

Aptima™ HCV Quant Dx Assay

Til *in vitro* diagnostisk brug.

Kun til eksport fra USA.

Generel information	2
Tilsligtet anvendelse	2
Resumé og forklaring af testen	2
Funktionsprincipper	3
Advarsler og forholdsregler	4
Krav til opbevaring og håndtering af reagenser	6
Indsamling og opbevaring af prøver	7
Prøver på Panther-systemet	10
Prøvetransport	10
Panther-system	11
Vedlagte reagenser og materialer	11
Nødvendige materialer, der skal anskaffes separat	13
Valgfri materialer	14
Testprocedure til Panther-system	14
Bemærkninger til fremgangsmåden	18
Kvalitetskontrol	19
Kalibrering af assayet	19
Negative og positive kontroller	19
Intern kalibrator/intern kontrol	19
Fortolkning af resultater	20
Begrænsninger	20
Præstation	21
Detektionsgrænse (LOD) i henhold til WHO's 2. internationale standard	21
Detektionsgrænse på tværs af HCV-genotyper	22
Lineært område	23
Linearitet på tværs af HCV-genotyper	24
Nedre kvantiteringsgrænse ved brug af WHO's 2. internationale standard	24
Bestemmelse af den nedre kvantiteringsgrænse (LLOQ) på tværs af HCV-genotyper	26
Præcision	28
Potentielt interfererende stoffer	28
Specificitet	30
Analytisk specificitet	31
Kliniske prøver bestående af andre virusser end HCV	32
Reperterbarhed af kliniske prøver	32
Fortynding af prøve ved brug af prøvfortynder	33
Korrelation mellem metoder	35
Diagnostisk overensstemmelse	35
Overførsel	36
Serokonversionspanel	36
Bibliografi	37

Generel information

Tilsigtet anvendelse

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

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

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

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

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

Resumé og forklaring af testen

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

Klinisk er der en høj prævalens af asymptomatisk HCV-infektion og til trods for påviseligt antistof (typisk i løbet af 5-12 uger), forekommer der kronisk HCV-infektion hos op til 75 % af patienterne.² HCV-laborietest-algoritmer kræver diagnose af aktive HCV-infektioner hos antistof-positive personer gennem detektion af HCV RNA i plasma eller serum for at gøre det muligt at få en passende behandling.^{7,8,9}

Kvantitering af HCV RNA (viral load) har spillet en afgørende rolle i fastlægningsen og monitoreringen af succesfuld HCV-behandling. Vedvarende virologisk respons (SVR), defineret som uopdaget HCV RNA efter succesfuld behandling, er en vigtig markør for en kur til HCV.^{10,11} I interferon-baseret behandling viste tidlig virologisk respons (EVR), defineret som 2 log eller større reduktion i HCV viral load efter 12 ugers behandling og en hurtig virologisk respons (RVR), defineret som uopdagede niveauer af HCV RNA efter 4 ugers behandling at være positive indikatorer for SVR.^{10,12,13} Disse markører for viral kinetik anvendes i respons-

styrede metoder til at tilpasse behandlingsmuligheder til at standse eller forlænge behandling for at opnå SVR.¹⁴ Opfølgingsundersøgelser på lang sigt viste desuden varighed af SVR efter succesfuld behandling, og at viral eradikation forebygger progression af leversygdom.¹⁰

I de direkte virkende antiviralers (DAAs) tidsalder tages HCV viral load-målinger før behandling for at fastlægge baseline viral load, under behandling for respons på behandling og efter behandling for at evaluere SVR (eller tilbagefald). Næsten alle patienter opnår virologisk behandlingsrespons på DAA'er, defineret som under den laveste kvantiteringsgrænse (<LLOQ) for assayet, fulgt af frekvenser på mere end 90 % SVR efter 12 ugers behandling med de fleste regimener.^{8,11} HCV- RNA-detektion og kvantitering spiller fortsat en afgørende rolle ved diagnosticering af HCV og håndtering af patienter, som får antiviral behandling.

Funktionsprincipper

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

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

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

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

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

Advarsler og forholdsregler

- A. For at reducere risikoen for ugyldige resultater skal hele indlægssedlen og *Panther System Operator's Manual* (Brugervejledningen til Panther System) læses omhyggeligt igennem, før assayet anvendes.

Vedrørende laboratoriet

- B. **FORSIGTIG:** Kontrollerne til dette assay indeholder humant plasma. Plasmaet er negativt for hepatitis B overfladeantigen (HBsAg), antistoffer mod HCV, antistoffer mod HIV-1- og HIV-2- og HIV-antigen ved testning med procedurer godkendt af USA's Food and Drug Administration. Plasmaet er endvidere ikke-reaktivt over for HCV RNA og HIV-1 RNA ved testning med godkendte nukleinsyretests, der benytter poolede prøver. Alle materialer, der stammer fra humant blod, skal anses for at være potentielt smittefarligt og skal håndteres i overensstemmelse med generelle forholdsregler.^{15,16,17}
- C. Kun personale med tilstrækkelig uddannelse i brugen af Aptima HCV Quant Dx assay og i håndtering af potentielt smittefarlige materialer må udføre denne procedure. Hvis der forekommer spild, skal området straks desinficeres ifølge gældende procedurer på stedet.
- D. Brug kun medfølgende eller specificerede laboratorieartikler til engangsbrug.
- E. Rutinemæssige laboratorieforholdsregler skal følges. Der må ikke pipetteres med munden. Der må hverken spises, drikkes eller ryges i arbejdsområdet. Brug engangshandsker uden puder, beskyttelsesbriller og laboratoriekittel ved håndtering af prøver og kitreagenser. Vask hænderne grundigt efter håndtering af prøver og kitreagenser.
- F. Arbejdsflader, pipetter og andet udstyr skal regelmæssigt dekontamineres med 2,5 % til 3,5 % (0,35 M til 0,5 M) natriumhypochloritopløsning.
- G. Alle materialer, der har været i kontakt med prøver og reagenser, skal bortskaffes i overensstemmelse med lokale og offentlige vedtægter.^{15,16,17,18} Rengør og desinficér alle arbejdsoverflader grundigt.
- H. Kontrollerne indeholder natriumazid som konserveringsmiddel. Brug ikke metalrør til overførsel af reagens. Hvis opløsninger, der indeholder natriumazidforbindelser, skal bortskaffes i en vvs-installation, skal de fortyndes og skylles med rigelige mængder vand fra hanen. Disse forholdsregler anbefales for at undgå ophobning af aflejringer i metalrør, hvor der kan opstå eksplosionsfarlige forhold.
- I. God standardpraksis for molekylærlaboratorier inkluderer miljøovervågning. Til overvågning af miljøet på laboratoriet anbefales følgende:
1. Benyt en podedepind med vatspids og et rør med Aptima-prøvealiquot (SAT).
 2. Forsyn hvert SAT med en etiket.
 3. Fyld hvert SAT med 1 ml Aptima-prøvefortynder.
 4. Til indsamling af overfladeprøver fugtes en podedepind let med nukleasefrit demineraliseret vand.
 5. Pod den pågældende overflade med en lodret bevægelse fra top til bund. Drej podedepinden ca. en halv omgang, samtidig med at stedet podes.
 6. Placér straks prøven i røret, og hvirvl forsigtigt podedepinden i fortynderen for at ekstrahere potentielt podede materialer. Klem podedepinden op imod siden af transportrøret for at klemme så meget væske ud af den som muligt. Bortskaf podedepinden, og sæt hætte på røret.

7. Gentag disse trin for de resterende podninger.
8. Test podningen med et molekylært assay.



Vedrørende prøver

- J. Prøver kan være infektiøse. Overhold de generelle forholdsregler^{15,16,17} ved udførelse af assayet. Korrekte håndterings- og bortskaffelsesmetoder bør fastlægges i overensstemmelse med lokale vedtægter.¹⁸ Kun personale med tilstrækkelig uddannelse i brugen af Aptima HCV Quant Dx assay og i håndtering af potentielt smittefarlige materialer må udføre denne procedure.
- K. Under forsendelse af prøver skal korrekte opbevaringsforhold bevares for at sikre prøvens integritet. Prøvestabilitet under forsendelsesforhold, der er anderledes end de anbefalede forhold, er ikke blevet vurderet.
- L. Undgå krydskontaminering under prøvehåndteringstrinnene. Udvis især forsigtighed for at undgå kontaminering fra spredning af aerosoler ved løsning eller fjernelse af hætter fra prøver. Prøver kan indeholde meget høje niveauer af organismer. Pas på, at prøvebeholdere ikke rører hinanden, og bortskaf brugte materialer uden at føre dem hen over åbne beholdere. Skift handsker, hvis de kommer i kontakt med prøvemateriale.

Vedrørende assay

- M. Brug ikke reagenskittet, kalibratoren eller kontrollerne efter udløbsdatoen.
- N. Assayreagenser fra kit med forskellige hovedlotnumre må ikke byttes om med hinanden, blandes eller kombineres. Assayvæsker kan være fra forskellige lotnumre. Kontroller og kalibratoren kan være fra forskellige lotnumre.
- O. Undgå mikrobiel og nukleasekontaminering af reagenser.
- P. Sæt hætte på, og opbevar alle assayreagenser ved de specificerede temperaturer. Assayets præstation kan påvirkes, hvis der anvendes forkert opbevarede assayreagenser. Se *Krav til opbevaring og håndtering af reagenser og Testprocedure til Panther-system* for flere oplysninger.
- Q. Kombiner ikke assayreagenser og væsker uden specifikke anvisninger. Tilføj ikke yderligere reagens eller væske. Panther-systemet verificerer reagensniveauerne.
- R. Visse af reagenserne i dette kit er mærket med risiko- og faresymboler.

Bemærk: Farekommunikation afspejler EU-sikkerhedsdatabladenes (SDS) klassificeringer. For fareoplysninger, der er specifikke for en given region, henvises der til de regionsspecifikke sikkerhedsdatablade i Safety Data Sheet Library (Sikkerhedsdatabladsbiblioteket) på www.hologicds.com.

 	<p>HCV VL-kontrolkit Natriumazid 0,2 % Human Serum 95-100 %</p>
	<p>ADVARSEL H312 – skadeligt ved kontakt med huden H412 – skadeligt for vandlevende organismer, med langvarige virkninger P273 – undgå udledning til miljøet P280 – bær beskyttelseshandsker/beskyttelsestøj/øjenbeskyttelse/ansigtsbeskyttelse</p>

Krav til opbevaring og håndtering af reagenser

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

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

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

- B. Bortskaf alle ubrugte rekonstituerede reagenser og target capture reagens (TCR) efter 30 dage eller efter hovedlottets udløbsdato, alt efter hvilket, der kommer først.
- C. Reagenser opbevaret i Panther-systemet er stabile i 72 timer i systemet. Reagenser kan sættes i Panther-systemet op til 5 gange. Panther-systemet registrerer hver gang, der isættes reagenser.
- D. Efter kalibratoren er optøet, skal opløsningen være klar, dvs. den må ikke være uklar eller have udfældninger.
- ⚠ E. Promoterreagens og rekonstitueret promoterreagens er lysfølsomme. Beskyt disse reagenser mod lys under opbevaring og klargøring til brug.

Indsamling og opbevaring af prøver

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

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

Bemærk: Der må kun bruges sekundærplastrør til opbevaring.

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

- Rør indeholdende ethylendinitrilotetraeddikesyre (EDTA) eller antikoagulans med syre-citrat-dextrose (ACD) eller
- Rør til klargøring af plasma (Plasma Preparation Tubes, PPTs)
- Serumrør
- SST-rør (Serum Separator Tubes)

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

A. Indsamling af prøver

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

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

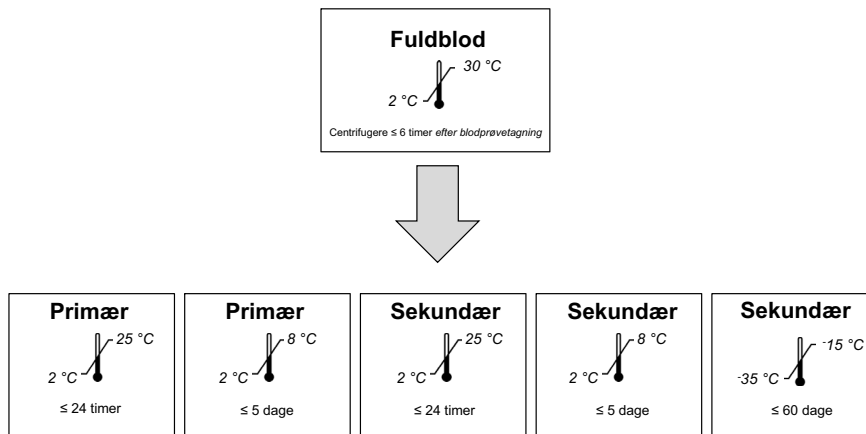
Hvis det ikke skal testes med det samme, kan plasma og serum lægges til opbevaring i overensstemmelse med nedenstående specifikationer. Hvis plasma eller serum overføres til et sekundærrør, kan det nedfryses til -20 °C. Overstig ikke 3 nedfrysings-/optøningscyklusser. Nedfrys ikke prøver i EDTA, ACD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

B. Betingelser for opbevaring af prøver

1. Plasmaprøver i EDTA og ACD

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

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

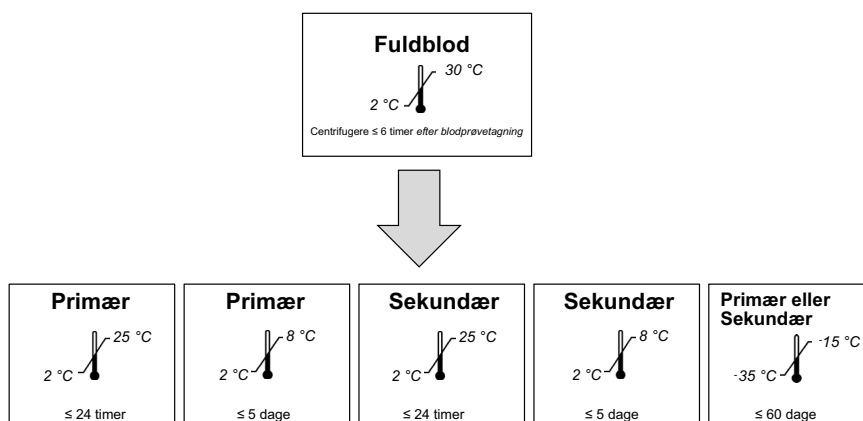


Figur 1. Opbevaringsbetingelser for EDTA-/ACD-rør

2. PPT-prøver

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

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

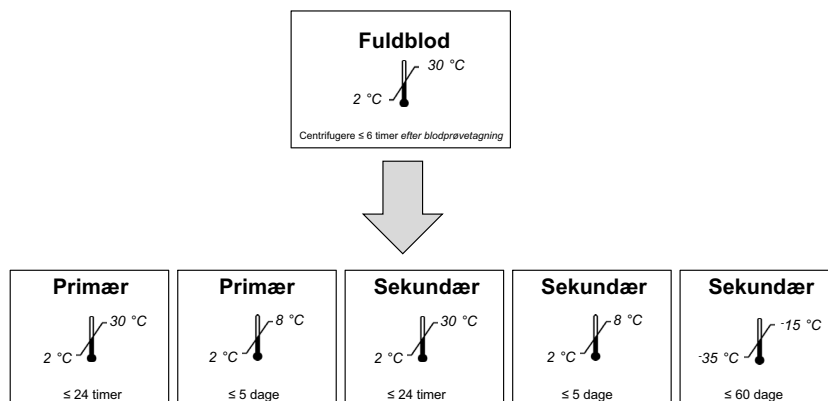


Figur 2. Opbevaringsbetingelser for PPT'er

3. Prøver i serumrør

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

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

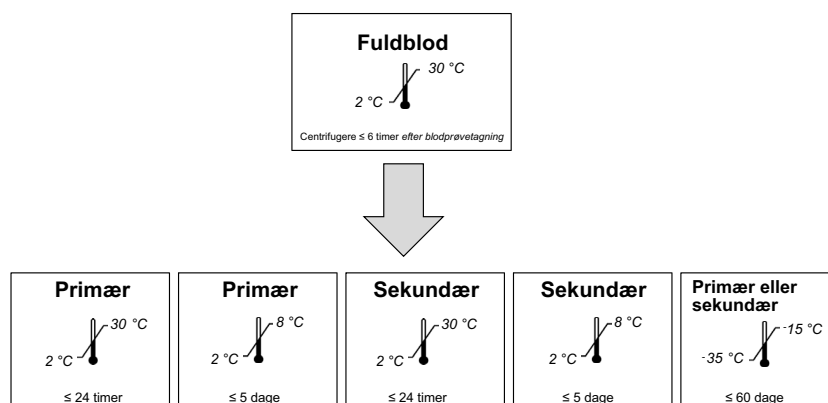


Figur 3. Opbevaringsbetingelser for serumrør

4. SST-prøver

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

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



Figur 4. Opbevaringsbetingelser for SST'er

C. Langtidsopbevaring i frossen tilstand

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

D. Fortynding af plasma- og serumprøver

Plasma- og serumprøver kan fortyndes i SAT eller et sekundørrør med henblik på testning på Panther-systemet. Se *Testprocedure til Panther-system*, trin E.6 herunder for flere oplysninger.

⚠ *Fortynding af plasma- og serumprøver kan kun bruges til kvantitative resultater. Fortynd ikke plasmaprøver for at få diagnostiske resultater.*

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

Prøver på Panther-systemet

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

Prøvetransport

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

Bemærk: Prøver skal forsendes i henhold til gældende nationale, internationale og regionale transportregulativer.

Panther-system

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

Vedlagte reagenser og materialer

Bemærk: For oplysninger om enhver fare og sikkerhedserklæringer, der kan være tilknyttet reagenser, henvises til Safety Data Sheet Library (Arkivet med sikkerhedsdataark) på www.hologic.com/sds.

Aptima HCV Quant Dx Assay Kit, 100 tests kat. nr. PRD-03506

(1 assayæske, 1 kalibratorokit og 1 kontrolkit)

Der kan bestilles ekstra kalibratore og kontroller separat. Se de respektive katalognumre nedenfor.

Æske til Aptima HCV Quant Dx Assay

(opbevares ved 2 °C til 8 °C ved modtagelsen)

Symbol	Komponent	Kvantitet
A	qHCV-amplifikationsreagens <i>Ikke-infektiose nukleinsyrer tørret i bufferopløsning.</i>	1 hætteglas
E	qHCV-enzymreagens <i>Reverse transkriptase og RNA-polymerase tørret i HEPES-bufferopløsning.</i>	1 hætteglas
PRO	qHCV-promoterreagens <i>Ikke-infektiose nukleinsyrer tørret i bufferopløsning.</i>	1 hætteglas
AR	qHCV-amplifikationsrekonstitueringsopløsning <i>Vandig opløsning indeholdende glycerol og konserveringsmidler.</i>	1 x 7,2 ml
ER	qHCV-enzymrekonstitueringsopløsning <i>HEPES-bufferopløsning, der indeholder et overfladeaktivt stof og glycerol.</i>	1 x 5,8 ml
PROR	qHCV-promoterrekonstitueringsopløsning <i>Vandig opløsning indeholdende glycerol og konserveringsmidler.</i>	1 x 4,5 ml
TCR	qHCV-target capture reagens <i>Nukleinsyrer i en buffersaltopløsning indeholdende fastfase, ikke-infektiose nukleinsyrer og intern kalibrator.</i>	1 x 72,0 ml
	Rekonstitueringsmanchetter	3
	Stregkodeliste for hovedlot	1 liste

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

Symbol	Komponent	Kvantitet
PCAL	qHCV-positiv kalibrator <i>Transkript i bufferopløsning.</i>	5 x 2,5 ml
	Kalibratorens stregkode	—

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

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

Nødvendige materialer, der skal anskaffes separat

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

Materiale	Kat. nr.
Panther-system	—
Panther Run Kit for Real Time Assays (Panther-kørselskit til realtids assays) (kun til realtids assays)	PRD-03455 (5.000 tests)
<i>Aptima Assay Fluids Kit (også kendt som Universal Fluids Kit)</i> <i>indeholder Aptima Wash Solution, Aptima buffer for Deactivation Fluid og Aptima Oil Reagent</i>	303014 (1.000 tests)
<i>Multi-tube units (MTUs)</i>	104772-02
<i>Panther Waste Bag Kit</i>	902731
<i>Panther Waste Bin Cover</i>	504405
Eller Panther System Run Kit (Panther-systemets kørselskit) <i>(ved kørsel af ikke-realtids TMA-assays parallelt med realtids TMA-assays)</i> <i>indeholder MTU, affaldsposer, afdækningsstykker til affaldsbeholder, auto-detektion og assayvæsker</i>	303096 (5.000 tests)
Spidser, 1.000 µl ledende, væskeregistrerende	10612513 (Tecan)
5 % til 7 % (0,7 M til 1,0 M) natriumhypochloritopløsning	—
Handsker uden pudder, til engangsbrug	—
Uigennemtrængelige udskiftningshætter	103036A
Udskiftningshætter til reagens	
<i>Flasker til rekonstituering af amplifikations-, enzym- og promoterreagens</i>	<i>CL0041 (100 hætter)</i>
<i>TCR-flaske</i>	<i>CL0040 (100 hætter)</i>
Beskyttelsepapir til laboratoriebænk med plastikbagside	—
Fnugfri servietter	—
Pipette	—
Spidser	—
Der kan anvendes følgende primærprøvetagningsrør:	
<i>13 mm x 100 mm</i>	—
<i>13 mm x 75 mm</i>	—
<i>16 mm x 100 mm</i>	—
Centrifuge	—
Vortexmixer	—

Valgfri materialer

Materiale	Kat. nr.
Der kan anvendes følgende sekundærrør:	
12 mm x 75 mm	—
13 mm x 100 mm	—
16 mm x 100 mm	—
Aptima-rør til prøvealiquot (SATs) (100 stk.)	503762
Hætte til transportrør (100 stk.)	504415
hætte til SAT	
Aptima Specimen Diluent	PRD-03003
Aptima Specimen Diluent Kit	PRD-03478
indeholder prøvafortynding, 100 SAT'er og 100 hætter	
Overførselspipetter	—
Kommercielt tilgængelige paneler, fx:	—
HCV fra Quality Control for Molecular Diagnostics (QCMD) eller	
SeraCare ACCURUN HCV-paneler	
Podepinde med vatspids	—
Vendeapparat	—

Testprocedure til Panther-system

Bemærk: Se Panther System Operator's Manual (brugervejledningen til Panther-system) for yderligere oplysninger om proceduren.

A. Klargøring af arbejdsområde

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

B. Klargøring af kalibrator og kontroller

Lad kalibratoren og kontrollerne nå 15 °C til 30 °C før følgende behandling:

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

Valgmulighed. Kalibrator og kontrolrør kan lægges i et vendeapparat, så de blandes grundigt. Sørg for, at rørens indhold er tørt helt op inden brug.

Bemærk: Sørg for, at der ikke dannes for kraftigt skum, når kalibratoren og kontrollerne vendes op og ned. Skum påvirker niveauregistreringen i Panther-systemet.

2. Når rørets indhold er tørt op, skal ydersiden af røret tørres af med en ren og tør engangsserviet.
3. Åbn ikke rørene endnu for at undgå kontamination.

C. Reagensrekonstituering/klargøring af et nyt kit

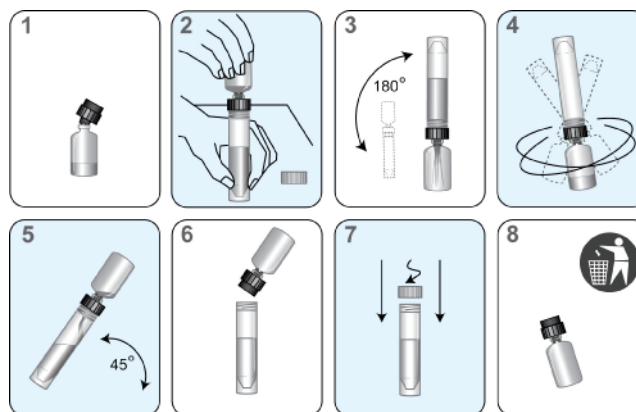
Bemærk: Rekonstituering af reagenser bør udføres, inden der påbegyndes arbejde på Panther-systemet.

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

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

- e. Sæt låget på flasken igen. Registrér operatørinitialer og rekonstitueringsdato på etiketten (Figur 5, trin 7).
- f. Bortskaf rekonstitueringsmanchetten og hætteglasset (Figur 5, trin 8).

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



Figur 5. Reagensets rekonstitueringsproces

D. Klargøring af reagens for tidligere klarjorte reagenser

1. Tag de tidligere klarjorte reagenser ud fra opbevaring (2 °C til 8 °C).
2. Tidligere klarjort amplifikation, enzym, promoterreagenser og TCR skal nå 15 °C til 30 °C før start af assayet.
3. For tidligere klarjort TCR udføres trin C.1 ovenfor før isætning i systemet.
4. Hvirvl og vend amplifikations-, enzym- og promoterreagens op og ned for at blande det grundigt før isætning i systemet. Undgå, at der dannes kraftigt skum, når reagenserne vendes op og ned.
5. Der må ikke tilføjes reagens til reagensflaskerne. Panther-systemet registrerer og afviser flasker, der har fået tilføjet reagens.

E. Håndtering af prøver

1. Kontrollér, at de behandlede prøver i primærrør eller ufortyndede prøver i sekundærrør er opbevaret korrekt i henhold til Indsamling og opbevaring af prøver på side 7.
2. Sørg for, at frosne prøver er tøet helt op. Bland de optøede prøver i vortexmixer i 3 til 5 sekunder, så de blandes omhyggeligt.
3. Lad prøverne nå 15 °C til 30 °C før behandlingen. Se *Prøver på Panther-systemet* for yderligere oplysninger.
4. Kontrollér, at hvert primærprøvetagningsrør indeholder op til 1200 µl prøve, eller at hvert SAT indeholder mindst 700 µl prøve. Se tabellen i *Indsamling af prøver* på side 7 vedrørende kravene til dødvolumen for hver type primær- og sekundærrør. Hvis fortynding af prøven er nødvendigt, se trin E.6 herunder for yderligere oplysninger.
5. Umiddelbart inden isætning af prøverne i et prøvestativ centrifugeres hver prøve ved 1.000 til 3.000 g i 10 minutter. Tag ikke hætte af. Bobler i rørene påvirker niveaumålingen i Panther-systemet.

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

6. Fortynd en plasma- eller serumprøve i forholdet 1:3 i et SAT eller i forholdet 1:100 i et sekundærrør.

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

- ⚠ Fortynding af prøver kan kun bruges til kvantitative resultater. Fortynd ikke prøver for at få diagnostiske resultater.

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

- a. Fortynding af prøver med lavt volumen

Volumenet af prøver kan øges til det påkrævede minimumsvolumen (700 µl) ved brug af Aptima-prøvefortynder. Prøver med mindst 240 µl kan fortyndes med to dele prøvefortynder (1:3) på følgende måde:

- i. Placer 240 µl prøve i et SAT.
- ii. Tilsæt 480 µl Aptima-prøvefortynder.
- iii. Sæt hætte på røret.
- iv. Vend røret forsigtigt op og ned 5 gange.

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

- b. Fortynding af prøver med høj titer

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

- i. Placer 30 µl prøve i et SAT eller et sekundærrør.
- ii. Tilsæt 2970 µl Aptima-prøvefortynder.
- iii. Sæt hætte på røret.
- iv. Vend røret forsigtigt op og ned 5 gange.

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

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

F. Klargøring af systemet

1. Sæt systemet op ifølge anvisningerne i *Panther System Operator's Manual* (Brugervejledningen til Panther-system) og *Bemærkninger til fremgangsmåden*. Sørg for, at der anvendes reagensstativer og TCR-adaptorer af passende størrelse.
2. Sæt prøverne i prøvestativet. Udfør de følgende trin for hvert prøverør (prøve og, hvor nødvendigt, kalibrator og kontroller):
 - a. Løsn én prøverørshætte, men tag den ikke helt af.

Bemærk: Vær især forsigtig med at undgå kontamination fra spredning af aerosoler. Løsn forsigtigt hættene på prøverne.

- b. Sæt prøverøret i prøvestativet.
- c. Gentag trin 2.a og 2.b for hver resterende prøve.
- d. Når prøverne er sat i prøvestativet, fjernes og bortskaffes hvert prøverørs hætte i ét prøvestativ. For at undgå kontamination må en hætte ikke føres hen over andre prøvestativer eller prøverør.
- e. Brug om nødvendigt en ny engangs overførselspipette til at prikke hul på eventuelle bobler eller skum.
- f. Når den sidste hætte er fjernet, skal prøvestativet sættes i en prøvebås.
***Bemærk:** Hvis der køres andre assays og prøvetyper på samme tid, skal prøveholderen sikres, før prøvestativet sættes i en prøvebås.*
- g. Gentag trin 2.a og 2.f for det næste prøvestativ.

Bemærkninger til fremgangsmåden

A. Kalibrator og kontroller

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

B. Handskepudder

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

Kvalitetskontrol

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

Kalibrering af assayet

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

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

Negative og positive kontroller

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

Under behandlingen verificeres kriterierne for godkendelse af kontrollerne automatisk af softwaren i Panther-systemet. For at opnå gyldige resultater skal den negative kontrol udvise resultatet "Not Detected" (Ikke detekteret), og de positive kontroller skal udvise resultater, der ligger inden for de foruddefinerede parametre. Hvis en af kontrollerne udviser et ugyldigt resultat, ugyldiggør softwaren automatisk kørslen. Prøver i en ugyldiggjort kørsel skal testes igen med en netop klargjort kalibrator og netop klargjorte kontroller.

Intern kalibrator/intern kontrol

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

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

Fortolkning af resultater

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

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

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

Tabel 1: Resultatfortolkning

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

^a En diagnostisk fortolkning kan udarbejdes på grundlag af enten serum- eller plasmaprøver, der ikke er blevet fortyndet.

^b Værdien er afkortet til to decimaler.

^c Ugyldige resultater vises med blå skrift.

Begrænsninger

- Kun personale, som er oplært i fremgangsmåden, må anvende dette assay. Hvis anvisningerne på denne indlægsseddel ikke følges, kan det føre til fejlagtige resultater.
- Pålidelige resultater er afhængige af tilstrækkelig prøvetagning og korrekt transport, opbevaring og behandling af prøver.

Præstation**Detektionsgrænse (LOD) i henhold til WHO's 2. internationale standard**

Detektionsgrænsen (LOD) defineres som koncentrationen af HCV RNA, der detekteres med 95 % eller større sandsynlighed ifølge CLSI EP17-A2.¹⁹

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

Tabel 2: Detektionsgrænse ved brug af WHO's 2. internationale standard for HCV

Forventet detektionsgrænse	Koncentration (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

Detektionsgrænse på tværs af HCV-genotyper

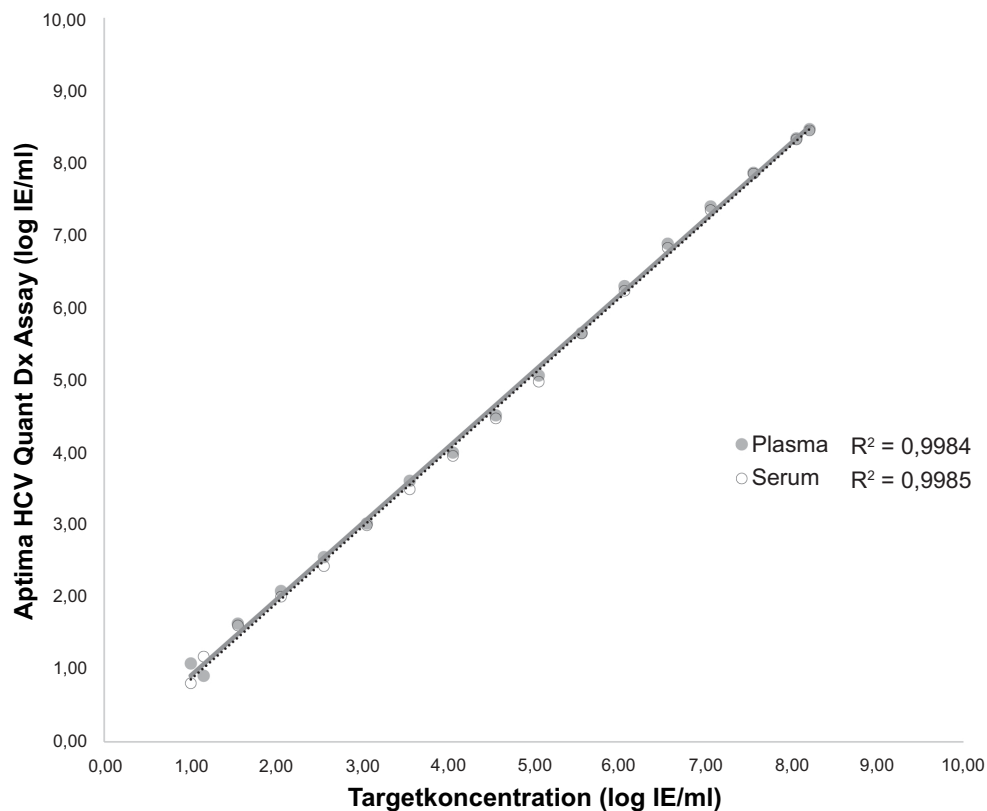
LOD blev bestemt ved at teste fortyndinger af HCV-positive kliniske prøver for genotyper 1, 2, 3, 4, 5 og 6 i HCV-negativt humant plasma og serum. Koncentrationerne blev bestemt med et CE-mærket komparatorassay. Der blev testet mindst 20 replikater for hvert panelmedlem med hvert af tre reagenslot for mindst 60 replikater pr. panelmedlem. En probitanalyse blev foretaget for at skabe 50 % og 95 % forventede detektionsgrænser. LOD-værdierne, som vises i Tabel 3, er resultaterne fra det reagenslot, der har den højeste forventede detektionsgrænse.

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

Genotype	Forventet detektionsgrænse	Koncentration (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

Lineært område

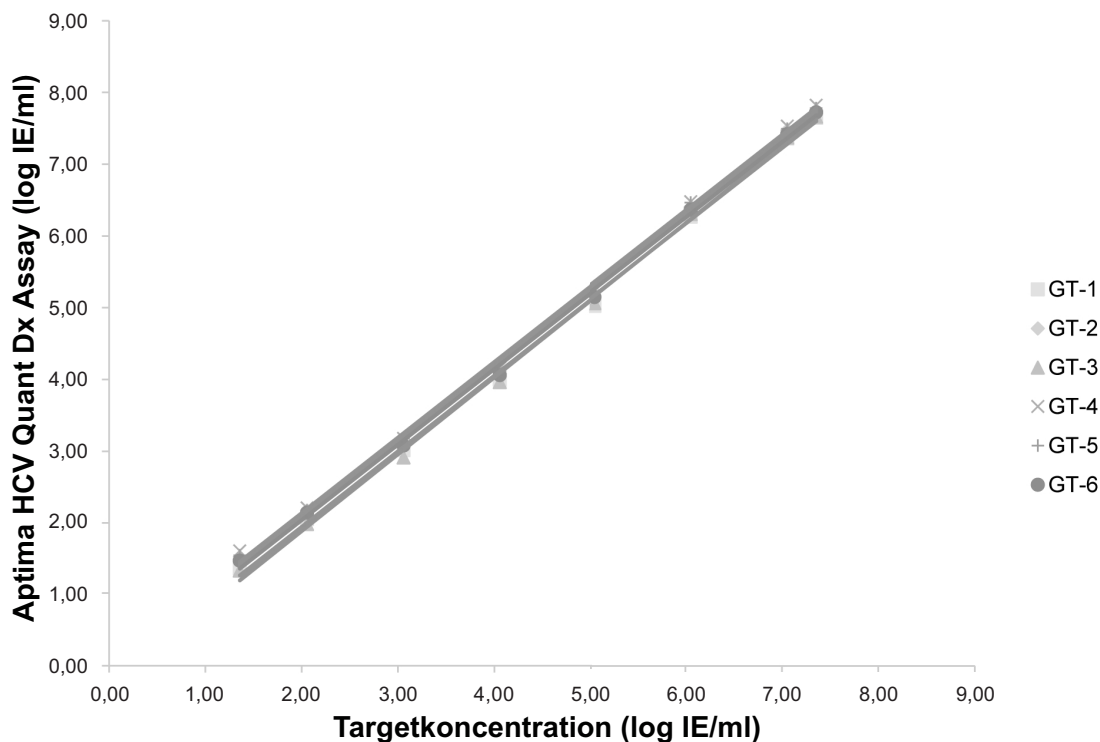
Det lineære område blev fastlagt ved testning af paneler, bestående af HCV Armored RNA fortyndet i HCV-negativt humant plasma og serum ifølge CLSI EP06-A.²⁰ Paneler varierede i koncentration fra 1,0 log IE/ml til 8,2 log IE/ml. Aptima HCV Quant Dx assayet udviste linearitet på tværs af det testede område med en øvre kvantiteringsgrænse (ULOQ) på 8,0 log IE/ml, som vist i Figur 6.



Figur 6. Linearitet i plasma og serum

Linearitet på tværs af HCV-genotyper

Den lineære respons for genotyper 1, 2, 3, 4, 5 og 6 blev bekræftet ved testning af paneler, der bestod af HCV-transkript, fortyndet i buffer ved koncentrationer fra 1,36 log IE/ml til 7,36 log IE/ml. Testning blev udført på tre Panther-systemer med tre reagenslots. Linearitet blev påvist på tværs af det testede område for alle genotyper, som vist i Figur 7.



Figur 7. Linearitet på tværs af HCV-genotyper 1 til 6

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

Den nedre kvantiteringsgrænse (LLOQ) defineres som den laveste koncentration ved hvilken, HCV RNA på pålidelig vis kan kvantiteres inden for grænserne for total fejl ifølge CLSI EP17-A2.¹⁹ Total fejl blev beregnet ved hjælp af to metoder: Total Analytical Error (TAE) (Total analytisk fejl) = |bias| + 2SD, og Total Error (TE) (Total fejl) = SQRT(2) x 2SD. For at sikre nøjagtighed og præcision af målinger blev total fejl for Aptima HCV Quant Dx assay sat til 1 log IE/ml (dvs. at ved LLOQ er forskellen mellem to målinger på mere end 1 log IE/ml statistisk signifikant).

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

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

Reagenslot	Targetkoncentration (IE/ml)	Targetkoncentration (log IE/ml)	Aptima HCV Quant Dx (log IE/ml)	SD (log IE/ml)	Bias (log IE/ml)	Beregnet TE (log IE/ml)	Beregnet TAE (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 = standardafvigelse

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

Reagenslot	Targetkoncentration (IE/ml)	Targetkoncentration (log IE/ml)	Aptima HCV Quant Dx (log IE/ml)	SD (log IE/ml)	Bias (log IE/ml)	Beregnet TE (log IE/ml)	Beregnet TAE (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 = standardafvigelse

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

Reagenslot	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

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

LLOQ blev bestemt ved at teste fortyndinger af HCV-positive kliniske prøver for genotyper 1, 2, 3, 4, 5 og 6 i HCV-negativt humant plasma og serum. Tildelingen af en koncentration for kliniske prøver blev bestemt med et CE-mærket komparatorassay. Der blev testet mindst 36 replikater for hvert panelmedlem med hvert af tre reagenslots for mindst 108 replikater pr. panelmedlem. Resultaterne fra reagenslottet med den højeste koncentration lig med eller større end LOD, og som opfylder TE- og TAE-kravene, vises i Tabel 7 for plasma og i Tabel 8 for serum. LLOQ for genotyper 1 til 6 i plasma og serum er sammenfattet i Tabel 9. Disse fastsatte den samlede LLOQ for assayet som 10 IE/ml.

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

Genotype	Targetkoncentration	Targetkoncentration	Aptima HCV Quant Dx	SD	Bias	Beregnet TE	Beregnet 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 = standardafvigelse

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

Genotype	Targetkoncentration	Targetkoncentration	Aptima HCV Quant Dx	SD	Bias	Beregnet TE	Beregnet 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 = standardafvigelse

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

Præcision

Til evaluering af præcisionen blev der fremstillet et panel med 10 medlemmer ved at fortynde HCV-positive kliniske prøver eller tilsætte armored RNA i HCV-negativ plasma og serum. Panelet blev testet af tre operatører ved brug af tre reagenslot på tre Panther-systemer i løbet af 21 dage.

Tabel 10 viser præcisionen af assay-resultaterne (i log IE/ml) mellem instrumenter, mellem operatører, mellem lot, mellem kørsler, inden for kørsler og i alt. Samlet variabilitet var $\leq 13,31\%$ på tværs af alle panelmedlemmer, primært pga. inden for kørsel-variabilitet (dvs. tilfældig fejl).

Tabel 10: Præcision af Aptima HCV Quant Dx Assay

Matrix	N	Middelkoncentration (log IE/ml)	Mellem-instrument		Mellem-operatør		Mellem-lot		Mellem-kørsel		Inden for-kørsel		I alt	
			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 = variationskoefficient, SD = standardafvigelse

^a Antallet af ugyldige resultater inden for assayets lineære område.

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

Potentielt interfererende stoffer

Følsomheden af Aptima HCV Quant Dx assay for interferens fra eleverede niveauer af endogene stoffer og fra lægemidler, der normalt ordineres til HCV-inficerede personer, blev evalueret. HCV-negative plasmaprøver og prøver med tilsætning af HCV op til en koncentration på 3,3 log IE/ml HCV RNA blev testet.

Ingen interferens i præstationen af assayet blev observeret ved tilstedeværelse af albumin (90 mg/ml), hæmoglobin (5 mg/ml), triglycerider (30 mg/ml) eller ukonjureret bilirubin (0,2 mg/ml).

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

Tabel 11: Testede kliniske prøvetyper

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

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

Tabel 12: Eksogene stoffer

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

Specificitet

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

Tabel 13: Specificitet af kliniske plasma- og serumprøver

	Friskt plasma	Frossent plasma	Totalt plasma	Friskt serum	Frossent serum	Totalt serum	Kombineret
Gyldige replikater (n)	100	270	370	98	268	366	736
Ikke detekteret	100	270	370	98	268	366	736
Specificitet (95 % CI)	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)

CI = konfidensinterval

Analytisk specificitet

Potentiel krydsreaktivitet over for patogener, som vises i Tabel 14, blev evalueret i HCV-negativt humant plasma ved tilstedeværelse eller fravær af 3,3 log IE/ml HCV. Der blev ikke observeret krydsreaktivitet. Der blev ikke observeret interferens ved tilstedeværelse af patogenerne.

Tabel 14: Patogener testet for analytisk specificitet

Patogen	Koncentration		Patogen	Koncentration	
Hepatitis A virus	100.000	kopier/ml	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	1.000.000	CFU/ml ^f
Hepatitis B virus (HBV)	100.000	IE/ml ^a	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1.000.000	CFU/ml
Hepatitis G virus	1.470	PFU/ml ^b	<i>Staphylococcus aureus</i>	1.000.000	CFU/ml
HIV-1	100.000	kopier/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
Human herpes virus 6B	100.000	kopier/ml	<i>Chlamydia trachomatis</i>	1.000.000	IFU/ml ^g
Human herpes virus 8	2.667	TCID50 U/ml ^c	<i>Trichomonas vaginalis</i>	1.000.000	celler/ml
Human T-celle lymfotrofisk virus-type 1 (HTLV-1)	100.000	vp/ml ^d			
Human T-celle lymfotrofisk virus-type 2 (HTLV-2)	100.000	vp/ml			
Parvovirus B19	100.000	IE/ml			
Vestnilvirus	100.000	PFU/ml			
Denguevirus 1	100.000	PFU/ml			
Denguevirus 2	100.000	PFU/ml			
Denguevirus 3	100.000	PFU/ml			
Denguevirus 4	100.000	PFU/ml			
Cytomegalovirus	100.000	PFU/ml			
Epstein-Barr virus	100.000	kopier/ml			
Rubella virus	100.000	PFU/ml			
Human papillomavirus	100.000	celler/ml			
Adenovirus type 5	100.000	TCID50 U/ml			
Influenza A virus	100.000	TCID50 U/ml			
Japansk encephalitis-virus	Ikke relevant	Ikke relevant			
St. Louis encephalitis virus	Ikke relevant	Ikke relevant			
Murray Valley encephalitis virus	2.643	LD/ml ^e			
Gul feber-virus	100.000	celler/ml			

^aIE/ml = Internationale enheder pr. ml.

^bPFU/ml = Plaque Forming Units (Plakdannende enheder) pr. ml.

^cTCID50 U/ml = Infektøse enheder i vævskultur pr. ml

^dvp/ml = Viruspartikler pr. ml.

^eLD/ml = Letaldosis pr. ml

^fCFU/ml = Colony Forming Units (Kolonidannende enheder) pr. ml.

^gIFU/ml = Inclusion Forming Units (Inklusionsdannende enheder) pr. ml.

Kliniske prøver bestående af andre virusser end HCV

De viste patogener i Tabel 15 blev evalueret ved at opnå individuelle naturligt inficerede kliniske prøver. De blev testet ved tilstedeværelse eller fravær af 3,3 log IE/ml HCV RNA. Der blev ikke observeret krydsreaktivitet. Der blev ikke observeret interferens.

Tabel 15: Kliniske prøver testet for analytisk specificitet

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

Repetérbarhed af kliniske prøver

Repetérbarheden blev evalueret ved at teste tre replikater af naturligt inficerede kliniske HCV-positive plasma- og serumprøver. Den gennemsnitlige koncentration og standardafvigelse for de testede plasma- og serumprøver vises i Tabeller 16 og 17.

Tabel 16: Repetérbarhed af kliniske plasmaprøver

Plasmaprøve-id	Gennemsnitlig koncentration (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: Repetérbarhed af kliniske serumprøver

Serumprøve-id	Gennemsnitlig koncentration (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

^aResultat fra to ud af tre testede replikater. Ét afvigende replikat er fjernet.

Fortynding af prøve ved brug af prøvafortynder

For at vurdere genvinding af HCV RNA i prøver fortyndet med Aptima-prøvafortynder, blev plasma- og serumprøver, der strakte sig over det lineære område, fortyndet med 1:3 med Aptima-prøvafortynder. Desuden blev højt titrerede naturligt inficerede kliniske prøver og Armored RNA tilsat prøver med koncentrationer over ULOQ fortyndet med 1:100 med Aptima-prøvafortynder. Hver prøve blev testet ufortyndet og fortyndet (1:3 eller 1:100) i triplikat. Forskellene mellem den gennemsnitlige rapporterede koncentration (fortyndingsfaktoren er blevet anvendt til det fortyndede prøveresultat) og den gennemsnitlige ufortyndede koncentration vises i Tabel 18 for plasma og Tabel 19 for serum. Prøvekoncentrationerne blev nøjagtigt genvundet i de fortyndede prøver.

Tabel 18: Prøvafortynding med Aptima-prøvafortynder – plasma

Fortynding	Gennemsnitlig ufortyndet koncentration (log IE/ml)	Gennemsnitlig rapporteret koncentration ^a (log IE/ml)	Forskel
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

^aRapporteret koncentration er værdien beregnet efter, at fortyndingsfaktoren er blevet anvendt.

^bPrøve med tilsætning.

Bemærk: Alle resultater > 8,00 log IE/ml blev estimeret ved yderligere analyse.

Tabel 19: Prøvefortynding med Aptima-prøvefortynder – serum

Fortyndingsfaktor	Gennemsnitlig ufortyndet koncentration	Gennemsnitlig rapporteret koncentration ^a	Forskel
	(log IE/ml)	(log IE/ml)	
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

^aRapporteret koncentration er værdien beregnet efter, at fortyndingsfaktoren er blevet anvendt.

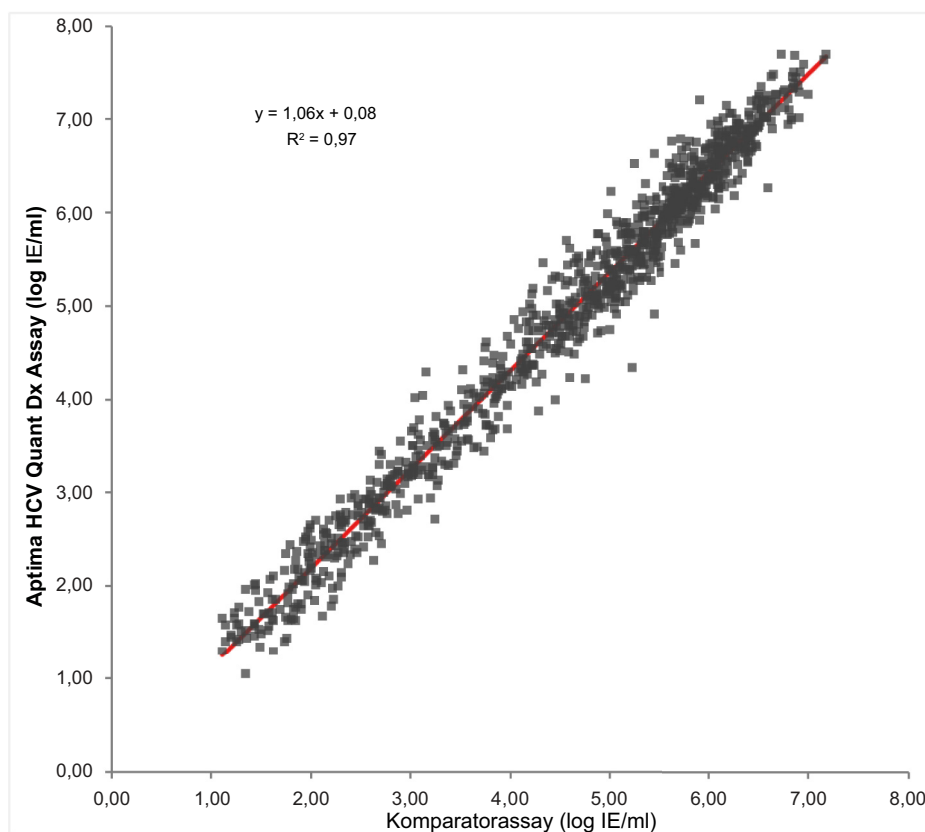
^bPrøve med tilsætning.

^cResultat fra to ud af tre testede replikater. Ét afvigende replikat er fjernet.

Bemærk: Alle resultater > 8,00 log IE/ml blev estimeret ved yderligere analyse.

Korrelation mellem metoder

Præstationen af Aptima HCV Quant Dx assay blev evalueret i forhold til et CE-mærket komparatorassay ved at teste ufordyndede kliniske plasmaprøver fra HCV-inficerede patienter på tre Panther-systemer med fire reagenslot. I alt blev 1.058 plasma- og serumprøver (872 plasma, 186 serum) på tværs af alle HCV-genotyper inden for det lineære område, fælles for begge assays, brugt til lineær regression, som vist i Figur 8.



Figur 8. Korrelation mellem Aptima HCV Quant Dx Assay og komparatorassay

Diagnostisk overensstemmelse

Til evaluering af diagnostisk overensstemmelse blev 227 plasma- og serumprøver fra HCV-positive personer testet med Aptima HCV Quant Dx assay og et CE-mærket kvalitativt komparatorassay. Ethvert resultat, som gav et kvantificerbart eller detekterbart resultat, blev kategoriseret som "Detected" ("Detekteret"). Ethvert resultat for target, som ikke blev detekteret, blev kategoriseret som "Target Not Detected" ("Target ikke detekteret"). Diagnostisk overensstemmelse mellem assays var 100 %, som vist i Tabel 20.

Tabel 20: Diagnostisk overensstemmelse mellem Aptima HCV Quant Dx Assay og komparatorassay

		Aptima HCV Quant Dx Assay	
		Detekteret	Target ikke detekteret
Komparatorassay	Detekteret	99	0
	Target ikke detekteret	0	128

Overførsel

For at fastlægge, at Panther-systemet minimerer risikoen for falske positive resultater pga. kontamination fra overførsel, blev der foretaget en undersøgelse med paneler med tilsætninger på tre Panther-systemer. Overførsel blev evalueret med høj titer Armored RNA-plasmaprøver med tilsætning (7 log IE/ml) fordelt over HCV-negative prøver i et skakbrætmønster. Testningen fandt sted over femten kørsler. Den samlede overførselsrate var 0,14 % (1/704).

Serokonversionspanel

Elleve sæt HCV-serokonversionspaneler, bestående af i alt 72 prøver, blev testet. Aptima HCV Quant Dx assay-resultater blev sammenlignet med resultaterne for HCV-antistoftest. Antallet af dage til det første reaktive resultat vises i Tabel 21. Aptima HCV Quant Dx assay detekterede tilstedeværelse af HCV i gennemsnit 20 dage før antistoftestene.

Tabel 21: Oversigt over serokonversionspaneldata

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

HCV-antistoftest1 blev udført med Abbot Prism HCV assay.

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

Panel 6.227 og 6.229, som begge blev testet med Ortho ELISA Anti-HCV 3,0 assay

^aFørste blodprøve blev ikke testet på grund af manglende prøve fra fabrikanten.

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

^cDen anden blodprøve blev ikke testet på grund af manglende prøve fra fabrikanten.

Bibliografi

1. Averhoff FM, Glass N and Holtzman D. Global Burden of Hepatitis C: Considerations for Healthcare Providers in the United States. *Clinical Infectious Diseases* 2012; 55 (S1): S10-15.
2. 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*. 2014 May 5
4. Lee M-H, Yang, H-I, Yuan Y et al., Epidemiology and natural history of hepatitis C virus infection. *World J Gastroenterology* 2014; 20 (28): 9270-9280
5. *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 USA

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

Yderligere kontaktoplysninger findes på www.hologic.com.



Hologic BVBA
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

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

Armored RNA er et varemærke, tilhørende Asuragen, Inc.

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

Dette produkt kan være dækket af et eller flere amerikanske patenter. Se www.hologic.com/patents.

© 2017-2019 Hologic, Inc. Alle rettigheder forbeholdes.

AW-13249-1901 Rev. 005
2019-04