwalitatieve interpretatie door de gebruiker ^a
IE/ml	Log ₁₀ -waarde ^b		
Niet aangetroffen	Niet aangetroffen	HCV-RNA niet aangetroffen	Niet-reactief voor HCV-RNA
< 10 aangetroffen	< 1,00	HCV-RNA is aangetroffen maar in een concentratie lager dan de LLOQ	Reactief voor HCV-RNA
10 tot 100.000.000	1,00 tot 8,00	De HCV-RNA-concentratie ligt binnen het lineaire bereik van 10 tot 100.000.000 IE/ml	Reactief voor HCV-RNA
> 100.000.000	> 8,00	HCV-RNA-concentratie is hoger dan de ULOQ	Reactief voor HCV-RNA
Ongeldig ^c	Ongeldig ^c	Er is een fout opgetreden bij het genereren van het resultaat. Monsters moeten opnieuw worden getest	Ongeldig

^a Een diagnostische interpretatie kan worden gegeven op basis van serum- of plasmamonsters die niet zijn verdund.

^b Waarde is ingekort op twee decimalen.

^c Ongeldige uitslagen worden in het blauw weergegeven.

Beperkingen

- A. Alleen personeel dat is getraind in de procedure, mag deze assay gebruiken. Niet-naleving van de instructies in deze bijsluiter kan leiden tot foutieve resultaten.
- B. Betrouwbare resultaten zijn afhankelijk van adequate monsterafname, vervoer, opslag en verwerking.

Prestaties

Detectielimiet (LOD) op basis van de 2e internationale WHO-norm

De detectielimiet (LOD) van de assay wordt gedefinieerd als de HCV-RNA-concentratie die is aangetroffen bij een waarschijnlijkheid van 95% of hoger volgens CLSI EP17-A2.¹⁹

De LOD werd bepaald op grond van testen met panels van de 2e internationale WHO-norm voor hepatitis-C-virus-RNA (NIBSC 96/798 genotype 1) verdund in humaan HCV-negatief plasma en serum. Minimaal 36 replica's van elke verdunning werden getest met een van drie reagenspartijen voor minimaal 108 replica's per verdunning. Een waarschijnlijkheidsanalyse werd uitgevoerd voor de voorspelde detectielimieten. De LOD-waarden in Tabel 2 zijn de resultaten van de reagenspartij met de hoogste voorspelde detectielimiet. De LOD voor de Aptima HCV Quant Dx Assay op basis van de 2e internationale WHO-norm is 4,3 IE/ml voor plasma en 3,9 (IE/ml) voor serum.

Tabel 2: Detectielimiet op basis van de 2e internationale WHO-norm voor HCV

Voorspelde detectielimiet	Concentratie (IE/ml)	
	Plasma	Serum
10%	0,3	0,3
20%	0,4	0,5
30%	0,5	0,6
40%	0,7	0,8
50%	0,9	1,0
60%	1,1	1,2
70%	1,5	1,5
80%	2,0	2,0
90%	3,0	2,9
95%	4,3	3,9

Detectielimiet voor alle HCV-varianten

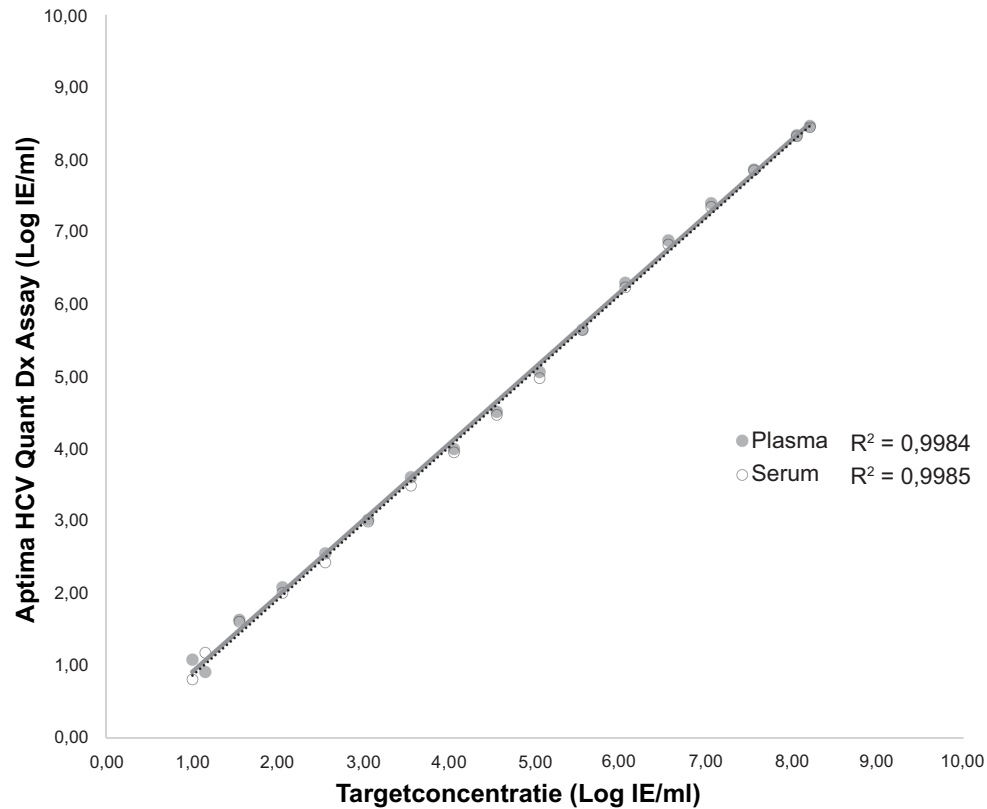
De LOD werd bepaald op grond van testen met verdunde HCV-positieve klinische monsters voor varianten 1, 2, 3, 4, 5 en 6 in humaan HCV-negatief plasma en serum. Concentraties werden bepaald op basis van een vergelijkende assay met CE-markering. Minimaal 20 replica's van elk paneelid werden getest met elke van drie reagenspartijen voor minimaal 60 replica's per paneelid. Een waarschijnlijkheidsanalyse werd uitgevoerd voor 50% en 95% van de voorspelde detectielimieten. De LOD-waarden in Tabel 3 zijn de resultaten van de reagenspartij met de hoogste voorspelde detectielimiet.

Tabel 3: Detectielimiet voor HCV-varianten op basis van klinische monsters

Genotype	Voorspelde detectielimiet	Concentratie (IE/ml)	
		Plasma	Serum
1	50%	0,8	1,3
	95%	3,8	5,1
2	50%	1,0	1,1
	95%	2,8	4,0
3	50%	1,1	1,0
	95%	4,3	3,4
4	50%	1,3	0,7
	95%	4,8	2,3
5	50%	0,8	0,9
	95%	2,1	3,2
6	50%	0,6	0,9
	95%	3,9	3,9

Lineair bereik

Het lineaire bereik werd bepaald op grond van testen met panels van HCV Armored RNA, verdund in HCV-negatief humaan plasma en serum conform CLSI EP06-A.²⁰ Panels varieerden in concentratie van 1,0 log IE/ml tot 8,2 log IE/ml. De Aptima HCV Quant Dx Assay vertoonde lineariteit in het gehele geteste bereik, met een bovengrens van kwantificering (ULOQ) van 8,0 log IE/ml, zoals weergegeven in Afbeelding 6.



Afbeelding 6. Lineariteit in plasma en serum

Lineariteit voor HCV-genotypen

De lineaire respons voor genotypen 1, 2, 3, 4, 5 en 6 werd bevestigd op basis van testen met panels van HCV-transcript verdund in buffer bij concentraties variërend van 1,36 log IE/ml tot 7,36 log IE/ml. Tests zijn uitgevoerd op drie Panther-systemen met drie reagenspartijen. Lineariteit werd aangetoond in het gehele geteste bereik voor alle genotypen zoals weergegeven in Afbeelding 7.



Afbeelding 7. Lineariteit voor HCV-genotypen 1-6

Ondergrens van kwantificering op basis van de 2e internationale Who-norm

De ondergrens van kwantificering (LLOQ) wordt gedefinieerd als de laagste concentratie waarin HCV-RNA op betrouwbare wijze wordt gekwantificeerd binnen een totale fout (TE, total error) conform CLSI EP17-A2.¹⁹ De totale fout werd geschat met behulp van twee methoden: totale analytische fout (tae) = |bias| + 2sd, en totale fout (te) = SQRT(2) X 2sd. Om de nauwkeurigheid en precisie van de metingen te garanderen is de TE van de Aptima HCV Quant Dx Assay ingesteld op 1 log IE/ml (d.w.z. dat bij LLOQ een verschil tussen twee metingen van meer dan 1 log IE/ml statistisch significant is).

De LLOQ werd bepaald op grond van testen met panels van de 2e internationale WHO-norm voor hepatitis-C-virus-RNA (NIBSC 96/798 genotype 1) verdund in humaan HCV-negatief plasma en serum. Minimaal 36 replica's van elke verdunning werden getest met een van drie reagenspartijen voor minimaal 108 replica's per verdunning. De resultaten van de reagenspartij met de hoogste concentratie gelijk aan of hoger dan de LOD die voldeden aan de eisen voor TE en TAE, zijn in Tabel 4 weergegeven voor plasma en in Tabel 5 voor serum. De LLOQ voor de 2e internationale WHO-norm is 7 IE/ml (0,82 log IE/ml) voor plasma en 9 IE/ml (0,93 log IE/ml) voor serum, zoals samengevat in Tabel 6. De LLOQ werd vastgesteld voor alle genotypen (zie volgende sectie 'Bepaling van de ondergrens van kwantificering (LLOQ) voor alle HCV-genotypen'). Deze gegevens over genotypen stelden de totale LLOQ voor de assay op 10 IE/ml.

Tabel 4: LLOQ op basis van de 2e internationale WHO-norm voor HCV verdund in plasma

Reagenspartij	Targetconcentratie	Targetconcentratie	Aptima HCV	SD	Bias	Berekende TE	Berekende TAE
	(IE/ml)	(log IE/ml)	(log IE/ml)	(log IE/ml)	(log IE/ml)	(log IE/ml)	(log IE/ml)
1	3	0,48	0,53	0,30	0,05	0,85	0,65
	6	0,78	0,73	0,31	-0,04	0,88	0,67
	8	0,90	1,08	0,23	0,18	0,65	0,64
2	3	0,48	0,37	0,32	-0,11	0,92	0,75
	6	0,78	0,82	0,27	0,04	0,78	0,59
	8	0,90	0,96	0,26	0,06	0,74	0,58
3	3	0,48	0,46	0,25	-0,01	0,71	0,52
	6	0,78	0,76	0,34	-0,02	0,95	0,69
	8	0,90	0,89	0,26	-0,01	0,73	0,53

SD = standaarddeviatie

Tabel 5: LLOQ op basis van de 2e internationale WHO-norm voor HCV verdund in serum

Reagenspartij	Targetconcentratie	Targetconcentratie	Aptima HCV	SD	Bias	Berekende TE	Berekende TAE
	(IE/ml)	(log IE/ml)	(log IE/ml)	(log IE/ml)	(log IE/ml)	(log IE/ml)	(log IE/ml)
1	3	0,48	0,65	0,33	0,17	0,94	0,84
	6	0,78	0,93	0,32	0,15	0,90	0,79
	8	0,90	1,08	0,28	0,18	0,80	0,74
2	3	0,48	0,52	0,36	0,04	1,02	0,76
	6	0,78	0,89	0,32	0,11	0,90	0,75
	8	0,90	1,01	0,21	0,11	0,60	0,53
3	3	0,48	0,47	0,39	-0,01	1,11	0,79
	6	0,78	0,71	0,30	-0,06	0,86	0,67
	8	0,90	0,95	0,29	0,05	0,83	0,63

SD = standaarddeviatie

Tabel 6: Samenvatting van de LLOQ op basis van de 2e internationale WHO-norm voor HCV

Reagenspartij	Plasma LLOQ		Serum LLOQ	
	(log IE/ml)	(IE/ml)	(log IE/ml)	(IE/ml)
1	0,73	5	0,93	9
2	0,82	7	0,89	8
3	0,76	6	0,71	5

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

De LLOQ werd bepaald op grond van testen met verdunde HCV-positieve klinische monsters voor genotypen 1, 2, 3, 4, 5 en 6 in humaan HCV-negatief plasma en serum. Toewijzing van de concentraties voor klinische monsters werd bepaald op basis van een vergelijkende assay met CE-markering. Minimaal 36 replica's van elk panellid werden getest met elke van drie reagenspartijen voor minimaal 108 replica's per panellid. De resultaten van de reagenspartij met de hoogste concentratie gelijk aan of hoger dan de LOD die voldeden aan de eisen voor TE en TAE, zijn in Tabel 7 weergegeven voor plasma en in Tabel 8 voor serum. De LLOQ voor genotypen 1 tot en met 6 in plasma en serum zijn samengevat in Tabel 9. Hiermee werd de totale LLOQ voor de assay vastgesteld op 10 IE/ml.

Tabel 7: Bepaling van LLOQ voor alle genotypen in plasma

Genotype	Targetconcentratie	Targetconcentratie	Aptima HCV Quant Dx	SD	Bias	Berekende TE	Berekende TAE
	(IE/ml)	(log IE/ml)	(log IE/ml)	(log IE/ml)	(log IE/ml)	(log IE/ml)	(log IE/ml)
1	3	0,48	0,65	0,38	0,17	1,08	0,94
	6	0,78	0,88	0,35	0,11	1,00	0,82
	8	0,90	0,99	0,24	0,09	0,68	0,56
2	3	0,48	0,63	0,40	0,16	1,13	0,95
	4	0,60	0,76	0,29	0,15	0,81	0,73
	6	0,78	1,12	0,30	0,34	0,86	0,94
3	6	0,78	0,52	0,30	-0,26	0,85	0,86
	10	1,00	0,80	0,21	-0,20	0,59	0,62
	12	1,08	0,89	0,26	-0,19	0,74	0,71
4	8	0,90	0,61	0,39	-0,29	1,11	1,07
	10	1,00	0,82	0,31	-0,18	0,87	0,80
	12	1,08	1,01	0,29	-0,07	0,83	0,65
5	3	0,48	0,57	0,37	0,10	1,06	0,85
	6	0,78	0,87	0,31	0,09	0,89	0,72
	10	1,00	1,15	0,16	0,15	0,44	0,46
6	2	0,30	0,66	0,36	0,36	1,02	1,08
	3	0,48	0,79	0,28	0,31	0,80	0,87
	6	0,78	1,14	0,26	0,36	0,74	0,89

SD = standaarddeviatie

Tabel 8: Bepaling van LLOQ voor alle genotypen in serum

Genotype	Targetconcentratie	Targetconcentratie	Aptima HCV Quant Dx	SD	Bias	Berekende TE	Berekende TAE
	(IE/ml)	(log IE/ml)	(log IE/ml)	(log IE/ml)	(log IE/ml)	(log IE/ml)	(log IE/ml)
1	6	0,78	0,75	0,36	-0,03	1,02	0,75
	8	0,90	0,88	0,32	-0,02	0,89	0,65
	10	1,00	1,04	0,29	0,04	0,81	0,61
2	3	0,48	0,48	0,35	0,00	0,99	0,70
	6	0,78	0,80	0,31	0,02	0,86	0,63
	10	1,00	1,04	0,25	0,04	0,72	0,54
3	6	0,78	0,45	0,25	-0,33	0,72	0,84
	10	1,00	0,67	0,22	-0,33	0,63	0,78
	12	1,08	0,92	0,19	-0,16	0,54	0,54
4	1	0,00	0,19	0,27	0,19	0,77	0,73
	2	0,30	0,65	0,32	0,35	0,91	0,99
	3	0,48	0,65	0,34	0,17	0,96	0,85
5	3	0,46	0,48	0,37	0,02	1,04	0,76
	6	0,76	0,72	0,29	-0,04	0,81	0,61
	9	0,94	1,04	0,27	0,10	0,77	0,65
6	3	0,48	0,58	0,37	0,11	1,04	0,84
	6	0,78	0,99	0,22	0,21	0,61	0,64
	10	1,00	1,25	0,22	0,25	0,63	0,70

SD = standaarddeviatie

Tabel 9: Bepaling van LLOQ voor alle genotypen in plasma en serum

HCV-genotype	Plasma LLOQ		Serum LLOQ	
	(log IE/ml)	(IE/ml)	(log IE/ml)	(IE/ml)
1	0,88	8	0,88	8
2	0,76	6	0,80	6
3	0,80	6	0,67	5
4	0,82	7	0,65	4
5	0,87	7	0,72	5
6	0,79	6	0,99	10

Nauwkeurigheid

Ter bepaling van de nauwkeurigheid werd een panel van 10 gemaakt door verdunning van HCV-positieve klinische monsters of door het spiken van Armored RNA in HCV-negatieve plasma en serum. Het panel werd gedurende een periode van 21 dagen getest door drie gebruikers met drie reagenspartijen op drie Panther-systemen.

Tabel 10 geeft de nauwkeurigheid van assayresultaten (in log IE/ml) weer tussen instrumenten, tussen gebruikers, tussen partijen, tussen runs, binnen runs en in totaal. De totale variabiliteit was $\leq 13,31\%$ voor alle panelleden, vooral vanwege variabiliteit binnen de runs (d.w.z. willekeurige fout).

Tabel 10: Nauwkeurigheid van de Aptima HCV Quant Dx Assay

Matrix	N	Gemiddelde concentratie (log IE/ml)	Tussen instrumenten		Tussen gebruikers		Tussen partijen		Tussen runs		Binnen runs		Totaal	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Plasma	98 ^a	1,23	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	3,35	0,06	4,54	0,12	9,84	0,14	11,34
Plasma	162	2,06	0,05	2,23	0,00	0,00	0,07	3,20	0,03	1,47	0,10	4,91	0,14	6,88
Plasma	162	3,02	0,03	0,89	0,01	0,24	0,04	1,47	0,01	0,33	0,09	3,08	0,11	3,77
Plasma	162	4,87	0,00	0,00	0,00	0,00	0,03	0,60	0,04	0,86	0,06	1,13	0,10	2,04
Plasma	162	7,16	0,02	0,21	0,01	0,20	0,04	0,52	0,00	0,00	0,05	0,75	0,09	1,27
Serum	132 ^a	1,27	0,00	0,00	0,00	0,00	0,07	5,16	0,00	0,00	0,15	12,17	0,17	13,31
Serum	162	2,17	0,02	0,99	0,04	1,71	0,07	3,01	0,05	2,15	0,08	3,53	0,12	5,61
Serum	162	3,09	0,02	0,67	0,00	0,00	0,06	1,79	0,03	0,90	0,07	2,26	0,11	3,44
Serum	161	4,86	0,00	0,00	0,04	0,78	0,08	1,67	0,00	0,00	0,08	1,72	0,13	2,65
Serum	162	7,16	0,00	0,00	0,05	0,70	0,05	0,73	0,02	0,31	0,04	0,55	0,10	1,35

CV = variatiecoëfficiënt, SD = standaarddeviatie

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

Let op: Variabiliteit van sommige factoren kan numeriek negatief zijn, wat soms het geval is als de variabiliteit als gevolg van die factoren zeer klein is. Wanneer dat het geval is, worden SD en CV weergegeven als 0.

Potentieel storende stoffen

De gevoeligheid van de Aptima HCV Quant Dx Assay voor interferentie door een verhoogd gehalte aan endogene stoffen of door geneesmiddelen die veelal worden voorgeschreven aan met HCV geïnfecteerde personen, is geëvalueerd. HCV-negatieve plasmamonsters en monsters gespiket met HCV tot een concentratie van 3,3 log IE/ml HCV-RNA, zijn getest.

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

Klinische plasmamonsters van patiënten met verhoogde concentraties gedefinieerde stoffen of van patiënten met de ziekten die staan vermeld in Tabel 11, zijn getest met de Aptima HCV Quant Dx Assay. Er is geen interferentie in de prestaties van de assay waargenomen.

Tabel 11: Geteste klinische-monstertypes

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

Er is geen interferentie in de prestaties van de assay waargenomen in aanwezigheid van de exogene stoffen die staan vermeld in Tabel 12 bij concentraties die minstens drie keer de C_{max} (humaan plasma) zijn.

Tabel 12: Exogene stoffen

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

Specificiteit

De specificiteit werd bepaald op basis van 198 verse en 538 bevroren klinische HCV-negatieve monsters. In totaal zijn 370 plasma- en 366 serummonsters getest. De specificiteit werd berekend als het percentage HCV-negatieve monsters met 'Niet aangetroffen' als resultaat. HCV-RNA werd in geen van de 736 monsters aangetroffen. De specificiteit was 100% (736/736, 95% BI: 99,6 -100%).

Tabel 13: Specificiteit in klinische plasma- en serummonsters

	Vers plasma	Bevroren plasma	Plasmatotaal	Vers serum	Bevroren serum	Serumtotaal	Gecombineerd
Geldige replica's (n)	100	270	370	98	268	366	736
Niet aangetroffen	100	270	370	98	268	366	736
Specificiteit (95% BI)	100% (97,1-100)	100% (98,9-100)	100% (99,2-100)	100% (97,0-100)	100% (98,9-100)	100% (99,2-100)	100% (99,6-100)

BI = betrouwbaarheidsinterval

Analytische specificiteit

Potentiële kruisreactiviteit tegen pathogenen uit Tabel 14 werd geëvalueerd in HCV-negatief humaan plasma in aanwezigheid of afwezigheid van 3,3 log IE/ml HCV. Er werd geen kruisreactiviteit waargenomen. Er werd geen interferentie waargenomen in aanwezigheid van pathogenen.

Tabel 14: Pathogenen die zijn getest op analytische specificiteit

Pathoog	Concentratie		Pathoog	Concentratie	
Hepatitis-A-virus	100.000	kopieën/ml	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	1.000.000	kve/ml ^f
Hepatitis-B-virus (HBV)	100.000	IE/ml ^a	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1.000.000	kve/ml
Hepatitis-G-virus	1.470	pve/ml ^b	<i>Staphylococcus aureus</i>	1.000.000	kve/ml
HIV-1	100.000	kopieën/ml	<i>Propionibacterium acnes</i>	1.000.000	kve/ml
HIV-2	100.000	pve/ml	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1.000.000	kve/ml
Herpes-simplex-virus 1 (HSV-1)	100.000	pve/ml	<i>Candida albicans</i>	1.000.000	kve/ml
Herpes-simplex-virus 2 (HSV-2)	100.000	pve/ml	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1.000.000	kve/ml
Humaan herpesvirus 6B	100.000	kopieën/ml	<i>Chlamydia trachomatis</i>	1.000.000	ive/ml ^g
Humaan herpesvirus 8	2.667	TCID50 E/ml ^c	<i>Trichomonas vaginalis</i>	1.000.000	cellen/ml
Humaan T-cel-lymfotroopvirus type I (HTLV-1)	100.000	vp/ml ^d			
Humaan T-cel-lymfotroopvirus type II (HTLV-2)	100.000	vp/ml			
Parvovirus B19	100.000	IE/ml			
West-Nijlvirus	100.000	pve/ml			
Knokkelkoortsvirus 1	100.000	pve/ml			
Knokkelkoortsvirus 2	100.000	pve/ml			
Knokkelkoortsvirus 3	100.000	pve/ml			
Knokkelkoortsvirus 4	100.000	pve/ml			
Cytomegalovirus	100.000	pve/ml			
Epstein-Barr-virus	100.000	kopieën/ml			
Rubellavirus	100.000	pve/ml			
Humaan papillomavirus	100.000	cellen/ml			
Adenovirus type 5	100.000	TCID50 E/ml			
Influenza-A-virus	100.000	TCID50 E/ml			
Japanse-encefalitisvirus	n.v.t.	n.v.t.			
Saint-Louis-encefalitisvirus	n.v.t.	n.v.t.			
Murray-Valley-encefalitisvirus	2.643	LD/ml ^e			
Gelekoortsvirus	100.000	cellen/ml			

^aIE/ml = internationale eenheden per ml

^bpve/ml = plaquevormende eenheid per ml

^cTCID50 E/ml = infectieuze dosiseenheden van weefselweek per ml

^dvp/ml = virusdeeltjes per ml

^eLD/ml = letale dosis per ml

^fkve/ml = kolonievormende eenheden per ml

^give/ml = inclusievormende eenheden per ml

Klinische monsters met andere virussen dan HCV

De pathogenen uit Tabel 15 werden geëvalueerd op basis van individuele op natuurlijke wijze geïnfecteerde klinische monsters. Ze werden getest in aanwezigheid of afwezigheid van 3,3 log IE/ml HCV-RNA. Er werd geen kruisreactiviteit waargenomen. Er werd geen interferentie waargenomen.

Tabel 15: Klinische monsters die zijn getest op analytische specificiteit

Micro-organisme	Matrix	N (donoren)
HBV	serum	5
HBV	plasma	5
Knokkelkoortsvirus	plasma	10
Hepatitis-A-virus	plasma	10
HTLV-1	plasma	10
HTLV-2	plasma	10
HIV-1	plasma	10
West-Nijlvirus	plasma	10

Herhaalbaarheid van klinische monsters

Herhaalbaarheid werd geëvalueerd op basis van testen met drie replica's van op natuurlijke wijze geïnfecteerde HCV-positieve klinische plasma- en serummonsters. De gemiddelde concentratie en standaarddeviatie voor de geteste plasma- en serummonsters assay worden weergegeven in Tabellen 16 en 17.

Tabel 16: Herhaalbaarheid van klinische plasmamonsters

Plasmamonster-ID	Gemiddelde concentratie (log IE/ml)	SD
1	1,68	0,05
2	1,69	0,17
3	1,73	0,06
4	1,73	0,06
5	1,84	0,05
6	2,30	0,10
7	2,71	0,09
8	2,80	0,06
9	3,22	0,04
10	3,80	0,05
11	4,12	0,08
12	4,21	0,11
13	4,90	0,14
14	6,94	0,11
15	7,05	0,04

Tabel 17: Herhaalbaarheid van klinische serummonsters

Serummonster-ID	Gemiddelde concentratie (log IE/ml)	SD
1	1,67	0,07
2	1,74	0,10
3	1,86	0,15
4	1,67	0,07
5	2,00	0,07
6	2,51	0,08
7	3,12	0,23
8	3,29	0,02
9	3,70	0,18
10	3,99 ^a	0,13
11	4,35	0,05
12	5,48	0,12
13	5,74	0,07
14	5,80	0,13
15	7,15	0,10

^aResultaat van twee van de drie geteste replica's. Een uitschieterende replica is verwijderd.

Monsterverdunning met behulp van een monsterverdunningsmiddel

Ter bepaling van het herstel van HCV-RNA in monsters die waren verdund met Aptima-monsterverdunningsmiddel, werden plasma- en serummonsters die het lineaire bereik omspannen, 1:3 verdund met Aptima-monsterverdunningsmiddel. Daarnaast werden op natuurlijke wijze geïnfecteerde klinische monsters met een hoge titer en met Armored RNA gespikete monsters met concentraties hoger dan de ULOQ 1:100 verdund met Aptima-monsterverdunningsmiddel. Elk monster werd in drievoud onverdund getest en verdund (1:3 of 1:100). Het verschil tussen de gemiddelde gerapporteerde concentratie (verdunningsfactor toegepast op het resultaat van het verdunde monster) en de gemiddelde onverdunde concentratie wordt weergegeven in Tabel 18 voor plasma en in Tabel 19 voor serum. De monsterconcentraties werden nauwkeurig uit de verdunde monsters gehaald.

Tabel 18: Monsterverdunning met Aptima-monsterverdunningsmiddel – plasma

Verdunning	Gemiddelde onverdunde concentratie (log IE/ml)	Gemiddelde gerapporteerde concentratie ^a (log IE/ml)	Vershil
1:3	1,68	1,89	-0,21
	1,69	1,69	0,00
	1,73	2,11	-0,38
	1,73	1,78	-0,05
	1,84	1,80	0,04
	2,30	2,23	0,07
	2,71	2,76	-0,05
	2,80	2,76	0,04
	3,22	3,28	-0,06
	3,80	3,71	0,09
	4,12	4,06	0,06
	4,21	4,07	0,14
	4,90	4,68	0,22
	6,94	6,72	0,22
	7,05	6,91	0,14
1:100	7,05	6,59	0,46
	> 8,00 (8,45) ^b	8,38	0,07

^aDe gerapporteerde concentratie is de waarde die is berekend nadat de verdunningsfactor is toegepast.

^bGespiket monster.

Let op: Alle resultaten > 8,00 log IE/ml werden berekend met behulp van aanvullende analyse.

Tabel 19: Monsterverdunning met Aptima-monsterverdunningsmiddel – serum

Verdunningsfactor	Gemiddelde onverdunde concentratie (log IE/ml)	Gemiddelde gerapporteerde concentratie ^a (log IE/ml)	Vershil
1:3	1,67	1,85	-0,18
	1,74	1,72	0,02
	1,86	1,66	0,20
	1,67	1,85	-0,18
	2,00	1,91	0,09
	2,51	2,37	0,14
	3,12	3,01	0,11
	3,29	3,35	-0,06
	3,70	3,53	0,17
	3,99 ^c	3,87	0,12
	4,35	4,30	0,05
	5,48	5,25	0,23
	5,74	5,62	0,12
	5,80	5,50	0,30
7,15	6,86	0,29	
1:100	7,15	6,65	0,50
	> 8,00 (8,44) ^b	8,46	-0,02

^aDe gerapporteerde concentratie is de waarde die is berekend nadat de verdunningsfactor is toegepast.

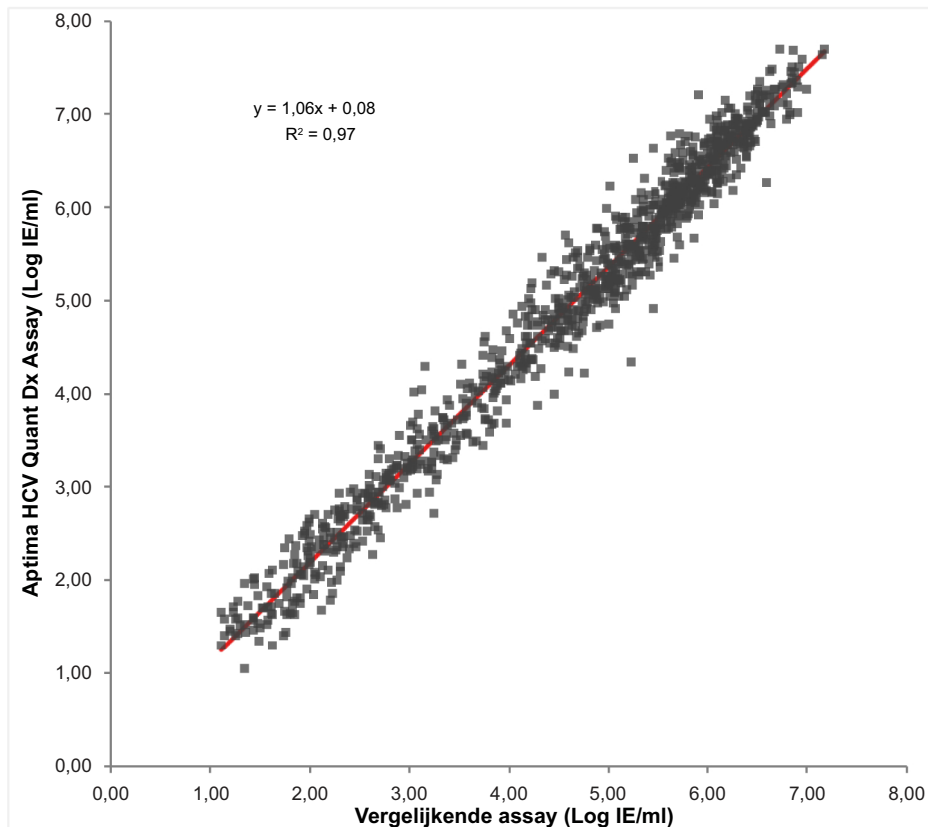
^bGespiket monster.

^cResultaat van twee van de drie geteste replica's. Een uitschieterende replica is verwijderd.

Let op: Alle resultaten > 8,00 log IE/ml werden berekend met behulp van aanvullende analyse.

Correlatie van methoden

De prestaties van de Aptima HCV Quant Dx Assay zijn afgezet tegen een vergelijkende assay met CE-markering op basis van testen met onverdunde klinische monsters afkomstig van met HCV geïnfekteerde patiënten op drie Panther-systemen met vier reagenspartijen. In totaal 1.058 plasma- en serummonsters (872 plasma, 186 serum) van alle HCV-genotypen binnen het lineaire bereik die gebruikelijk zijn voor beide assays werden gebruikt voor de lineaire regressie zoals weergegeven in Afbeelding 8.



Afbeelding 8. Correlatie tussen de Aptima HCV Quant Dx Assay en de vergelijkende assay

Diagnostische overeenstemming

Ter bepaling van de diagnostische overeenstemming werden 227 plasma- en serummonsters afkomstig van HCV-positieve individuen getest met de Aptima HCV Quant Dx Assay en een vergelijkende kwalitatieve assay met CE-markering. Elk kwantificeerbaar of detecteerbaar resultaat werd ingedeeld als 'Aangetroffen'. Resultaten van een niet-opgespoord doel werden ingedeeld als "Target niet aangetroffen". Diagnostische overeenstemming tussen assays was 100% zoals aangetoond in Tabel 20.

Tabel 20: Diagnostische overeenstemming tussen de Aptima HCV Quant Dx Assay en de vergelijkende assay

		Aptima HCV Quant Dx Assay	
		Aangetroffen	Target niet aangetroffen
Vergelijkende assay	Aangetroffen	99	0
	Target niet aangetroffen	0	128

Vermenging

Om vast te stellen dat het Panther-systeem het risico van fout-positieve resultaten als gevolg van vermenging minimaliseert, is een studie uitgevoerd met behulp van gespikete panels op drie Panther-systemen. Vermenging werd bepaald met behulp van met Armored RNA gespikete plasmamonsters met een hoge titer (7 log IE/ml) in een dambordpatroon met HCV-negatieve monsters. Er zijn vijftien runs uitgevoerd voor de testen. Het algehele vermengingspercentage was 0,14% (1/704).

Seroconversiepanel

Elf HCV-seroconversiepanelsets, met in totaal 72 monsters, werden getest. De resultaten van de Aptima HCV Quant Dx Assay werden vergeleken met die van HCV-antistoffen. Het aantal dagen tot het eerste reactieve resultaat staat in Tabel 21. Met de Aptima HCV Quant Dx Assay werd de aanwezigheid van HCV gemiddeld 20 dagen eerder opgemerkt dan met antistoffentests.

Tabel 21: Samenvatting gegevens seroconversiepanels

Panel-ID	Aantal geteste panelleden	Aantal panelleden met reactie			Aantal dagen tot eerste reactief resultaat			Verschil in dagen tot eerste reactief resultaat (op basis van de datum van het bloedmonster)	
		Aptima HCV Quant Dx	HCV-antistoftest 1	HCV-antistoftest 2	Aptima HCV Quant Dx	HCV-antistoftest 1	HCV-antistoftest 2	Aantal dagen eerder aantoonbaar dan met HCV-antistoftest 1	Aantal dagen eerder aantoonbaar dan met HCV-antistoftest 2
		PHV911	4	4	3	3	3 ^a	14	14
PHV913	4	4	0	2	0	9 ^b	7	9	7
PH919	7	4	3	3	25	28	28	3	3
PH920	9	9	7	6	0 ^c	13	16	13	16
PH921	11	11	9	7	0	7	18	7	18
PH923	6	6	2	2	0	21	21	21	21
PH924	6	6	3	3	0	59	59	59	59
PH925	5	5	1	1	0	27	27	27	27
PH926	5	5	1	0	0	14	14 ^b	14	14
6227	7	4	2	2	42	74	74	32	32
6229	8	8	4	3	0	17	20	17	20
Totaal	72	66	35	32			Gemiddelde	19,36	20,73
							Mediaan	14	18

HCV-antilichaamtest 1 is uitgevoerd met de Abbot Prism HCV Assay

HCV-antistoftest 2 is uitgevoerd met de Ortho Enhanced SAVE Assay, met volgende uitzonderingen:

Panels 6.227 en 6.229, die beide zijn getest met de Ortho ELISA Anti-HCV 3.0 Assay

^aEerste bloedmonster werd niet getest vanwege niet-beschikbaarheid van een monster van leverancier.

^bAlle bloed in dit panel was non-reactief op HCV-antilichamen. De laatste bloeddag werd gebruikt als "Aantal dagen tot eerste reactief resultaat".

^cTweede bloedmonster werd niet getest vanwege niet-beschikbaarheid van een monster van leverancier.

Literatuur

1. Averhoff FM, Glass N and Holtzman D. Global Burden of Hepatitis C: Considerations for Healthcare Providers in the United States. *Clinical Infectious Diseases* 2012; 55 (S1): S10-15.
2. Current and Future Disease Progression of the Chronic HCV Population in the United States (2013) *PLOS ONE* Volume 8: Issue 5; 1-10.
3. Engle RE, Bukh J, Alter HJ et al., <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24797372> Transfusion-associated hepatitis before the screening of blood for hepatitis risk factors. *Transfusion*. 5 mei 2014
4. Lee M-H, Yang, H-I, Yuan Y et al., Epidemiology and natural history of hepatitis C virus infection. *World J Gastroenterology* 2014; 20 (28): 9270-9280
5. *Hepatitis C Viruses: Genome and Molecular Biology* (2006); Horizon Biosciences
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) 2014: www.hcvguidelines.org
9. CDC. Testing for HCV infection: An update for clinicians and laboratories. *MMWR* 2013; 62 (18)
10. Rutter, K, Hofer H, Beinhardt, S et al., Durability of SVR in chronic hepatitis C patients treated with peginterferon- α 2a/ribavirin in combination with a direct acting antiviral. *Aliment Pharmacol Ther*. 2013 Jul;38(2):118-23.
11. Treatment of Hepatitis C, A Systemic Review (2014) *JAMA* Volume 312: No.6; 631-640.
12. EASL International Consensus Conference on Hepatitis C. Consensus Statement. *J Hepatol* 1999; 30; 956-61
13. NIH Consensus and State-of-the-Science Statements. Management of Hepatitis C: 2002; 19 (3):1-46
14. Peiffer K-H and Sarrazin C. The importance of HCV RNA measurement in tailoring treatment duration: *Digestive and Liver Disease* 45S (2013) S323-S331.
15. **Clinical and Laboratory Standards Institute**. 2005. Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods; Approved Guideline. CLSI Document MM13-A. Wayne, PA.
16. **29 CFR Part 1910.1030**. Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens; current version.
17. **Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health**. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL); current version.
18. **Clinical and Laboratory Standards Institute**. 2002. Clinical Laboratory Waste Management. CLSI Document GP5-A2. Villanova, PA.
19. **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.
20. **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.



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

Klantenservice: +1 800 442 9892
customersupport@hologic.com
Technische ondersteuning: +1 888 484 4747
molecularsupport@hologic.com

Ga voor meer informatie naar www.hologic.com.



Hologic N.V.
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

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

Armored RNA is een handelsmerk van Asuragen, Inc.

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

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

© 2015-2018 Hologic, Inc. Alle rechten voorbehouden.

AW-13249-1501 Rev. 003
2018-03