

## Aptima™ HCV Quant Dx Assay

För *in vitro*-diagnostik.

Endast för export från USA.

<b>Allmän information</b> .....	<b>2</b>
Avsedd användning .....	2
Sammanfattning och förklaring av analysen .....	2
Metodprinciper .....	3
Varningar och försiktighetsåtgärder .....	4
Förvaring och hantering av reagens .....	6
Provtagning och provförvaring .....	7
Prover i Panther System .....	10
Transport av prover .....	10
<b>Panther System</b> .....	<b>11</b>
Medföljande reagens och material .....	11
Nödvändiga material som införskaffas separat .....	13
Valfri materiel .....	14
Analysmetod för Panther System .....	14
Metodanmärkningar .....	18
<b>Kvalitetskontroll</b> .....	<b>19</b>
Analyskalibrering .....	19
Negativa och positiva kontroller .....	19
Inre kalibrator/inre kontroll .....	19
<b>Tolkning av resultat</b> .....	<b>20</b>
<b>Begränsningar</b> .....	<b>20</b>
<b>Egenskaper</b> .....	<b>21</b>
Detekteringsgräns (Limit of Detection, LOD) vid användning av WHO:s andra internationella standard ...	21
Detekteringsgräns för HCV-genotyper .....	22
Linjärt intervall .....	23
Linjäritet i HCV-genotyper .....	24
Nedre kvantifieringsgräns enligt WHO:s andra internationella standard .....	24
Bestämning av nedre kvantifieringsgräns (LLOQ) i HCV-genotyper .....	26
Precision .....	28
Potentiellt interfererande substanser .....	28
Specificitet .....	30
Analytisk specificitet .....	31
Kliniska prover som innehåller andra virus än HCV .....	32
Reperterbarhet för kliniska prover .....	32
Provutspädning med provutspädningsmedel .....	33
Metodkorrelation .....	35
Diagnostisk överensstämmelse .....	35
Överföring .....	36
Serokonverteringspanel .....	36
<b>Litteraturförteckning</b> .....	<b>37</b>

## **Allmän information**

### **Avsedd användning**

Aptima HCV Quant Dx Assay är en transkriptionsmedierad amplifieringsanalys i realtid. Denna analys används för både detektering och kvantifiering av hepatit C-virus (HCV), RNA i färskt och djupfryst humant serum samt i plasma från HCV-infekterade individer.

Plasma kan prepareras i etylendiamintetraacetat (EDTA), ACD-lösning och plasmaberedningsrör (Plasma Preparation Tubes, PPT). Serum kan prepareras i serumrör och serumseparationsrör (Serum Separator Tubes, SST). Prover analyseras med hjälp av Panther System för automatiserad bearbetning, amplifiering, detektering och kvantifiering av prover. Prover som innehåller HCV-genotyperna 1 till 6 valideras för detektering och kvantifiering i analysen.

Aptima HCV Quant Dx Assay är avsedd att användas som ett hjälpmedel vid diagnos av HCV-infektion. Assayen kan användas för att bekräfta en aktiv HCV-infektion hos patienter med positiva HCV-antikroppsresultat. Detektering av HCV RNA tyder på virusreplikation, vilket visar på en aktiv infektion.

Aptima HCV Quant Dx Assay är avsedd att användas som ett hjälpmedel i vård av HCV-infekterade patienter som genomgår antiviral läkemedelsbehandling mot HCV. Assayen mäter HCV RNA-nivåer vid baslinjen, under behandling och efter behandlingen i syfte att fastställa kvarstående virologiskt svar (Sustained Virological Response, SVR). Resultaten från Aptima HCV Quant Dx Assay måste tolkas inom ramen för alla relevanta kliniska och laboratoriebaserade resultat.

Aptima HCV Quant Dx Assay är inte avsedd att användas för undersökning av eventuell HCV-förekomst i blod eller blodprodukter.

### **Sammanfattning och förklaring av analysen**

HCV är en blodburen patogen och ett globalt folkhälsoproblem med upp till 170 miljoner människor infekterade över hela världen och 350 000 dödsfall varje år på grund av HCV-relaterade tillstånd, inklusive cirros och levercancer.<sup>1,2</sup> Överföring av HCV sker genom exponering för blod, blodprodukter eller aktiviteter som medför risk för perkutan exponering.<sup>3,4</sup> Genetiskt innehåller HCV ett positivt strängt RNA-genom med ungefär 9 500 nukleotider som kodar strukturella proteiner (kärnproteiner, E1- och E2-glykoproteiner, p7-jonkanalprotein) och icke-strukturella proteiner (NS2, NS3, NS4A/B, NS5A/B), av vilka den senare är en central grupp av virusreplikerande proteiner och mål för direktagerande antiviraler.<sup>4,5</sup> Två icke-translaterade områden (UTR:er) av genomet – 5' icke-translaterade områden och 3' icke-translaterade områden – har genomtranslation och genomreplikations/-paketeringsroller, respektive.<sup>5</sup> 5'-UTR:en är den bäst bevarande genomregionen i de sex största HCV-genotyperna.<sup>6</sup>

Ur klinisk synvinkel finns det en hög prevalens av asymtomatisk HCV-infektion, och trots detekterbar antikropp (vanligen inom 5–12 veckor) uppträder kronisk HCV-infektion hos upp till 75 % av patienterna.<sup>2</sup> Algoritmer för HCV-laboratorieanalys kräver diagnos av aktiva HCV-infektioner hos antikroppspositiva personer genom detektering av HCV RNA i plasma eller serum för att möjliggöra en passande behandling.<sup>7,8,9</sup>

Kvantifiering av HCV RNA (virusbelastning) har spelat en avgörande roll i arbetet med att definiera och följa upp framgångsrik HCV-behandling. Kvarstående virologiskt svar (SVR) – definierat som icke-detekterat HCV RNA efter framgångsrik behandling – är en avgörande markör för botemedel för HCV.<sup>10,11</sup> I interferonbaserad behandling har tidigt virologiskt svar

(Early Virological Response, EVR) – definierat som en minskning av 2 log eller mer av HCV-virusbelastningen efter 12 veckors behandling – samt snabbt virologiskt svar (Rapid Virological Response, RVR) – definierat som ej detekterbara nivåer av HCV RNA efter 4 veckors behandling – visat sig vara positiva prediktorer för SVR.<sup>10,12,13</sup> Dessa viruskinetiska markörer används i responsstyrda metoder med anpassning av behandlingsalternativ för upphörande eller förlängning av behandling i syfte att uppnå SVR.<sup>14</sup> Dessutom har långsiktiga uppföljningsstudier visat på SVR:s varaktighet efter framgångsrik behandling och att virusutrotning förebygger förvärrande av leversjukdomar.<sup>10</sup>

I en tid av direktverkande antiviraler (Direct-acting antivirals, DAA), görs mätningar av HCV-virusbelastning före behandling i syfte att fastställa baslinjevirusbelastning, under behandling för att fastställa svar på behandling och efter behandlingen för att utvärdera kvarstående virologiskt svar (eller recidiv). Nästan alla patienter uppnår virologiska svar på direktverkande antiviraler i samband med behandling, definierade som under den nedre kvantifieringsgränsen (<Lower Limit of Quantitation, LLOQ) för analysen, följt av värden på kvarstående virologiskt svar över 90 % vid 12 veckor efter behandling med de flesta kurer.<sup>8,11</sup> Detektering och kvantifiering av HCV RNA kommer fortsatt att ha en central roll i HCV-diagnos och hantering av patienter som genomgår antiviral behandling.

## Metodprinciper

Aptima HCV Quant Dx Assay är en nukleinsyreamplifieringsanalys som använder transkriptionsmedierad amplifieringsanalysteknik (TMA) i realtid i syfte att detektera och kvantifiera HCV RNA före behandling för att underlätta diagnos eller fastställa baslinjevirusbelastning, samt för att mäta patientens svar under och efter behandling. Analysen är inriktad på en bevarad region av HCV-genomet som detekterar och kvantifierar genotyperna 1, 2, 3, 4, 5 och 6. Denna analys uppfyller WHO:s andra internationella standard för hepatit C-virus (NIBSC kod 96/798).<sup>12</sup>

Aptima HCV Quant Dx Assay består av tre huvudmoment som alla genomförs i ett och samma provrör i Panther System: target capture, målamplifiering genom transkriptionsmedierad amplifiering (Transcription-Mediated Amplification, TMA) samt detektering av amplifieringsprodukterna (amplikon) genom fluorescensmärkta probes (torches).

Under target capture isoleras viralt RNA från proverna. Proverna behandlas med en detergent som löser upp virushöljet, denaturerar proteiner och frisläpper viralt genomiskt RNA. Capture-oligonukleotider hybridiseras till konserverade områden med HCV RNA, om sådana finns, i provet. Det hybridiserade målet fångas därefter in på magnetiska mikropartiklar som separeras från provet i ett magnetfält. Tvättmomenten avlägsnar främmande ämnen från reaktionsröret.

Målamplifiering sker via TMA, en transkriptionsmedierad nukleinsyreamplifieringsmetod som använder två enzymer, Moloneys musleukemivirus (MMLV) reverse transcriptase och T7 RNA-polymeras. Reverse transcriptase används för att generera en DNA-kopia (innehållande en promotorsekvens för T7 RNA-polymeras) av målsekvensen. T7 RNA-polymeras producerar flera kopior av RNA-amplikon från DNA-mallen. Aptima HCV Quant Dx Assay använder TMA-metoden för att amplifiera en del av HCV-genomets 5' icke-translaterade områden. Det här området amplifieras med hjälp av specifika primrar som är utformade för att amplifiera HCV-genotyperna 1, 2, 3, 4, 5 och 6.

Detekteringen uppnås med hjälp av enkelsträngade nukleinsyre-torches som är närvarande under amplifieringen av målet och som hybridiseras särskilt till amplikonen i realtid. Varje torch har en fluorofor och en quencher. När torchen inte hybridiseras till amplikonen befinner sig quencheren i fluoroforens närhet och dämpar fluorescensen. När torchen binds till

amplikonen flyttas släckaren längre bort från fluoroforen och sänder ut en signal på en särskild våglängd när den exciteras av en ljuskälla. När fler torches hybridiseras till amplikon uppstår en starkare fluorescerande signal. Den tid det tar för den fluorescerande signalen att nå ett angivet tröskelvärde är proportionell mot den inledande koncentrationen av HCV. Varje reaktion har en inre kalibrator/inre kontroll (IC) som kontrollerar för variationer i behandling, amplifiering och detektering av prover. Provets koncentration bestäms av Panther System-programvaran med hjälp av HCV- och IC-signalerna för varje reaktion, vilka sedan jämförs med kalibreringsinformationen.

## Varningar och försiktighetsåtgärder

- A. Läs noggrant bipacksedeln och *användarhandledningen för Panther System* innan du utför den här analysen, för att minska risken för ogiltiga resultat.

## Laboratorierelaterad information



- B. **FÖRSIKTIGHET:** Kontrollerna för den här analysen innehåller human plasma. Plasman har befunnits vara negativ för hepatit B-ytantigen (hepatitis B surface antigen, HBsAg), antikroppar mot HCV, antikroppar mot HIV-1 och HIV-2 samt HIV-antigen när den analyserades med US Food and Drug Administrations licensierade testmetoder. Plasman var dessutom icke-reaktiv för HCV RNA och HIV-1 RNA när den analyserades med licensierade nukleinsyretest med användning av poolade prover. Alla ämnen som har varit i kontakt med eller har sitt ursprung i humant blod ska betraktas som potentiellt smittbärande och bör hanteras med allmänt vedertagna försiktighetsåtgärder.<sup>15,16,17</sup>
- C. Endast personal med adekvat utbildning i användningen av Aptima HCV Quant Dx Assay och hantering av potentiellt smittförande ämnen bör utföra det här momentet. I händelse av spill ska ytan omedelbart desinficeras enligt lämpliga lokala rutiner.
- D. Använd endast medföljande eller föreskriven laborieutrustning för engångsbruk.
- E. Laktta sedvanliga säkerhetsrutiner för arbete i laboratorium. Pipettera inte med hjälp av munnen. Ät, drick och rök inte inom anvisade arbetsytor. Använd puderfria engångshandskar, skyddsglasögon och laborierockar vid hantering av prover och reagensloter. Tvätta händerna noga efter hantering av prover och reagensloter.
- F. Arbetsytor, pipetter och annan utrustning måste regelbundet dekontamineras med 2,5 till 3,5 % (0,35 till 0,5 M) natriumhypokloritlösning.
- G. Kassera alla material och ämnen som har varit i kontakt med prover och reagens i enlighet med tillämpliga lokala föreskrifter eller myndighetsföreskrifter.<sup>15,16,17,18</sup> Rengör och desinficera alla arbetsytor noggrant.
- H. Kontrollerna innehåller natriumazid som konserveringsmedel. Överför inte reagens med hjälp av metallrör. Om lösningar som innehåller natriumazidföreningar kasseras i avloppssystemet ska de spädas ut och spolade ned tillsammans med rikliga mängder rinnande vatten. Dessa försiktighetsåtgärder rekommenderas i syfte att undvika ansamling av avlagringar i metallrör där explosiva förhållanden kan uppstå.
- I. God standardpraxis för molekylärbiologiska laboratorier inbegriper miljöövervakning. För kontroll av laboriemiljön rekommenderas följande förfarande:
1. Hämta en provpinne med bomullstopp och koppla den till ett Aptima provalikvotrör (Specimen Aliquot Tube, SAT).

2. Märk alla SAT:er på lämpligt sätt.
3. Fyll varje SAT med 1 ml Aptima Specimen Diluent.
4. Samla in prov på ytan genom att fukta provpinnen lätt med nukleasfritt avjoniserat vatten.
5. Ta prov från ytan av intresse med en vertikal rörelse uppifrån och ned. Vrid provpinnen ungefär ett halvt varv medan du tar provet.
6. Placera omedelbart provpinnen i röret och virvla den försiktigt i spädningsmedlet för att extrahera potentiellt uppsamlat material. Tryck provpinnen mot transportrörets ena sida för att extrahera så mycket vätska som möjligt. Kassera provpinnen och sätt ett lock på provröret.
7. Upprepa proceduren med övriga prover.
8. Testa provet med en molekyllär analys.



### Provrelaterad information

- J. Proverna kan vara smittförande. Vidta allmänt vedertagna försiktighetsåtgärder<sup>15,16,17</sup> när du genomför den här analysen. Korrekta hanterings- och kasseringsmetoder bör fastställas enligt lokala bestämmelser.<sup>18</sup> Endast personal med adekvat utbildning i användningen av Aptima HCV Quant Dx Assay och hantering av smittförande ämnen bör utföra det här momentet.
- K. Upprätthåll korrekta förvaringsförhållanden vid transport av prover för att säkerställa provernas kvalitet. Provernas stabilitet har inte utvärderats under andra fraktförhållanden än de som rekommenderas.
- L. Undvik korskontamination vid hantering av prover. Var särskilt noga med att undvika förorening genom spridning av aerosoler när locken lossas eller tas av. Prover kan innehålla mycket höga nivåer av organismer. Se till att olika provbehållare inte kommer i kontakt med varandra och kassera använda material utan att flytta dem över öppna behållare. Byt handskar om de kommer i kontakt med prov.

### Analysrelaterad information

- M. Använd inte reagensloten, kalibratorn eller kontrollerna efter utgångsdatum.
- N. Assayreagens från satser med olika huvudlotnummer får inte bytas, blandas eller kombineras. Analysvätskor, kontroller och kalibratorer kan komma från olika batchnummer.
- O. Undvik mikrobiell och nukleasförorening av reagens.
- P. Assayreagens ska förvaras med lock på och i specificerade temperaturer. Analyserna kan påverkas om du använder assayreagens som har förvarats på ett olämpligt sätt. Se *Förvaring och hantering av reagens* och *Analysmetod för Panther System* för mer information.
- Q. Blanda inte assayreagens eller vätskor såvida du inte har fått särskilda instruktioner att göra det. Fyll inte behållare med ytterligare reagens och vätskor. Panther System kontrollerar reagensnivåerna.
- R. Vissa reagens i denna sats är märkta med risk- och säkerhetssymboler.

**Note:** *Farokommunikation återspeglar klassificeringar i EU-säkerhetsdatablad (SDS). För information om farokommunikation specifik för ditt område, se områdets specifika SDS i Safety Data Sheet Library (bibliotek med säkerhetsdatablad) på [www.hologicsds.com](http://www.hologicsds.com).*

 	<b>HCV VL Kit Controls</b> <b>Natriumazid 0,2 %</b> Human Serum 95 - 100 %
	<b>WARNING</b> H312 - Skadligt vid hudkontakt H412 - Skadliga långtidseffekter för vattenlevande organismer P273 - Undvik utsläpp till miljön P280 - Använd skyddshandskar/skyddskläder/ögonskydd/ansiktsskydd

## Förvaring och hantering av reagens

- A. Följande tabell visar förvaringsförhållanden och stabilitet för reagens, kontroller och kalibrator.

Reagens	Förvaring öppnat	Öppnad sats (rekonstituerad)	
		Förvaring	Stabilitet
qHCV amplifieringsreagens	2 till 8 °C		
qHCV amplifieringsrekonstitutionslösning	2 till 8 °C	2 till 8 °C	30 dagar <sup>a</sup>
qHCV enzymreagens	2 till 8 °C		
qHCV enzymrekonstitutionslösning	2 till 8 °C	2 till 8 °C	30 dagar <sup>a</sup>
qHCV promotorreagens	2 till 8 °C		
qHCV promotorrekonstitutionslösning	2 till 8 °C	2 till 8 °C	30 dagar <sup>a</sup>
qHCV Target Capture-Reagens	2 till 8 °C	2 till 8 °C	30 dagar <sup>a</sup>
qHCV NC CONTROL – (negativ kontroll)	-15 till -35 °C	15 till 30 °C	Ampull för engångsbruk Använd inom 24 timmar
qHCV LPC CONTROL + (låg positiv kontroll)	-15 till -35 °C	15 till 30 °C	Ampull för engångsbruk Använd inom 24 timmar
qHCV HPC CONTROL + (hög positiv kontroll)	-15 till -35 °C	15 till 30 °C	Ampull för engångsbruk Använd inom 24 timmar
qHCV PCAL (positiv kalibrator)	-15 till -35 °C	15 till 30 °C	Ampull för engångsbruk Använd inom 24 timmar

<sup>a</sup> Reagens som avlägsnas från Panther System ska omedelbart återbördas till lämpliga förvaringstemperaturer.

- B. Kassera eventuella oanvända rekonstituerade reagens och Target Capture-reagens (TCR) efter 30 dagar eller efter huvudlotens utgångsdatum, beroende på vilket som inträffar först.
- C. Reagens som förvaras i Panther System har 72 timmars hållbarhet i instrumentet. Reagens kan laddas i Panther System upp till 5 gånger. Panther System loggar varje tillfälle då reagensen laddas.
- D. När kalibratoren har tinats upp måste lösningen vara klar, dvs. den får inte vara grumlig eller ha utfällningar.

- ⚠ E. Promotorreagens och rekonstituerat promotorreagens är ljuskänsliga. Skydda dessa reagens från ljus under förvaring och beredning för användning.

## Provtagning och provförvaring

**Obs!** Hantera alla prover som om de innehåller potentiellt smittförande ämnen. Vidta allmänt vedertagna försiktighetsåtgärder.

**Obs!** Undvik korskontamination under hantering av prover. Använda material och ämnen ska till exempel kasseras utan att passera över öppna rör.

**Obs!** Endast sekundära rör av plast rekommenderas för förvaring.

Helblodsprover som har samlats in i följande glas- eller plaströr kan användas:

- Provrör innehållande etylendiamintetraacetat (EDTA), ACD-antikoagulanter, eller
- Plasmaberedningsrör (PPT).
- Serumrör.
- Serumseparationsrör (SST).

För serum ska koagel hinna bildas före fortsatt bearbetning.

### A. Provtagning

Helblod kan förvaras i 2 till 30 °C och måste centrifugeras inom 6 timmar efter provtagningen. Separera plasma eller serum från de pelleterade röda blodkropparna i enlighet med tillverkarens anvisningar för det provrör som används. Plasma eller serum kan testas i Panther-systemet i ett primärt rör eller överförs till ett sekundärt rör, som Aptima provalikvotrör. För att erhålla en reaktionsvolym på 500 µl är den lägsta volymen plasma eller serum för primära provtagningsrör 1200 µl, och för sekundära rör är den lägsta volymen 700 µl. Följande tabell identifierar dödvolymskrav för varje primär och sekundär rörtyp.

Rör (storlek och typ)	Dödvolymskrav på Panther
Aptima Sample Aliquot Tube (provalikvotrör (SAT))	0,2 ml
12x75 mm	0,5 ml
13x100 mm	0,5 ml
13x100 mm med gel	0,3 ml
16x100 mm med gel	0,7 ml

Plasma och serum som inte analyseras omedelbart kan förvaras i enlighet med nedanstående anvisningar. Vid överföring till ett sekundärt rör kan plasma eller serum frysas vid -20 °C. Överskrid inte tre nedfrysings-upptiningsscykler. Frys inte prover i EDTA, ACD eller primära provtagningsrör för serum.

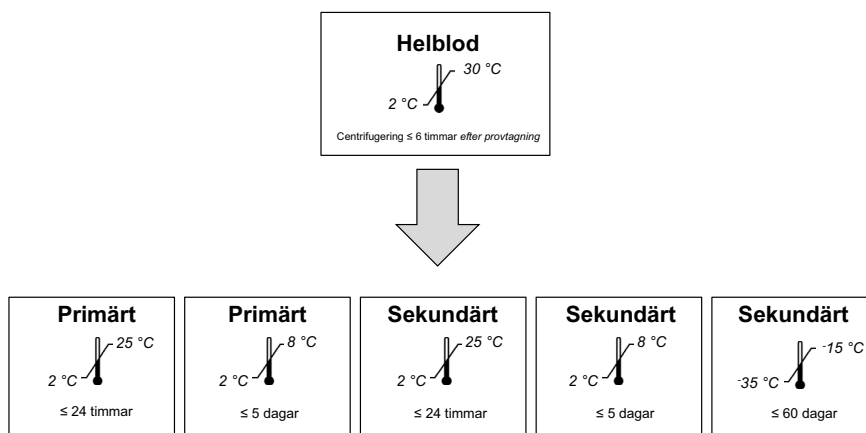
### B. Förvaringsförhållanden för prover

#### 1. EDTA- och ACD-plasmaprover

Helblod kan förvaras i 2 till 30 °C och måste centrifugeras inom 6 timmar efter provtagningen. Plasma kan sedan förvaras under något av följande förhållanden:

- I det primära provtagningsröret eller ett sekundärt rör vid 2 °C till 25 °C i upp till 24 timmar,

- I det primära provtagningsröret eller ett sekundärt rör vid 2 °C till 8 °C i upp till 5 dagar, eller
- I det sekundära röret vid -20 °C i upp till 60 dagar.



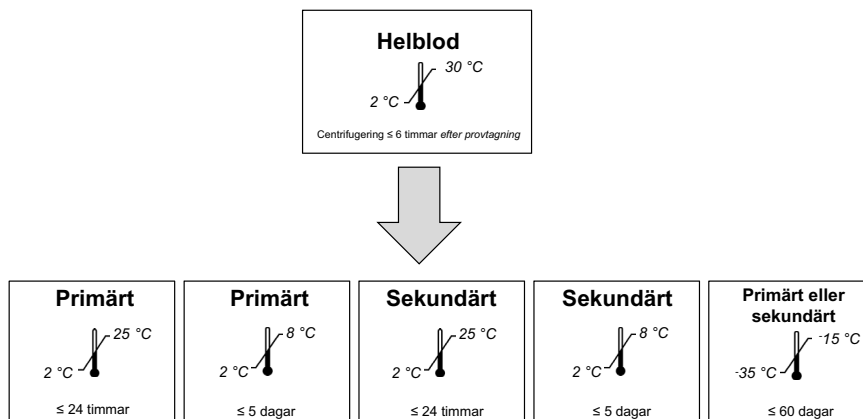
**Figur 1. Förvaringsförhållanden för EDTA-/ACD-rör**



## 2. PPT-prover

Helblod kan förvaras i 2 till 30 °C och måste centrifugeras inom 6 timmar efter provtagningen. Plasma kan sedan förvaras under något av följande förhållanden:

- I det primära provtagningsröret eller ett sekundärt rör vid 2 °C till 25 °C i upp till 24 timmar,
- I det primära provtagningsröret eller ett sekundärt rör vid 2 °C till 8 °C i upp till 5 dagar, eller
- I det primära provtagningsröret eller ett sekundärt rör i -20 °C upp till 60 dagar.

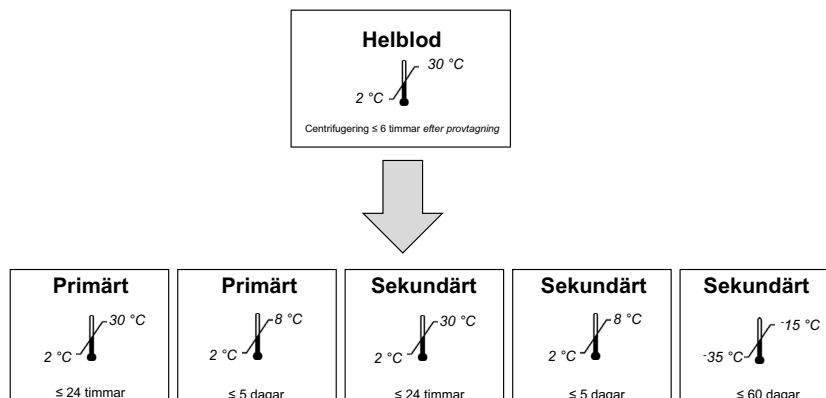


**Figur 2. Förvaringsförhållanden för PPT-rör**

## 3. Prover i serumrör

Helblod kan förvaras i 2 till 30 °C och måste centrifugeras inom 6 timmar efter provtagningen. Serum kan förvaras under något av följande förhållanden:

- I det primära provtagningsröret eller ett sekundärt rör vid 2 °C till 30 °C i upp till 24 timmar,
- I det primära provtagningsröret eller ett sekundärt rör vid 2 °C till 8 °C i upp till 5 dagar, eller
- I det sekundära röret vid -20 °C i upp till 60 dagar.

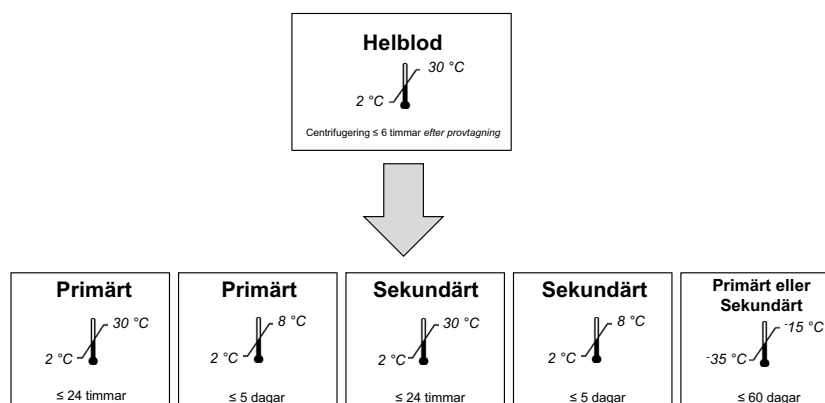


**Figur 3. Förvaringsförhållanden för serumrör**

## 4. SST-prover

Helblod kan förvaras i 2 till 30 °C och måste centrifugeras inom 6 timmar efter provtagningen. Serum kan förvaras under något av följande förhållanden:

- I det primära provtagningsröret eller ett sekundärt rör vid 2 °C till 30 °C i upp till 24 timmar,
- I det primära provtagningsröret eller ett sekundärt rör vid 2 °C till 8 °C i upp till 5 dagar, eller
- I det primära provtagningsröret eller ett sekundärt rör i -20 °C upp till 60 dagar.



Figur 4. Förvaringsförhållanden för SST-rör

## C. Långtidsnedfrysning

Plasma- eller serumprover kan förvaras i -70 °C i upp till 60 dagar i SAT.

## D. Spädning av plasma- och serumprover

Plasma- och serumprover kan spädas i provalikvotröret eller ett sekundärt rör för analys i Panther-systemet. Se *Analysmetod för Panther System*, steg E.6 nedan för mer information.

⚠ *Spädning av plasma- och serumprover får endast användas för kvantitativa resultat. Plasma- eller serumprover får ej spädas för diagnostiska resultat.*

**Obs!** *Om ett prov späds ut måste det analyseras omedelbart efter spädningen. Frys inte ett utspätt prov.*

## Prover i Panther System

Prover kan lämnas kvar i Panther System utan lock i upp till 8 timmar. Prover kan tas ut från Panther System och analyseras så länge den totala tiden i instrumentet inte överstiger 8 timmar före pipettering av provet i Panther System.

## Transport av prover

Se till att följa de provförvaringsförhållanden som beskrivs i *Provtagning och provförvaring*.

**Obs!** *Prover måste fraktas i enlighet med tillämpliga nationella, internationella och regionala transportbestämmelser.*

## Panther System

Reagens för Aptima HCV Quant Dx Assay anges nedan för Panther System. Symboler för identifiering av reagens anges även bredvid respektive reagensnamn.

### Medföljande reagens och material

**Obs!** Information om risker och skyddsangivelser som kan vara relevanta för reagens finns i Safety Data Sheet Library (bibliotek med säkerhetsdatablad) på [www.hologic.com/sds](http://www.hologic.com/sds).

**Aptima HCV Quant Dx Assay-sats**, 100 tester, artikelnummer PRD-03506

(1 analysbox, 1 kalibratorsats och 1 kontrollsats)

Ytterligare kalibrаторer och kontroller kan beställas separat. Se respektive artikelnummer nedan.

#### Box med Aptima HCV Quant Dx Assay

(förvaras i 2 till 8 °C efter leverans)

Symbol	Komponent	Antal
<b>A</b>	<b>qHCV amplifieringsreagens</b> <i>Icke-smittförande nukleinsyror torkade i buffrad lösning.</i>	1 ampull
<b>E</b>	<b>qHCV enzymreagens</b> <i>Reverse transcriptase och RNA-polymeras som torkats i HEPES-buffrad lösning.</i>	1 ampull
<b>PRO</b>	<b>qHCV promotorreagens</b> <i>Icke-smittförande nukleinsyror torkade i buffrad lösning.</i>	1 ampull
<b>AR</b>	<b>qHCV amplifieringsrekonstitutionslösning</b> <i>Vattenlösning innehållande glycerol och konserveringsmedel.</i>	1 x 7,2 ml
<b>ER</b>	<b>qHCV enzymrekonstitutionslösning</b> <i>HEPES-buffrad lösning innehållande ett ytaktivt ämne och glycerol.</i>	1 x 5,8 ml
<b>PROR</b>	<b>qHCV promotorrekonstitutionslösning</b> <i>Vattenlösning innehållande glycerol och konserveringsmedel.</i>	1 x 4,5 ml
<b>TCR</b>	<b>qHCV Target Capture-reagens</b> <i>Nukleinsyror i buffrad saltlösning innehållande icke smittförande nukleinsyror i fast fas samt en intern kalibrator.</i>	1 x 72,0 ml
	<b>Rekonstitutionskragar</b>	3
	<b>Strekkodsblad för huvudlot</b>	1 blad

#### Aptima HCV Quant Dx kalibratorsats (artikelnummer PRD-03507)

(förvaras i -15 till -35 °C efter leverans)

Symbol	Komponent	Antal
<b>PCAL</b>	<b>qHCV Positiv kalibrator</b> <i>Transkript i buffrad lösning.</i>	5 x 2,5 ml
	<b>Strekkodsetikett för kalibrator</b>	—

**Aptima HCV Quant Dx kontrollsats** (artikelnummer PRD-03508)  
(förvaras i -15 till -35 °C efter leverans)

Symbol	Komponent	Antal
NC	<b>qHCV Negativ kontroll</b> <i>HCV-negativ defibrinerad human plasma innehållande gentamicin och 0,2 % natriumazid som konserveringsmedel.</i>	5 x 0,8 ml
LPC	<b>qHCV Låg positiv kontroll</b> <i>Ej smittförande HCV Armored RNA i defibrinerad human plasma innehållande gentamicin och 0,2 % natriumazid som konserveringsmedel.</i>	5 x 0,8 ml
HPC	<b>qHCV Hög positiv kontroll</b> <i>Ej smittförande HCV Armored RNA i defibrinerad human plasma innehållande gentamicin och 0,2 % natriumazid som konserveringsmedel.</i>	5 x 0,8 ml
	<b>Strekkodsetikett för kod</b>	—

## Nödvändiga material som införskaffas separat

**Obs!** Material som finns tillgängliga hos Hologic anges med respektive artikelnummer om inget annat anges.

Material	Artikelnummer
Panther System	—
Panther Run Kit for Real Time Assays (endast för realtidsassayer)	PRD-03455 (5 000 analyser)
<i>Aptima Assay Fluids Kit (även känd som Universal Fluids Kit) innehåller Aptima tvättlösning, Aptima-buffert för inaktiveringsvätska och Aptima oljereagens</i>	303014 (1 000 analyser)
<i>Multi-tube units (MTU)</i>	104772-02
<i>Panther Waste Bag Kit</i>	902731
<i>Panther Waste Bin Cover</i>	504405
Eller, Panther System Run Kit <i>(vid körning av TMA-assayer som inte utförs i realtid, parallellt med TMA- assayer i realtid) innehåller MTU-enheter, avfallspåsar, lock till avfallsbehållare samt analysvätskor</i>	303096 (5 000 analyser)
Spetsar, 1 000 µl, konduktiva, vätskeavkännande	10612513 (Tecan)
5 till 7 % (0,7 till 1,0 M) natriumhypokloritlösning	—
Puderfria engångshandskar	—
Ogenomträngliga utbyteslock	103036A
Utbyteslock till reagens	
<i>Rekonstitutionsflaskor för amplifierings-, enzym- och promotorreagens</i>	CL0041 (100 lock)
<i>TCR-flaska</i>	CL0040 (100 lock)
Plastade överdrag för laboratoriebank	—
Luddfria dukar	—
Pipett	—
Spetsar	—
Alternativ för primära provtagningsrör:	
<i>13 mm x 100 mm</i>	—
<i>13 mm x 75 mm</i>	—
<i>16 mm x 100 mm</i>	—
Centrifug	—
Vortexblandare	—

## Valfri materiel

Material	Artikelnummer
Alternativ för sekundära rör:	
12 mm x 75 mm	—
13 mm x 100 mm	—
16 mm x 100 mm	—
Aptima-provalikvotrör (SAT) (100-pack)	503762
Lock till transportrör (100-pack)	504415
Lock till SAT-rör	
Aptima Specimen Diluent	PRD-03003
Aptima Specimen Diluent Kit	PRD-03478
<i>innehåller provspädningsmedel, 100 SAT-rör och 100 lock</i>	
Överföringspipetter	—
Kommersiellt tillgängliga paneler, till exempel:	—
<i>HCV från Quality Control for Molecular Diagnostics (QCMD) eller</i>	
<i>SeraCare ACCURUN HCV-paneler</i>	
Provpinnar med bomullstopp	—
Provrörsvagga	—

## Analysmetod för Panther System

**Obs!** Se användarhandledningen för Panther System för ytterligare information om förfaranden.

## A. Förbereda arbetsytan

1. Rengör arbetsytan där reagens ska beredas. Torka av arbetsytorna med 2,5 till 3,5 % (0,35 till 0,5 M) natriumhypokloritlösning. Låt natriumhypokloritlösningen verka minst en minut på arbetsytorna och skölj sedan med avjoniserat vatten. Låt inte natriumhypokloritlösningen torka. Täck bänkytan med rena och absorberande skyddspapper för laboratoriebank med plastad baksida.
2. Rengör en separat bänkyta för beredning av prover. Följ proceduren som beskrivs ovan (steg A.1).
3. Rengör eventuella pipetter. Använd rengöringsproceduren som beskrivs ovan (steg A.1).

## B. Bereda kalibrator och kontroller

Låt kalibratoren och kontrollerna nå 15 till 30 °C före bearbetning enligt följande:

1. Ta ut kalibratoren och kontrollerna från förvaringen (-15 till -35 °C) och placera dem i en temperatur på 15 till 30 °C. Vänd försiktigt på varje rör under upptiningsproceduren så att innehållet blandas ordentligt. Kontrollera att provrörsinnehållet är helt upptinat före användning.

**Alternativ:** Kalibrator- och kontrollrören kan placeras på en provrörsvagga så att innehållet blandas ordentligt. Kontrollera att provrörsinnehållet är helt upptinat före användning.

**Obs!** Undvik överdriven skumbildning när du vänder på kalibratoren och kontrollerna. Skummet försämrar nivåavkänningsfunktionen i Panther System.

2. När rörsinnehållet har tinat upp torkar du rörets utsida med en ren och torr engångsduk.
3. Öppna inte rören i det här stadiet eftersom det kan leda till förorening av innehållet.

## C. Rekonstituera reagens/bereda en ny sats

**Obs!** Innan du börjar arbeta med Panther System ska reagensen rekonstitueras.

## 1. Så här bereder du Target Capture-reagens (TCR):

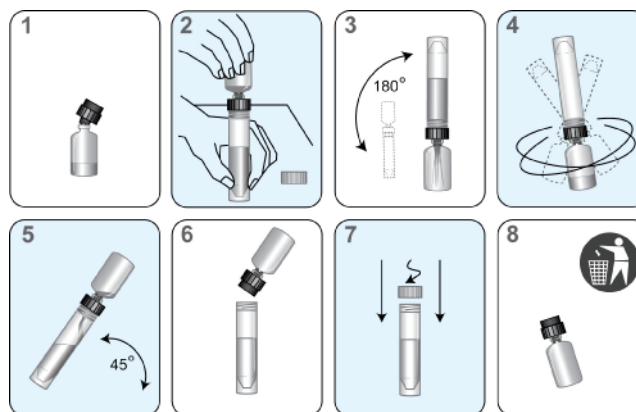
- a. Ta ut Target Capture-reagenset från förvaringen (2 till 8 °C). Kontrollera att satsnumret på flaskan med Target Capture-reagens motsvarar satsnumret på huvudlotens streckkodsblad.
- b. Skaka omedelbart flaskan med Target Capture-reagens kraftigt 10 gånger. Låt flaskan med Target Capture-reagens stå i 15 till 30 °C så att den värms upp i minst 45 minuter. Snurra och vänd på flaskan med Target Capture-reagens minst var 10:e minut.

**Alternativ:** Flaskan med Target Capture-reagens kan förberedas på en provrörsvagga enligt följande: Ta ut Target Capture-reagenset från förvaringen (2 till 8 °C) och skaka det omedelbart 10 gånger kraftigt. Placera flaskan med Target Capture-reagens på en provrörsvagga och låt reagenset värmas upp i minst 45 minuter i 15 till 30 °C.

- c. Kontrollera att alla utfällningar har lösts upp och att magnetpartiklarna har suspenderats före användning.
2. Så här rekonstituerar du amplifierings-, enzym- och promotorreagens:
- a. Ta ut frystorkade reagens och motsvarande rekonstitutionslösningar från förvaring (2 till 8 °C). Para ihop varje rekonstitutionslösning med respektive frystorkat reagens.
  - b. Se till att rekonstitutionslösningen och det frystorkade reagenset har matchande etikettfärger. Kontrollera partinumret på huvudlotens streckkodsblad så att korrekta reagens paras ihop.
    - i. Öppna den frystorkade reagensampullen genom att ta bort metalltätningen och gummistoppet.
    - ii. För bestämt in den skårade änden av rekonstitutionskragen (svart) på ampullen (Figur 5, steg 1).
    - iii. Öppna motsvarande flaska med rekonstitutionslösning och lägg locket på en ren, täckt arbetsyta.
    - iv. Placera flaskan med rekonstitutionslösning på en stabil yta (till exempel bänken). Vänd sedan den ampullen med frystorkat reagens över rekonstitutionslösningsflaskan och anslut kragen ordentligt till rekonstitutionslösningsflaskan (Figur 5, steg 2).
    - v. Vänd försiktigt på de hopmonterade flaskorna (ampull ansluten till flaskan med lösning) igen så att lösningen rinner tillbaka in i glasampullen (Figur 5, steg 3).
    - vi. Plocka upp de hopmonterade flaskorna och snurra dem i minst 10 sekunder (Figur 5, steg 4).
    - vii. Vänta i minst 30 minuter tills det frystorkade reagenset har lösts upp i lösningen.
    - viii. När det frystorkade reagenset har lösts upp i lösningen virvlar du de hopmonterade flaskorna i minst 10 sekunder och vaggar sedan lösningen i glasampullen fram och tillbaka så att den blandas ordentligt.
  - c. Luta långsamt de hopmonterade flaskorna på nytt så att all lösning rinner tillbaka in i flaskan med rekonstitutionslösning (Figur 5, steg 5).
  - d. Ta försiktigt bort rekonstitutionskragen och glasampullen (Figur 5, steg 6).

- e. Sätt tillbaka locket på flaskan. Notera operatörens initialer och rekonstitutionsdatum på etiketten (Figur 5, steg 7).
- f. Kassera rekonstitutionskragen och glasampullen (Figur 5, steg 8).

**Varning:** Undvik överdriven skumbildning när du rekonstituerar reagens. Skummet försämrar nivåavkänningsfunktionen i Panther System.



**Figur 5. Rekonstituering av reagens**

#### D. Reagensförberedelse av tidigare beredda reagens

1. Ta ut tidigare beredda reagens från förvaringen (2 till 8 °C).
2. Tidigare beredda amplifierings-, enzym- och promotorreagens samt Target Capture-reagens måste nå 15 till 30 °C innan analysen påbörjas.
3. För tidigare berett Target Capture-reagens utför du steg C.1 ovan före laddning i systemet.
4. Virvla och vänd på amplifierings-, enzym- och promotorreagensen så att de blandas ordentligt innan de laddas i systemet. Undvik överdriven skumbildning när du vänder på reagens.
5. Toppfyll inte reagensflaskor. Panther System känner av och avvisar flaskor som är toppfyllda.

#### E. Provhantering

1. Se till att behandlade prover i primära rör eller utspädda prover i sekundära rör har förvarats korrekt enligt "Provtagning och provförvaring" på sida 7.
2. Frysta prover måste tinas upp ordentligt. Vortexblanda de tinade proverna i 3 till 5 sekunder så att de blandas ordentligt.
3. Låt proverna nå 15 till 30 °C före bearbetning. Se *Prover i Panther System* för ytterligare information om hantering av prover i instrumentet.
4. Se till att varje primärt provtagningsrör innehåller upp till 1200 µl provmaterial eller att varje provalikvotrör innehåller minst 700 µl provmaterial. Se tabellen i *Provtagning* på sida 7 för att identifiera dödvolymskrav för varje primär och sekundär rörtyper. Om det är nödvändigt med provutspädning, se steg E.6 nedan för ytterligare information.
5. Alla prover ska centrifugeras i 1 000 till 3 000g i 10 minuter innan de laddas i provstället. Ta inte av locket. Bubblor i provrören kan försämrare nivåavkänningsfunktionen i Panther-systemet.

Se *Systemförberedelse*, steg F.2 nedan för information om laddning av ställ och borttagning av lock.

6. Späd ut plasma- eller serumprov 1:3 i ett provalikvotrör eller 1:100 i ett sekundärt rör.



Ett provmaterial kan spädas ut i ett sekundärt rör för analys i Panther-systemet.

- ⚠ Utspädning av prover får endast användas i kvantifieringssyfte. Prover får ej spädas ut i diagnostiskt syfte.

**Obs!** Om ett prov späds ut måste det analyseras omedelbart efter spädningen.

a. Späda ut prover med låg volym

Provvolymer kan ökas till den erforderliga minimivolymer (700 µl) med hjälp av Aptima Specimen Diluent. Prover bestående av minst 240 µl kan spädas ut med två delar provspädningsmedel (1:3) enligt följande:

- i. Placera 240 µl provämne i SAT.
- ii. Tillsätt 480 µl Aptima provspädningsmedel.
- iii. Sätt lock på röret.
- iv. Vänd försiktigt 5 gånger för att blanda.

Prov som späds ut med förhållandet 1:3 kan analyseras med alternativet 1:3 på Panther System (se *användarhandledningen för Panther System* för mer information). Programvaran rapporterar automatiskt det rena resultatet genom att tillämpa spädningsfaktorn. Dessa prover flaggas som utspädda prover.

b. Utspädning av prover med högre titrer

Om ett provresultat befinner sig ovanför den övre kvantifieringsgränsen kan det spädas ut med 99 delar Aptima Specimen Diluent (1:100) enligt följande:

- i. Placera 30 µl provmaterial i provalikvotröret eller i ett sekundärt rör.
- ii. Tillsätt 2970 µl Aptima provspädningsmedel.
- iii. Sätt lock på röret.
- iv. Vänd försiktigt 5 gånger för att blanda.

Prov som späds ut med förhållandet 1:100 kan analyseras med alternativet 1:100 på Panther System (se *användarhandledningen för Panther System* för mer information). Programvaran rapporterar automatiskt det rena resultatet genom att tillämpa spädningsfaktorn. Dessa prover flaggas som utspädda prover.

**Obs!** För utspädda prover med rena koncentrationer högre än övre kvantifieringsgränsen kommer resultaten att rapporteras med hjälp av vetenskaplig notering.

F. Systemförberedelse

1. Konfigurera systemet enligt anvisningarna i *användarhandledningen för Panther System* och *Metodanmärkingar*. Se till att använda reagensställ och TCR-adaptrar av lämplig storlek.
2. Ladda proverna i provstället. Utför följande steg för varje provrör (prov, och, om nödvändigt, kalibrator och kontroller):
  - a. Lossa på ett av provrörslocken, men ta inte bort det ännu.

**Obs!** Var särskilt noga med att undvika förorening genom spridning av aerosoler. Lossa försiktigt locken på proverna.
  - b. Ladda provröret i provstället.
  - c. Upprepa steg 2.a och 2.b för varje återstående prov.

- d. När proverna har laddats i provstället tar du bort och kasserar varje provrörslock i ett provställ. Håll inte lock ovanför andra provställ eller provrör eftersom det kan leda till föroreningar.
- e. Använd om så krävs en ny överföringspipett för engångsbruk för att avlägsna eventuella bubblor eller skum.
- f. När det sista locket har tagits bort laddar du provstället i ett provfack.  
**Obs! Om du kör andra analyser och provtyper samtidigt måste du säkra provhållaren innan provstället laddas i ett provfack.**
- g. Upprepa steg 2.a till 2.f med nästa provställ.

## Metodanmärkningar

### A. Kalibrator och kontroller

1. Rören för qHCV positiv kalibrator, qHCV låg positiv kontroll, qHCV hög positiv kontroll och qHCV negativ kontroll kan laddas i alla positioner i provstället och i alla provfackbanor i Panther System. Provpipettering inleds när ett av följande två villkor är uppfyllt:
  - a. Systemet bearbetar kalibratoren och kontrollerna.
  - b. Systemet registrerar giltiga resultat för kalibratoren och kontrollerna.
2. När kalibrator- och kontrollrören har pipetterats och behandlas för Aptima HCV Quant Dx-assayreagenssats kan proverna testas med motsvarande rekonstituerad sats i upp till 24 timmar, **såvida inte:**
  - a. kalibrator- eller kontrollresultaten är ogiltiga,
  - b. den tillhörande assayreagensloten avlägsnas från systemet,
  - c. tillhörande assayreagenslot har passerat stabilitetsgränsen.
3. Kalibratoren och varje kontrollrör kan användas en gång. Om du försöker att använda röret mer än en gång kan bearbetningsfel uppstå.

### B. Handskpuder

Precis som i alla reagenssystem kan stora mängder puder på vissa handskar orsaka föroreningar i öppna rör. Puderfria handskar rekommenderas.

## **Kvalitetskontroll**

Körningar eller provresultat kan ogiltigförklaras av en operatör om tekniska, operativa eller instrumentrelaterade problem observeras och dokumenteras i samband med analysen. I så fall måste proverna analyseras på nytt.

### **Analyskalibrering**

För att få fram giltiga resultat måste en analyskalibrering utföras. En enskild positiv kalibrator körs i tre replikat varje gång en reagenslot laddas i Panther System. En utförd kalibrering gäller i upp till 24 timmar. Programvaran i Panther System meddelar operatören när en kalibrering krävs. Operatören skannar en kalibreringskoefficient som finns på streckkodsbladet för huvudloten som medföljer alla reagensloter.

Under bearbetningen verifierar Panther System-programvaran automatiskt acceptanskriterier för kalibreringen. Om färre än två kalibratorreplikater är giltiga ogiltigförklaras körningen automatiskt av programvaran. Prover i ogiltigförklarade körningar måste analyseras på nytt med hjälp av nyberedda kalibratorer och kontroller.

### **Negativa och positiva kontroller**

För att kunna erhålla giltiga resultat måste en uppsättning analyskontroller analyseras. Ett replikat av den negativa kontrollen, den låga positiva kontrollen och den höga positiva kontrollen måste analyseras varje gång en reagenslot laddas i Panther System. En utförd kontroll gäller i upp till 24 timmar. Programvaran i Panther System meddelar operatören när kontroller krävs.

Under bearbetningen verifierar Panther System-programvaran automatiskt acceptanskriterier för kontrollerna. För att generera giltiga resultat måste den negativa kontrollen ge resultatet "Ej detekterat" och de positiva kontrollerna måste ge resultat inom på förhand definierade parametrar. Om någon av kontrollerna ger ett ogiltigt resultat kommer programvaran automatiskt att ogiltigförklara körningen. Prover i ogiltigförklarade körningar måste analyseras på nytt med hjälp av nyberedda kalibratorer och kontroller.

### **Inre kalibrator/inre kontroll**

Varje prov innehåller en inre kalibrator/inre kontroll (IC). Under bearbetningen verifierar Panther System-programvaran automatiskt acceptanskriterier för IC. Om ett IC-resultat är ogiltigt blir även provresultatet ogiltigförklarat. Alla prover med ogiltiga IC-resultat måste analyseras på nytt för att ett giltigt resultat ska kunna erhållas.

Panther System-programvaran är konstruerad för exakt verifiering av processer då procedurerna utförs i enlighet med anvisningarna i den här bipacksedeln och *användarhandledningen för Panther System*.

## Tolkning av resultat

Panther System fastställer automatiskt koncentrationen av HCV RNA för prover och kontroller genom att jämföra resultaten med en kalibreringskurva. HCV RNA-koncentrationer rapporteras i IU/ml och  $\log_{10}$  IU/ml. Tolkningen av resultaten ges i Tabell 1. Om spädningen på 1:3 eller 1:100 används för utspädda prover beräknar Panther System automatiskt HCV-koncentrationen för det rena provet genom att multiplicera den utspädda koncentrationen med spädningsfaktorn och utspädda prover flaggas som utspädda.

**Obs!** Med utspädda prover kan resultat listade som "Ej detekterat" eller "< 10 detekterat" komma att genereras vid utspädning av ett prov med en koncentration över men i närheten av LOD eller LLOQ (detekteringsgräns eller nedre kvantifieringsgräns). Du rekommenderas ta och analysera ytterligare ett rent prov om ett kvantitativt resultat inte erhålls.

Panther System ger inte ett kvalitativt resultat (till exempel "Reaktivt" eller "Ej reaktivt" för diagnostiska ändamål. Operatören måste därför tolka den rapporterade HCV RNA-koncentrationen till ett kvalitativt resultat (Tabell 1). Prover vars resultat listas som "Ej detekterat" är icke-reaktiva för HCV RNA. Prover vars resultat listas som "< 10 detekterat" och inom det linjära intervallet samt > 100 000 000 (den övre kvantifieringsgränsen) indikerar att HCV RNA har detekterats och att proverna är reaktiva för HCV RNA.

Tabell 1: Tolkning av resultatet

Rapporterat Aptima HCV Quant Dx Assay-resultat		Tolkning av HCV RNA-koncentration	Användarens diagnostiskt-kvalitativa tolkning <sup>a</sup>
IU/ml	Log <sub>10</sub> -värde <sup>b</sup>		
Ej detekterat	Ej detekterat	HCV RNA ej detekterat.	Icke-reaktivt för HCV RNA
< 10 detekterat	< 1,00	HCV RNA har detekterats, men på en nivå under den nedre kvantifieringsgränsen (Lower Limit of Quantitation, LLOQ).	Reaktivt för HCV RNA
10 till 100 000 000	1,00 till 8,00	HCV RNA-koncentrationen är inom det linjära intervallet på 10 till 100 000 000 IU/ml.	Reaktivt för HCV RNA
> 100 000 000	> 8,00	HCV RNA-koncentrationen ligger över den övre kvantifieringsgränsen (Upper Limit of Quantitation, ULOQ).	Reaktivt för HCV RNA
Ogiltigt <sup>c</sup>	Ogiltigt <sup>c</sup>	Det uppstod ett fel när resultatet genererades. Provet bör analyseras på nytt.	Ogiltigt

<sup>a</sup> En diagnostisk tolkning kan göras från utspädda serum- eller plasmaprover.

<sup>b</sup> Värdet trunckeras till två decimaler.

<sup>c</sup> Ogiltiga resultat visas med blå text.

## Begränsningar

- Den här analysen får endast utföras av personal med utbildning i proceduren. Om anvisningarna i bipacksedeln inte följs finns det risk för felaktiga resultat.
- Pålitliga resultat förutsätter att proverna samlas in, transporteras, förvaras och bearbetas på ett korrekt sätt.

**Egenskaper****Detekteringsgräns (Limit of Detection, LOD) vid användning av WHO:s andra internationella standard**

Detekteringsgränsen för analysen definieras som den HCV RNA-koncentration som detekteras vid en sannolikhet på 95 % eller högre, i enlighet med CLSI EP17-A2.<sup>19</sup>

Detekteringsgränsen har fastställts genom analys av paneler utifrån WHO:s andra internationella standard för hepatit C-virus RNA (NIBSC 96/798 genotyp 1) utspädd i HCV-negativ human plasma och serum. Minst 36 replikat av varje utspädning testades med var och en av tre reagensloter för minst 108 replikat per utspädning. En probit-analys utfördes i syfte att generera förväntade detekteringsgränser. Detekteringsgränsvärdena som visas i Tabell 2 utgör resultaten från reagensloten med den övre förväntade detekteringsgränsen. Detekteringsgränsen för Aptima HCV Quant Dx Assay med användning av WHO:s 2.a internationella standard är 4,3 IU/ml för plasma och 3,9 IU/ml för serum.

Tabell 2: Detekteringsgräns vid användning av WHO:s andra internationella standard

Förväntad detekteringsgräns	Koncentration (IU/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

## Detekteringsgräns för HCV-genotyper

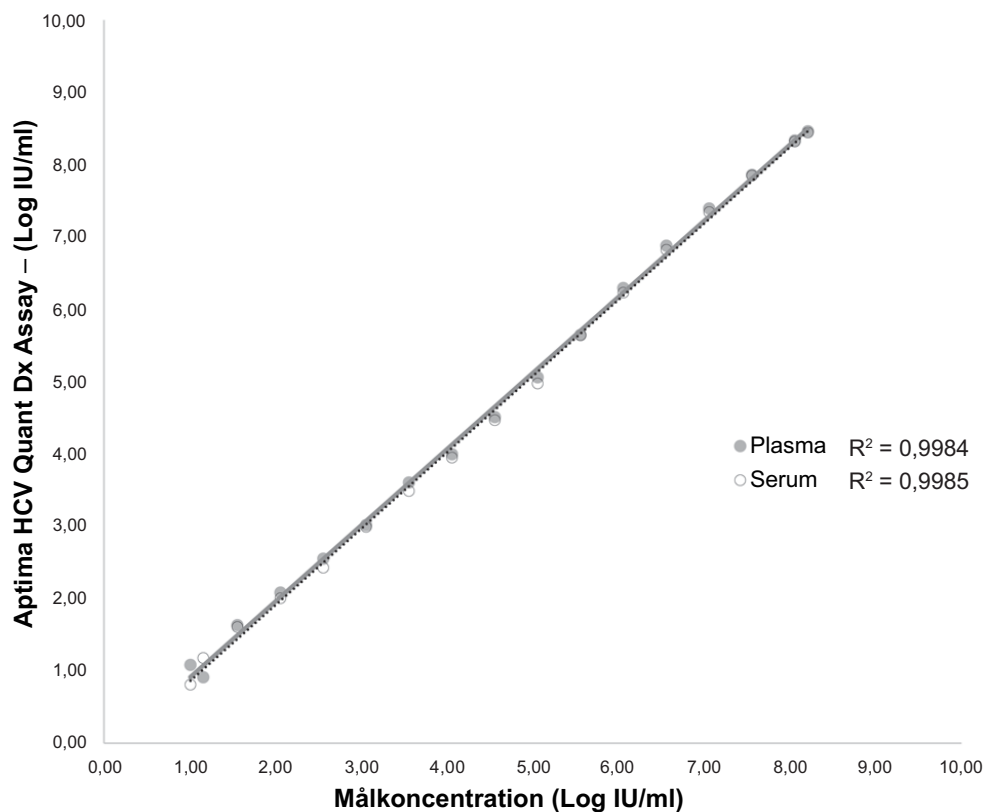
Detekteringsgränsen fastställdes genom analys av spädningar av HCV-positiva kliniska prover för genotyperna 1, 2, 3, 4, 5 och 6 i HCV-negativ human plasma och serum. Koncentrationerna fastställdes med hjälp av en CE-märkt jämförelseanalys. Minst 20 replikat av varje panelmedlem testades med tre reagensloter var för sig, för minst 60 replikat per panelmedlem. En probit-analys utfördes i syfte att generera förväntade detekteringsgränser på 50 % och 95 %. Detekteringsgränsvärdena som visas i Tabell 3 utgör resultaten från reagensloten med den övre förväntade detekteringsgränsen.

Tabell 3: Detekteringsgräns för HCV-genotyper med användning av kliniska prover

Genotyp	Förväntad detekteringsgräns	Koncentration (IU/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

## Linjärt intervall

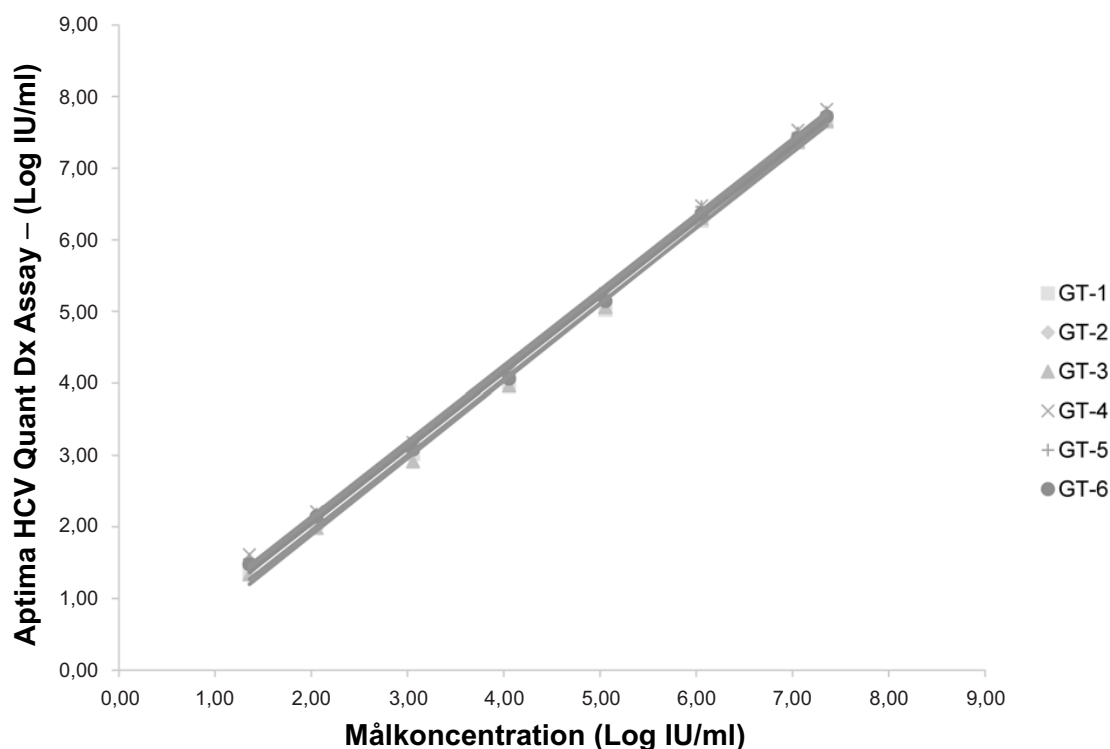
Det linjära intervallet fastställdes genom analys av HCV Armored RNA-paneler utspädda i HCV-negativ human plasma och serum enligt CLSI EP06-A.<sup>20</sup> Panelernas koncentration sträckte sig från 1,0 log IU/ml till 8,2 log IU/ml. Aptima HCV Quant Dx Assay uppvisade linjäritet över hela analysintervallet, med en övre kvantifieringsgräns (ULOQ) på 8,0 log IU/ml enligt Figur 6.



**Figur 6. Linjäritet i plasma och serum**

## Linjäritet i HCV-genotyper

Den linjära responsen för genotyperna 1, 2, 3, 4, 5 och 6 bekräftades genom analys av paneler med HCV-transkript utspädda i buffer vid koncentrationer från 1,36 log IU/ml till 7,36 log IU/ml. Analyserna utfördes på tre Panther-system med hjälp av tre reagensloter. Linjäritet påvisades i det analyserade intervallet för alla analyserade genotyper, som visas i Figur 7.



Figur 7. Linjäritet i HCV-genotyper 1 till 6

## Nedre kvantifieringsgräns enligt WHO:s andra internationella standard

Den nedre kvantifieringsgränsen definieras som den lägsta koncentration vid vilken HCV RNA är tillförlitligt kvantifierat inom ett totalfel – enligt CLSI EP17-A2.<sup>19</sup> Totalfel uppskattades med två metoder: Totalt analytiskt fel (Total Analytical Error, TAE) = |bias| + 2SD, och totalfel (Total Error, TE) = SQRT(2) x 2SD. För att garantera mätningarnas exakthet och precision bestämdes totalfelmarginalen för Aptima HCV Quant Dx Assay till 1 log IU/ml (det vill säga att vid den nedre kvantifieringsgränsen är skillnaden mellan två mätningar av mer än 1 log IU/ml statistiskt signifikant).



Den nedre kvantifieringsgränsen fastställdes genom analys av paneler utifrån WHO:s andra internationella standard för hepatitis C-virus RNA (NIBSC 96/798 genotyp 1) som har späts ut i HCV-negativ human plasma och serum. Minst 36 replikat av varje utspädning testades med var och en av tre reagensloter för minst 108 replikat per utspädning. Resultaten från reagensloten med den högsta koncentration som är lika med eller större än detekteringsgränsen och uppfyller TE- och TAE-kraven enligt Tabell 4 för plasma och Tabell 5 för serum. Den nedre kvantifieringsgränsen för WHO:s andra internationella standard är 7 IU/ml (0,82 log IU/ml) för plasma och 9 IU/ml (0,93 log IU/ml) för serum, enligt sammanfattningen i Tabell 6. Den nedre kvantifieringsgränsen fastställdes i genotyper (se nästa avsnitt – ”Bestämning av nedre kvantifieringsgräns (LLOQ) i HCV-genotyper”). Dessa genotypdata bestämmer den övergripande nedre kvantifieringsgränsen (LLOQ) för analysen till 10 IU/ml.

Tabell 4: Nedre kvantifieringsgräns vid användning av WHO:s andra internationella standard för HCV utspädd i plasma

Reagenslot	Målkoncentration	Målkoncentration	Aptima HCV Quant Dx	SD	Bias	Beräknat TE	Beräknat TAE
	(IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/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 = standardavvikelser

Tabell 5: Nedre kvantifieringsgräns (LLOQ) vid användning av WHO:s andra internationella standard för HCV utspädd i serum

Reagenslot	Målkoncentration	Målkoncentration	Aptima HCV Quant Dx	SD	Bias	Beräknat TE	Beräknat TAE
	(IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/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 = standardavvikelser

Tabell 6: Sammanfattning av nedre kvantifieringsgräns (LLOQ) vid användning av WHO:s andra internationella standard för HCV

Reagenslot	Nedre kvantifieringsgräns för plasma		Nedre kvantifieringsgräns för serum	
	(log IU/ml)	(IU/ml)	(log IU/ml)	(IU/ml)
1	0,73	5	0,93	9
2	0,82	7	0,89	8
3	0,76	6	0,71	5

### Bestämning av nedre kvantifieringsgräns (LLOQ) i HCV-genotyper

Den nedre kvantifieringsgränsen fastställdes genom analys av spädningar av HCV-positiva kliniska prover för genotyperna 1, 2, 3, 4, 5 och 6 i HCV-negativ human plasma och serum. Tilldelning av koncentration för kliniska prover fastställdes med hjälp av en CE-märkt jämförelseanalys. Minst 36 replikat av varje panelmedlem testades med tre reagensloter var för sig, för minst 108 replikat per panelmedlem. Resultaten från reagensloten med den högsta koncentration som är lika med eller större än detekteringsgränsen och uppfyller TE- och TAE-kraven visas i Tabell 7 för plasma och Tabell 8 för serum. Den nedre kvantifieringsgränsen för genotyperna 1 till 6 i plasma och serum sammanfattas i Tabell 9. Den övergripande nedre kvantifieringsgränsen (LLOQ) för analysen bestämdes till 10 IU/ml.

Tabell 7: Bestämning av nedre kvantifieringsgräns i genotyper i plasma

Genotyp	Målkoncentration	Målkoncentration	Aptima HCV Quant Dx	SD	Bias	Beräknat TE	Beräknat TAE
	(IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/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 = standardavvikelse

Tabell 8: Bestämning av nedre kvantifieringsgräns i genotyper i serum

Genotyp	Målkoncentration	Målkoncentration	Aptima HCV Quant Dx	SD	Bias	Beräknat TE	Beräknat TAE
	(IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/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 = standardavvikelser

Tabell 9: Sammanfattning av nedre kvantifieringsgräns i genotyper i plasma och serum

HCV-genotyp	Nedre kvantifieringsgräns för plasma		Nedre kvantifieringsgräns för serum	
	(log IU/ml)	(IU/ml)	(log IU/ml)	(IU/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

## Precision

För att bedöma precisionen skapades en panel med 10 medlemmar genom att späda ut HCV-positiva kliniska prover eller tillsats av Armored RNA i HCV-negativ plasma och serum. Panelen testades av tre operatörer som använde tre reagensloter på tre Panther-system under 21 dagar.

Tabell 10 visar analysresultatens precision (i log IU/ml) mellan instrument, mellan operatörer, mellan satser, mellan körningar, inom körningar, och totalt. Total variabilitet var  $\leq 13,31$  % för alla panelmedlemmar, primärt på grund av variabilitet inom körningar (det vill säga slumpfel).

Tabell 10: Precision för Aptima HCV Quant Dx Assay

Matris	N	Medelkoncentration (log IU/ml)	Mellan instrument		Mellan operatörer		Mellan batcher		Mellan körningar		Inom körning		Totalt	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Plasma	98 <sup>a</sup>	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 <sup>a</sup>	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 = variationskoefficient, SD = standardavvikelse

<sup>a</sup> Antal giltiga resultat inom analysens linjära intervall.

**Obs!** Variabiliteten för vissa faktorer kan vara numeriskt negativ, vilket kan inträffa om variabiliteten på grund av dessa faktorer är mycket liten. När detta sker visas SD och CV som 0.

## Potentiellt interfererande substanser

Aptima HCV Quant Dx Assays känslighet för interferens från förhöjda nivåer av endogenasubstanser och läkemedel som ofta ordineras till personer som är infekterade med HCV utvärderades. HCV-negativa plasmaprover och prover med HCV-tillsats till en koncentration av 3,3 log IU/ml HCV RNA testades.

Ingen interferens observerades gällande resultaten för analysen i närvaro av albumin (90 mg/ml), hemoglobin (5 mg/ml), triglycerider (30 mg/ml) eller okonjugerat bilirubin (0,2 mg/ml).

Kliniska plasmaprover från patienter med förhöjda nivåer av definierade substanser eller från patienter med de sjukdomar som anges i Tabell 11 analyserades med Aptima HCV Quant Dx Assay. Ingen interferens observerades gällande analysens resultat.

Tabell 11: Kliniska provtyper som testats

<b>Kliniska provtyper</b>	
1	Reumatoid faktor (RF)
2	Antinukleär antikropp (ANA)
3	Anti-Jo-1-antikropp (JO-1)
4	Systemisk lupus erythematosus (SLE)
5	Ledgångsreumatism (RA)
6	Multipel skleros (MS)
7	Hyperglobulinemi
8	Förhöjd alaninaminotransferas (ALT)
9	Förhöjd aspartataminotransferas (AST)
10	Alkoholcirros (AC)
11	Multipelt myelom (MM)
12	Lipemiska (förhöjda lipidnivåer)
13	Ikteriska (förhöjda bilirubinnivåer)
14	Hemolyserade (förhöjda hemoglobinnivåer)
15	Förhöjt proteinalbumin
16	HBV-antikroppar
17	HIV-1-antikroppar
18	HIV-2-antikroppar

Ingen interferens observerades gällande resultaten för analysen i närvaro av de exogena substanser som anges i Tabell 12 vid koncentrationer på minst tre gånger  $C_{max}$  (human plasma).

Tabell 12: Exogena ämnen

Exogen substanspool	Analyserade exogena substanser
1	Telaprevir, claritromycin, interferon alfa-2a, dolutegravir, azitromycin
2	Simeprevir, sofosbuvir
3	Efavirenz, boceprevir, pegylerad alfa-interferon-2b, emtricitabin, raltegravir, amoxicillin
4	Abacavir sulfat, ribavirin, dasabuvir, rilpivirin, rifampin/rifampicin
5	Lopinavir, tenofovir, lamivudin, valganciclovir
6	Heparin, EDTA, natriumcitrat

## Specificitet

Specificiteten fastställdes med hjälp av 198 färsk och 538 frysta HCV-negativa kliniska prover. Totalt analyserade 370 plasmaprover och 366 serumprover. Specificiteten beräknades som procentandelen HCV-negativa prover med resultatet "Ej detekterat". HCV RNA detekterades inte i samtliga 736 prover. Specificiteten var 100 % (736/736, 95 % CI: 99,6 -100 %).

Tabell 13: Specificitet i kliniska plasma- och serumprover

	Färsk plasma	Fryst plasma	Plasma totalt	Färskt serum	Fryst serum	Serum totalt	Kombinerat
Giltiga replikat (n)	100	270	370	98	268	366	736
Ej detekterat	100	270	370	98	268	366	736
<b>Specificitet (95 % CI)</b>	100 % (97,1 till 100)	100 % (98,9 till 100)	100 % (99,2 till 100)	100 % (97,0 till 100)	100 % (98,9 till 100)	100 % (99,2 till 100)	100 % (99,6 till 100)

CI = konfidensintervall

## Analytisk specificitet

Potentiell korsreaktivitet för patogenerna i Tabell 14 utvärderades för HCV-negativ human plasma i närvaro eller frånvaro av 3,3 log IU/ml HCV. Ingen korsreaktivitet observerades. Ingen interferens observerades i närvaro av patogenerna.

Tabell 14: Patogener som har testats för analytisk specificitet

Patogen	Koncentration		Patogen	Koncentration	
Hepatit A-virus	100 000	kopior/ml	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	1 000 000	CFU/ml <sup>f</sup>
Hepatit B-virus (HBV)	100 000	IU/ml <sup>a</sup>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1 000 000	CFU/ml
Hepatit G-virus	1 470	PFU/ml <sup>b</sup>	<i>Staphylococcus aureus</i>	1 000 000	CFU/ml
HIV-1	100 000	kopior/ml	<i>Propionibacterium acnes</i>	1 000 000	CFU/ml
HIV-2	100 000	PFU/ml	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1 000 000	CFU/ml
Herpes simplex-virus 1 (HSV-1)	100 000	PFU/ml	<i>Candida albicans</i>	1 000 000	CFU/ml
Herpes simplex-virus 2 (HSV-2)	100 000	PFU/ml	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1 000 000	CFU/ml
Humant herpesvirus 6B	100 000	kopior/ml	<i>Chlamydia trachomatis</i>	1 000 000	IFU/ml <sup>g</sup>
Humant herpesvirus 8	2 667	TCID50 U/ml <sup>c</sup>	<i>Trichomonas vaginalis</i>	1 000 000	celler/ml
Humant lymfotropiskt T-cellvirus typ 1 (HTLV-1)	100 000	vp/ml <sup>d</sup>			
Humant lymfotropiskt T-cellvirus typ 2 (HTLV-2)	100 000	vp/ml			
Parvovirus B19	100 000	IU/ml			
West Nile-virus	100 000	PFU/ml			
Denguevirus 1	100 000	PFU/ml			
Denguevirus 2	100 000	PFU/ml			
Denguevirus 3	100 000	PFU/ml			
Denguevirus 4	100 000	PFU/ml			
Cytomegalovirus	100 000	PFU/ml			
Epstein-Barrvirus	100 000	kopior/ml			
Rubellavirus	100 000	PFU/ml			
Humant papillomvirus	100 000	celler/ml			
Adenovirus typ 5	100 000	TCID50 U/ml			
Influensa A-virus	100 000	TCID50 U/ml			
Japanskt encefalitvirus	Ej rel.	Ej rel.			
St. Louis-encefalitvirus	Ej rel.	Ej rel.			
Murray Valley-encefalitvirus	2 643	LD/ml <sup>e</sup>			
Gula febern-virus	100 000	celler/ml			

<sup>a</sup>IU/ml = Internationella enheter per ml

<sup>b</sup>PFU/ml = Plackbildande enheter per ml

<sup>c</sup>TCID50 U/ml = Infektiös dos i vävnadskultur, enheter per ml

<sup>d</sup>vp/ml = Viruspartiklar per ml

<sup>e</sup>LD/ml = Dödlig dos per ml

<sup>f</sup>CFU/ml = Kolonibildande enheter per ml

<sup>g</sup>IFU/ml = Inklusionsbildande enheter per ml

## Kliniska prover som innehåller andra virus än HCV

De patogener som anges i Tabell 15 utvärderades genom insamling av individuella naturligt infekterade kliniska prover. Patogenerna analyserades i närvaro eller frånvaro av 3,3 log IU/ml HCV RNA. Ingen korsreaktivitet observerades. Ingen interferens observerades.

Tabell 15: Kliniska prover som har testats för analytisk specificitet

Mikroorganism	Matris	N (givare)
HBV	serum	5
HBV	plasma	5
Denguevirus	plasma	10
Hepatit A-virus	plasma	10
HTLV-1	plasma	10
HTLV-2	plasma	10
HIV-1	plasma	10
West Nile-virus	plasma	10

## Repetierbarhet för kliniska prover

Repetierbarheten utvärderades genom analys av tre replikat av naturligt infekterad HCV-positiv plasma och kliniska serumprover. Den genomsnittliga koncentrationen och standardavvikelsen för analyserade plasma- och serumprover visas i Tabeller 16 och 17.

Tabell 16: Repeterbarhet för kliniska plasmaprover

Plasmaprovid-ID	Genomsnittlig koncentration (log IU/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

Tabell 17: Repeterbarhet för kliniska serumprover

Serumprov-ID	Genomsnittlig koncentration (log IU/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 <sup>a</sup>	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

<sup>a</sup>Resultat från två av de tre testade replikaten. Ett avvikande replikat togs bort.



### Provutspädning med provutspädningsmedel

För att bedöma återvinning av HCV RNA i prover utspädda med Aptima Specimen Diluent, användes plasma- och serumprover som sträckte sig över det linjära intervallet och var utspädda till 1:3 med Aptima Specimen Diluent. Naturligt infekterade kliniska prover och prover med tillsats av Armored RNA med koncentrationer som översteg den övre kvantifieringsgränsen spädades dessutom ut till 1:100 med Aptima Specimen Diluent. Varje prov testades både rent och utspätt (1:3 eller 1:100) i tre replikat. Skillnaderna mellan den genomsnittliga rapporterade koncentrationen (spädningsfaktor applicerad på det utspädda provresultatet) och genomsnittlig ren koncentration visas i Tabell 18 för plasma och Tabell 19 för serum. Provkoncentrationerna återvanns korrekt i de utspädda proverna.

Tabell 18: Provutspädning med Aptima Specimen Diluent – plasma

Spädning	Genomsnittlig ren koncentration (log IU/ml)	Genomsnittlig rapporterad koncentration <sup>a</sup> (log IU/ml)	Skillnad
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) <sup>b</sup>	8,38	0,07

<sup>a</sup>Rapporterad koncentration är det värde som beräknas efter det att spädningsfaktorn har tillämpats.

<sup>b</sup>Prov med tillsats.

**Obs!** Alla resultat > 8,00 log IU/ml uppskattades med hjälp av ytterligare analys.

Tabell 19: Provtuspädning med Aptima Specimen Diluent – serum

Utspänningsfaktor	Genomsnittlig ren koncentration (log IU/ml)	Genomsnittlig rapporterad koncentration <sup>a</sup> (log IU/ml)	Skillnad
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 <sup>c</sup>	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) <sup>b</sup>	8,46	-0,02

<sup>a</sup>Rapporterad koncentration är det värde som beräknas efter det att spädningsfaktorn har tillämpats.

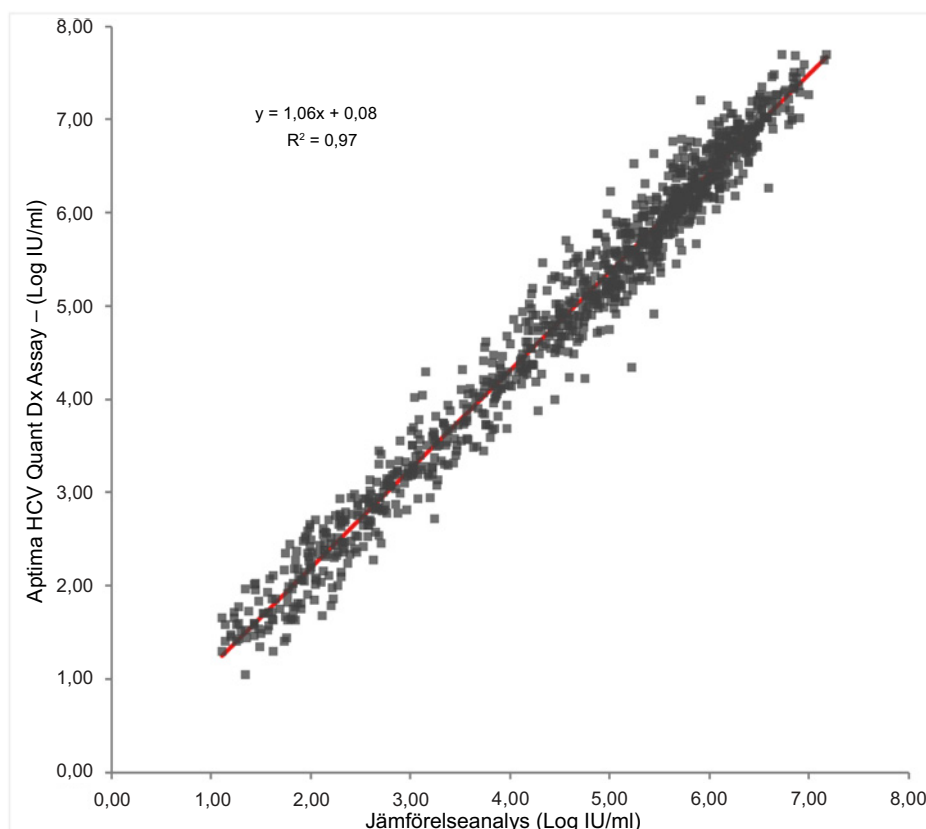
<sup>b</sup>Prov med tillsats.

<sup>c</sup>Resultat från två av de tre testade replikaten. Ett avvikande replikat togs bort.

**Obs!** Alla resultat > 8,00 log IU/ml uppskattades med hjälp av ytterligare analys.

## Metodkorrelation

Resultaten för Aptima HCV Quant Dx Assay bedömdes mot en CE-märkt jämförande analys genom testning av utspädda kliniska prover från HCV-infekterade patienter på tre Panther System med fyra reagensloter. Sammanlagt 1 058 plasma- och serumprover (872 plasma, 186 serum) för alla HCV-genotyper inom det linjära intervall som är gemensamt för båda analyserna användes för linjär regression enligt Figur 8.



**Figur 8. Korrelation mellan Aptima HCV Quant Dx Assay och den jämförande analysen**

## Diagnostisk överensstämmelse

För att bedöma den diagnostiska överensstämmelsen testades 227 plasma- och serumprover från HCV-positiva personer med Aptima HCV Quant Dx Assay och en jämförande CE-märkt kvalitativ analys. Alla kvantifierbara eller detekterbara resultat kategoriserades som "Detekterat". Varje resultat med mål som inte detekterades kategoriserades som "Mål ej detekterat". Diagnostisk överensstämmelse mellan analyserna var 100 % – som visas i Tabell 20.

**Tabell 20: Diagnostisk överensstämmelse mellan Aptima HCV Quant Dx Assay och den jämförande analysen**

		Aptima HCV Quant Dx Assay	
		Detekterat	Mål ej detekterat
Jämförande analys	Detekterat	99	0
	Mål ej detekterat	0	128

## Överföring

För att fastställa att Panther System minimerar risken för falska positiva resultat på grund av överförda föroreningar genomfördes en studie med paneler med tillsatser på tre Panther-system. Överföringen bedömdes med användning av plasmaprover med tillsats av Armored RNA med höga titrer (7 log IU/ml) spridda mellan HCV-negativa prover i ett schackrutigt mönster. Analyserna gjordes över fem körningar. Den övergripande överföringsfrekvensen var 0,14 % (1/704).

## Serokonverteringspanel

Elva uppsättningar HCV-serokonverteringspaneler, med totalt 72 prover, testades. Aptima HCV Quant Dx Assay-resultaten jämfördes med resultat från HCV-antikroppsanalyser. Antal dagar till första reaktiva resultat anges i Tabell 21. Aptima HCV Quant Dx Assay detekterade HCV i genomsnitt 20 dagar tidigare än antikroppsanalyserna.

Tabell 21: Sammanfattning av serokonverteringspaneldata

Panel-ID	Antal testade panelmedlemmar	Antal reaktiva panelmedlemmar		Dagar till första reaktiva resultat			Skillnad i dagar till första reaktiva resultat (baserat på luftningsdatum)		
		Aptima HCV Quant Dx	HCV Antibody Test1	HCV Antibody Test2	Aptima HCV Quant Dx	HCV Antibody Test1	HCV Antibody Test2	Dagar tidigare än HCV Antibody Test1	Dagar tidigare än HCV Antibody Test2
PHV911	4	4	3	3	3 <sup>a</sup>	14	14	11	11
PHV913	4	4	0	2	0	9 <sup>b</sup>	7	9	7
PH919	7	4	3	3	25	28	28	3	3
PH920	9	9	7	6	0 <sup>c</sup>	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 <sup>b</sup>	14	14
6227	7	4	2	2	42	74	74	32	32
6229	8	8	4	3	0	17	20	17	20
Totalt	72	66	35	32			Medelvärde	19,36	20,73
							Median	14	18

HCV-antikroppsanalys 1 utfördes med Abbot Prism HCV-assayen.

HCV-antikroppsanalys 2 utfördes med Ortho Enhanced SAVE-analysen, med följande undantag:

Panelerna 6 227 och 6 229, vilka båda testades med Ortho ELISA Anti-HCV 3.0-analysen

<sup>a</sup>Första luftningen analyserades inte eftersom provet inte var tillgängligt hos leverantören.

<sup>b</sup>All luftning i den här panelen var icke-reaktiv för HCV-antikroppen. Sista luftningsdag användes som "Dagar till första reaktiva resultat".

<sup>c</sup>Andra luftningen analyserades inte eftersom provet inte var tillgängligt hos leverantören.

## Litteraturförteckning

1. Averhoff FM, Glass N och 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 maj 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](http://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](http://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- $\alpha$ 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, USA

**Kundsupport:** +1 800 442 9892  
customersupport@hologic.com  
**Teknisk support:** +1 888 484 4747  
molecularsupport@hologic.com

Besök [www.hologic.com](http://www.hologic.com) för mer kontaktinformation.



**Hologic BVBA**  
Da Vincilaan 5  
1930 Zaventem  
Belgium

Hologic, Aptima, Panther och motsvarande logotyper är varumärken eller registrerade varumärken som tillhör Hologic, Inc. och/eller dess dotterbolag i USA och/eller andra länder.

Armored RNA är ett varumärke som tillhör Asuragen, Inc.

Andra varumärken som kan förekomma i denna bipacksedel tillhör respektive ägare.

Denna produkt kan omfattas av ett eller flera USA-patent som identifieras på [www.hologic.com/patents](http://www.hologic.com/patents).

© 2015-2019 Hologic, Inc. Med ensamrätt.

AW-13249-1601 Rev. 005  
2019-04