

Test Aptima™ HCV Quant Dx

Len na diagnostické použitie *in vitro*.

Len pre U.S. export.

Všeobecné informácie	2
Určené použitie	2
Zhrnutie a vysvetlenie testu	2
Zásady procedúry	3
Upozornenia a opatrenia	4
Požiadavky na skladovanie a manipuláciu s reagensiou	6
Odber vzoriek a skladovanie	7
Vzorky v systéme Panther	10
Preprava preparátov	10
Systém Panther	11
Poskytnuté reagensie a materiály	11
Nutné materiály dostupné samostatne	13
Voliteľné materiály	14
Postup testovania systému Panther	14
Poznámky k postupu	18
Kontrola kvality	19
Kalibrácia testu	19
Negatívne a pozitívne kontroly	19
Interný kalibrátor/interná kontrola	19
Interpretácia výsledkov	20
Obmedzenia	20
Výkon	21
Limit detekcie (LoD) podľa 2. medzinárodného štandardu WHO	21
Limit detekcie u rôznych genotypov HCV	22
Lineárny rozsah	23
Linearita u rôznych genotypov HCV	24
Spodný limit kvantifikácie podľa 2. medzinárodného štandardu WHO	24
Stanovenie spodného limitu kvantifikácie (LLoQ) u rôznych genotypov HCV	26
Presnosť	28
Potenciálne interferujúce látky	29
Špecifita	30
Analytická špecifita	31
Klinické vzorky obsahujúce vírusy iné než HCV	32
Opakovateľnosť klinických vzoriek	32
Riedenie vzorky pomocou riediaceho prípravku na vzorky	33
Korelácia metód	35
Diagnostická zhoda	36
Prenos	36
Panel sérokonverzie	37
Literatúra	38

Všeobecné informácie

Určené použitie

Test Aptima HCV Quant Dx je amplifikačný test mediovaný transkripciou v reálnom čase. Tento test sa používa na detekciu a kvantifikáciu RNA vírusu hepatitídy C (HCV) v čerstvom a zmrazenom ľudskom sére a plazme od osôb infikovaných HCV.

Plazmu je možné pripraviť pomocou kyseliny etyléndiamintetraoctovej (EDTA), antikoagulačného roztoku citrátovanej dextrózy (ACD) a skúmaviek na prípravu plazmy (PPT). Sérum je možné pripraviť v skúmavkách na sérum a skúmavkách na separáciu séra (SST). Vzorky sa testujú pomocou systému Panther na automatické spracovanie vzoriek, amplifikáciu, detekciu a kvantifikáciu. Vzorky obsahujúce HCV genotypy 1 až 6 sú validované na detekciu a kvantifikáciu v teste.

Test Aptima HCV Quant Dx je indikovaný na použitie ako pomôcka pri diagnostike HCV infekcie. Test je možné použiť na potvrdenie aktívnej HCV infekcie u pacientov s pozitívnym testom na protilátky proti HCV. Detekcia HCV RNA svedčí pre replikáciu vírusu, tzn. predstavuje dôkaz aktívnej infekcie.

Test Aptima HCV Quant Dx je určený na použitie ako pomôcka na liečbu pacientov infikovaných HCV podstupujúcich terapiu HCV antivirotikami. Test meria hladiny HCV RNA vo východiskovej úrovni, v priebehu liečby a po liečbe s cieľom stanoviť pretrvávajúcu virologickú odpoveď (SVR). Výsledky testu Aptima HCV Quant Dx je nutné interpretovať v kontexte všetkých relevantných klinických a laboratórnych zistení.

Test Aptima HCV Quant Dx nie je určený na použitie ako screeningový test na prítomnosť HCV v krvi alebo krvných produktoch.

Zhrnutie a vysvetlenie testu

HCV je krvný patogén a predstavuje celosvetovú záťaž pre verejné zdravotníctvo – po celom svete je infikovaných až 170 miliónov osôb a ročne dochádza k 350 000 úmrtiam v dôsledku stavov spojených s HCV vrátane cirhózy a rakoviny pečene.^{1,2} HCV sa prenáša krvou, krvnými produktami alebo aktivitami s rizikom perkutánnej expozície.^{3,4} Po genetickej stránke obsahuje HCV genóm z pozitívneho RNA vlákna pozostávajúci z 9 500 nukleotidov kódujúcich štruktúrne proteíny (core (jadro), E1 a E2 glykoproteíny, proteín iónového kanála p7) a neštruktúrne proteíny (NS2, NS3, NS4A/B, NS5A/B). Druhá skupina sú kľúčové vírusové replikačné proteíny a ciele priamo pôsobiace antivirotik.^{4,5} Dve oblasti genómu neprechádzajúce transláciou (UTR) 5'UTR a 3'UTR slúžia na transláciu, resp. replikáciu/packaging.⁵ 5'-UTR je najviac konzervovaná genomická oblasť u šiestich najvýznamnejších genotypov HCV.⁶

Po klinickej stránke pretrvávajúca vysoká prevalencia asymptomatických infekcií HCV a navzdory detegovateľným protilátkam (typicky do 5 až 12 týždňov) dochádza k chronickej HCV infekcii u 75 % pacientov.² Algoritmy laboratórneho testovania na HCV vyžadujú diagnózu aktívnych infekcií HCV u jedincov s pozitívnymi protilátkami na základe detekcie HCV RNA v plazme alebo sére, čo umožňuje adekvátne ďalšie kroky v liečbe.^{7,8,9}

Kvantifikácia HCV RNA (vírusová nálož) hrala pilotnú rolu v definovaní a sledovaní úspešnej liečby HCV. Pretrvávajúca virologická odpoveď (SVR) definovaná ako nedetegovaná HCV RNA po úspešnej terapii je kľúčovým markerom vyliečenia.^{10,11} U terapie založenej na interferóne boli skorá virologická odpoveď (EVR) definovaná ako pokles vírusovej nálože HCV na úrovni 2 log alebo viac po 12 týždňoch terapie a rýchla virologická odpoveď (RVR) definovaná ako nedetegovateľné hladiny HCV RNA po 4 týždňoch terapie doložené ako pozitívne prediktory SVR.^{10,12,13} Tieto markery vírusovej kinetiky sa používajú v prístupoch

riadených odpoveďou na individualizáciu terapeutických možností – zastavenie alebo rozšírenie terapie s cieľom dosiahnuť SVR.¹⁴ Okrem toho preukázali dlhodobé sledovacie štúdie pretrvávajúcu SVR po úspešnom zaliečení a eradikácia vírusu bráni progresii ochorenia pečene.¹⁰

V ére priamo pôsobiacich antivirotik (DAA) sa pred zahájením terapie zmeria vírusová nálož HCV s cieľom stanoviť východiskovú vírusovú nálož. Ďalšie merania sa vykonávajú v priebehu liečby s cieľom overiť odpovede behom liečby a po liečbe s cieľom overiť SVR (alebo relaps). Takmer všetci pacienti dosiahnu virologickú odpoveď na DAA na liečbe definovanú ako hladina pod spodným limitom kvantifikácie (< LLoQ) pre test. Následne je uvádzaná viac než 90 % miera SVR 12 týždňov po terapii u väčšiny režimov.^{8,11} Detekcia a kvantifikácia HCV RNA bude naďalej hrať zásadnú rolu v diagnostike HCV a antivirotickej liečbe pacientov.

Zásady procedúry

Test Aptima HCV Quant Dx je test založený na amplifikácii nukleových kyselín, ktorý používa technológiu amplifikácie mediovanej transkripciou (TMA) v reálnom čase na detekciu a kvantifikáciu HCV RNA pred terapiou ako pomôcku pre diagnostiku alebo stanovenie východiskovej vírusovej nálože, ale i meranie odpovede v priebehu liečby a po liečbe. Test je zameraný na konzervovanú oblasť HCV genómu a umožňuje tak detekciu a kvantifikáciu genotypov 1, 2, 3, 4, 5 a 6. Test je štandardizovaný podľa 2. medzinárodnej normy WHO pre vírus hepatitídy C (kód NIBSC 96/798).¹²

Test Aptima HCV Quant Dx pozostáva z troch hlavných krokov, ktoré všetky prebiehajú v jednej skúmavke v systéme Panther: záchyt cieľa, amplifikácia cieľa pomocou TMA a detekcia produktov amplifikácie (amplikónov) fluorescenčne značenými sondami (torches).

V priebehu záchytu cieľa sa zo vzoriek izoluje vírusová RNA. Preparát je ošetrovaný detergentom, aby sa solubilizoval obal vírusu, denaturovali proteíny a uvoľnila genómová DNA vírusu. Zachytené oligonukleotidy hybridizujú do vysoko konzervovaných oblastí HCV RNA (ak sú prítomné) v testovanej vzorke. Hybridizovaný cieľ sa potom zachytí na magnetické mikročastice, ktoré sú oddelené z preparátu v magnetickom poli. Na odstránenie cudzorodých komponentov z reakčnej skúmavky sa použijú kroky premývania.

Cieľová amplifikácia nastane prostredníctvom metódy TMA, čo je metóda amplifikácie kyseliny nukleovej mediovaná transkripciou, kde sa používajú dva enzýmy, reverzná transkriptáza MMLV z myšieho leukemického vírusu Moloney (MMLV) a T7 RNA polymeráza. Reverzná transkriptáza sa používa na získanie kópie DNA (obsahujúcej promotorovú sekvenciu pre T7 RNA polymerázu) cieľovej sekvencie. T7 RNA polymeráza produkuje viac kópií RNA amplikónu z templátu DNA kópie. Test Aptima HCV Quant Dx používa metódu TMA na amplifikáciu časti 5' UTR genómu HCV. Amplifikácie tejto oblasti je dosiahnuté pomocou špecifických primerov, ktoré sú navrhnuté na amplifikáciu HCV genotypov 1, 2, 3, 4, 5 a 6.

Detekcia je dosiahnutá pomocou horákov z jednovláknovej nukleovej kyseliny, ktoré sú prítomné v priebehu amplifikácie cieľa a hybridizujú špecificky na amplikón v reálnom čase. Každý horák má fluorofóru a zhášadlo. Ak horák nie je hybridizovaný na amplikón, zhášadlo je v tesnej blízkosti fluorofóru a potlačí fluorescenciu. Keď sa horák naviaže na amplikón, zhášadlo sa presunie do väčšej vzdialenosti od fluorofóru a bude po excitácii svetelným zdrojom vydávať signál o špecifickej vlnovej dĺžke. S hybridizáciou ďalších horákov na amplikón vznikne vyšší fluorescenčný signál. Doba, než fluorescenčný signál dosiahne špecifikovaný prah, je úmerná počiatočnej koncentrácii HCV. Každá reakcia má interný kalibrátor/internú kontrolu (IC) slúžiacu na kontrolu variácií v spracovaní vzorky, amplifikácii a detekcii. Koncentrácia vzorky je stanovená pomocou softvéru systému Panther na základe HCV a IC signálov pre každú reakciu a ich porovnaní s kalibračnými informáciami.

Upozornenia a opatrenia

- A. Pred vykonaním tohto testu si pozorne prečítajte celý príbalový leták a *prevádzkovú príručku systému Procleix Panther*, aby ste znížili riziko neplatných výsledkov.

Súvisiace s laboratóriom



- B. UPOZORNENIE: Kontroly pre tento test obsahujú ľudskú plazmu. Plazma je podľa testovania postupmi licencovanými Úradom pre kontrolu potravín a liečiv USA negatívna na povrchový antigén hepatitídy B (HBsAg), protilátky proti HCV, protilátky proti HIV-1 a HIV-2 a HIV antigén. Okrem toho je plazma areaktívna voči HCV RNA a HIV-1 RNA pri testovaní licencovanými testami nukleových kyselín za použitia spojených vzoriek. Všetok materiál pochádzajúci z ľudskej krvi je nutné považovať za potenciálne infekčný a pri práci s ním je nutné dodržiavať univerzálne bezpečnostné opatrenia.^{15,16,17}
- C. Tento postup smie vykonávať len personál adekvátne vyškolený v práci s testom Aptima HCV Quant Dx a v manipulácii s potenciálne infekčnými materiálmi. Ak dôjde k vyliatiu, okamžite miesto vydezinfikujte pomocou príslušných postupov pracoviska.
- D. Používajte iba dodané alebo špecifikované jednorazové laboratórne pomôcky.
- E. Použite rutinné laboratórne opatrenia. Nepipetujte ústami. Vo vyhradených pracovných oblastiach nejedzte, nepite ani nefajčite. Pri manipulácii so vzorkami a súpravami reagensí používajte jednorazové, bezprašné rukavice, ochranné okuliare a laboratórne plášte. Po manipulácii so vzorkami a súpravami reagensí si dôkladne umyte ruky.
- F. Pracovné plochy, pipety a iné zariadenia sa musia pravidelne dekontaminovať 2,5 % až 3,5 % (0,35 M až 0,5 M) roztokom chlórnanu sodného.
- G. Všetky materiály, ktoré sa dostali do kontaktu s preparátmi a reagensiami, zlikvidujte v súlade s miestnymi, štátnymi a federálnymi predpismi.^{15,16,17,18} Všetky pracovné plochy dôkladne očistite a vydezinfikujte.
- H. Kontroly obsahujú azid sodný ako konzervačné činidlo. Na prenos reagensí nepoužívajte kovové skúmavky. Ak roztoky obsahujúce zlúčeniny azidu sodného likvidujete vo vodovodnom systéme, musia byť zriedené a spláchnuté hojným množstvom tečúcej vody. Tieto bezpečnostné opatrenia sa odporúčajú, aby sa zabránilo nahromadeniu usadenín v kovových potrubiach, kde by mohli vzniknúť výbušné podmienky.
- I. Zásady dobrej praxe pre molekulárne laboratóriá zahŕňajú sledovanie prostredia. Pri sledovaní laboratórneho prostredia odporúčame nasledujúci postup:
1. Zoberte si vatovú tyčinku a spárujte ju s alikvotičnou skúmavkou na vzorky Aptima (SAT).
 2. Príslušným spôsobom označte každú SAT.
 3. Naplňte každú SAT 1 ml riediaceho prípravku na vzorky Aptima.
 4. Pred zberom povrchových vzoriek zľahka navlhčite vatovú tyčinku deionizovanou vodou bez obsahu nukleázy.
 5. Otrite požadovaný povrch vertikálnym pohybom zhora nadol. Pri otieraní lokality otočte tyčinku približne o polovicu otočky.
 6. Okamžite vložte vzorku na vatovej tyčinke do skúmavky a jemne tyčinku premiešajte vírením v riediacom prípravku, aby ste extrahovali potenciálne ošetrené materiály. Pritlačte vatovú tyčinku o bočnú stranu prepravnej skúmavky a vyextrahujte čo najviac tekutiny. Zlikvidujte vatovú tyčinku a zatvorte skúmavku viečkom.
 7. Zopakujte kroky u zostávajúcich sterových vzoriek.
 8. Otestujte sterový materiál molekulárnym testom.

Súvisiace so vzorkami

- J. Vzorky môžu byť infekčné. Pri vykonávaní tohto testu použite univerzálne opatrenia^{15,16,17}. Správne metódy manipulácie a likvidácie nájdete v miestnych predpisoch.¹⁸ Tento postup smie vykonávať len personál adekvátne vyškolený v práci s testom Aptima HCV Quant Dx a v manipulácii s potenciálne infekčnými materiálmi.
- K. Počas prepravy zachovajte príslušné podmienky na uchovávanie, aby ste zaistili integritu preparátu. Stabilita preparátov za prepravných podmienok iných, ako sú odporúčané, nebola hodnotená.
- L. Počas manipulácie so vzorkami sa vyhnite krížovej kontaminácii. Zvláštnu pozornosť venujte prevencii šírenia kontaminácie formou aerosólu pri uvoľňovaní alebo odstraňovaní viečok zo vzoriek. Preparáty môžu obsahovať extrémne vysoké hladiny organizmov. Uistite sa, že nádoby na vzorky sa navzájom nedotýkajú a použité materiály zlikvidujte bez toho, aby prešli cez otvorené nádoby. Vymeňte si rukavice, ak sa dostanú do kontaktu so vzorkou.

Súvisiace s testom

- M. Nepoužívajte súpravu reagensí, kalibrátor ani kontroly po dátume expirácie.
- N. Nezamieňajte, nemiešajte ani nekombinujte reagensie zo súprav s rôznymi číslami hlavnej šarže. Testové kvapaliny môžu pochádzať z rôznych šarží. Kontroly a kalibrátor môžu pochádzať z rôznych šarží.
- O. Zabráňte kontaminácii reagensí mikróbmi a nukleázami.
- P. Uzavrite a uložte všetky reagensie na rozbor pri špecifikovaných teplotách. Výkonnosť rozboru môže byť ovplyvnená použitím nesprávne uskladnených reagensí na rozbor. Viac informácií nájdete v časti *Požiadavky na skladovanie a manipuláciu s reagensiou a Postup testovania systému Panther*.
- Q. Žiadne reagensie na rozbor ani kvapaliny nekombinujte bez konkrétnych pokynov. Reagensie ani kvapaliny nedolievajte. Systém Panther overuje hladiny reagensí.
- R. Niektoré reagensie tejto súpravy sú označené rizikovými a bezpečnostnými symbolmi.

Poznámka: Oznámenie o nebezpečenstve odráža klasifikácie bezpečnostných údajov EÚ (SDS). Informácie o oznámeniach o nebezpečenstve, ktoré sú špecifické pre váš región, nájdete v SDS pre jednotlivé regióny v knižnici bezpečnostných údajov na adrese www.hologicsds.com.

**Kontroly súpravy HCV VL**

Azid sodný 0,2 %
Ľudské sérum 95 % – 100 %

**VAROVANIE**


H312 – Škodlivý pri kontakte s pokožkou
H412 – Škodlivý pre vodné organizmy, s dlhodobými účinkami
P273 – Zabráňte uvoľneniu do životného prostredia
P280 – Noste ochranné rukavice/ochranné oblečenie/ochranné okuliare/ochranu tváre

Požiadavky na skladovanie a manipuláciu s reagensiou

- A. Nasledujúca tabuľka uvádza podmienky skladovania a stability pre reagensie, kontroly a kalibrátor.

Reagencia	Uskladnenie neotvorených balení	Otvorená súprava (rekonštituovaná)	
		Skladovanie	Stabilita
Amplifikačná reagencia qHCV	2 °C až 8 °C		
Rekonštitučný roztok na amplifikáciu qHCV	2 °C až 8 °C	2 °C až 8 °C	30 dní ^a
Enzymatická reagencia qHCV	2 °C až 8 °C		
Enzymatický rekonštitučný roztok na qHCV	2 °C až 8 °C	2 °C až 8 °C	30 dní ^a
Aktivačná reagencia qHCV	2 °C až 8 °C		
Aktivačný rekonštitučný roztok na qHCV	2 °C až 8 °C	2 °C až 8 °C	30 dní ^a
Cieľová záchytná reagencia qHCV	2 °C až 8 °C	2 °C až 8 °C	30 dní ^a
qHCV NC CONTROL – (negatívna kontrola)	–15 °C až –35 °C	15 °C až 30 °C	Jednorázová ampulka Použiť do 24 hodín
qHCV LPC CONTROL + (nízka pozitívna kontrola)	–15 °C až –35 °C	15 °C až 30 °C	Jednorázová ampulka Použiť do 24 hodín
qHCV HPC CONTROL + (vysoká pozitívna kontrola)	–15 °C až –35 °C	15 °C až 30 °C	Jednorázová ampulka Použiť do 24 hodín
qHCV PCAL (pozitívny kalibrátor)	–15 °C až –35 °C	15 °C až 30 °C	Jednorázová ampulka Použiť do 24 hodín

^a Po odstránení zo systému Panther je nutné reagensie ihneď vrátiť do príslušných skladovacích teplôt.

- B. Nepoužité rekonštituované reagensie a cieľovú záchytnú reagensiu (TCR) zlikvidujte po 30 dňoch alebo po dátume expirácie šarže matrice, podľa toho, čo nastane skôr.
- C. Reagensie uchovávané v systéme Panther majú stabilitu v prístroji 72 hodín. Reagensie je možné vložiť do systému Panther až 5-krát. Systém Panther zapisuje každé vloženie reagensí do protokolov.
- D. Po rozmrazení kalibrátora musí byť roztok priehľadný, tzn. nie zakalený a bez precipitátov.
-  E. Aktivačná reagencia a rekonštituovaná aktivačná reagencia sú fotosenzitívne. Počas uskladnenia a prípravy na použitie chráňte tieto reagensie pred svetlom.

Odber vzoriek a skladovanie

Poznámka: So všetkými preparátmi zaobchádzajte tak, ako keby obsahovali potenciálne infekčné činitele. Používajte univerzálne bezpečnostné opatrenia.

Poznámka: Pri manipulácii so vzorkami je nutné predísť krížovej kontaminácii. Napríklad, použitý materiál zlikvidujte bez toho, aby ste prechádzali ponad otvorené skúmavky.

Poznámka: Na skladovanie odporúčame iba plastové sekundárne skúmavky.

Je možné použiť vzorky plnej krvi odobrané do nasledujúcich sklenených alebo plastových skúmaviek:

- Skúmavky obsahujúce kyselinu etyléndiamintetraoctovú (EDTA) alebo angikoagulačný roztok citrátovanej dextrózy (ACD) alebo
- skúmavky na prípravu plazmy (PPT)
- Sérové skúmavky
- Skúmavky na separáciu séra (SST)

U séra ponechajte pred ďalším spracovaním vytvoriť zrazeninu.

A. Odber vzoriek

Plnú krv je možné skladovať pri teplote 2 °C až 30 °C a je nutné ju centrifugovať do 6 hodín od odberu vzoriek. Separujte plazmu alebo sérum od peletovaných erytrocytov podľa pokynov výrobcu použitej skúmavky. Plazmu alebo sérum je možné otestovať v systéme Panther v primárnej skúmavke alebo preniesť do sekundárnej skúmavky, ako napr. skúmavka na alikvotáciu vzoriek Aptima. Minimálny objem plazmy alebo séra v primárnych odberových skúmavkách je až 1 200 µl a v sekundárnych skúmavkách je minimálny objem 700 µl, aby ste získali reakčný objem 500 µl. Nasledujúca tabuľka identifikuje požiadavky na mŕtvy objem pre každý typ primárnej a sekundárnej skúmavky.

Skúmavka (veľkosť a typ)	Mŕtvy objem na systéme Panther
Alikvotačná skúmavka vzorky Aptima (SAT)	0,2 ml
12 x 75 mm	0,5 ml
13 x 100 mm	0,5 ml
13 x 100 mm s géloom	0,3 ml
16 x 100 mm s géloom	0,7 ml

Ak nevykonáte testovanie ihneď, plazmu a sérum je možné skladovať v súlade so špecifikáciami nižšie. Pri prenose do sekundárnej skúmavky je možné plazmu alebo sérum zmraziť na teplotu –20 °C. Neprekračujte 3 cykly zmrazenia-rozmrazenia. Nezmrazujte vzorky v EDTA, ACD alebo sérových primárnych odberových skúmavkách.

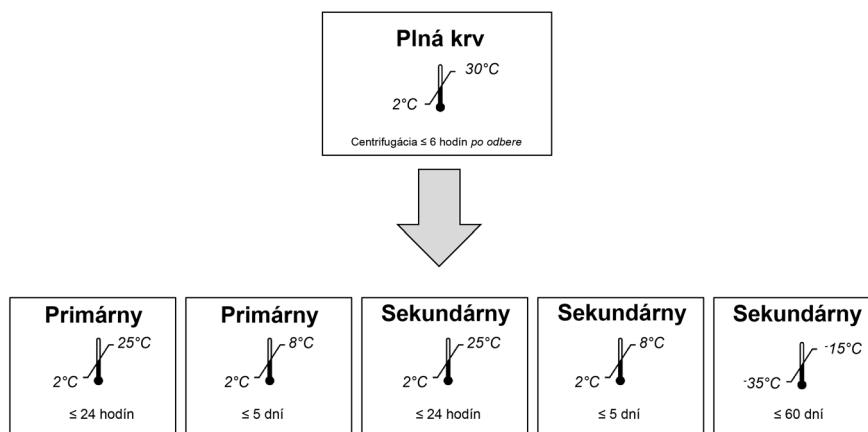
B. Podmienky pre odber vzoriek

1. Vzorky plazmy s EDTA a ACD

Plnú krv je možné skladovať pri teplote 2 °C až 30 °C a je nutné ju centrifugovať do 6 hodín od odberu vzoriek. Plazmu je možné následne uchovávať v jednom z nasledujúcich prostredí:

- V primárnej odberovej skúmavke alebo sekundárnej skúmavke pri teplote 2 °C až 25 °C po dobu až 24 hodín,
- v primárnej odberovej skúmavke alebo sekundárnej skúmavke pri teplote 2 °C až 8 °C po dobu až 5 dní alebo

- v sekundárnej skúmavke pri teplote $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ po dobu až 60 dní.

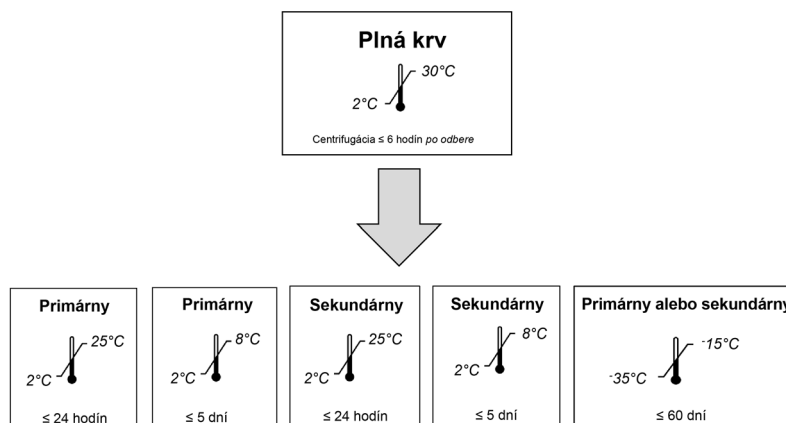


Obrázok 1. Podmienky skladovania pre skúmavky s EDTA/ACD

2. Vzorky PPT

Plnú krv je možné skladovať pri teplote $2\text{ }^{\circ}\text{C}$ až $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ a je nutné ju centrifugovať do 6 hodín od odberu vzoriek. Plazmu je možné následne uchovávať v jednom z nasledujúcich prostredí:

- V primárnej odberovej skúmavke alebo sekundárnej skúmavke pri teplote $2\text{ }^{\circ}\text{C}$ až $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ po dobu až 24 hodín,
- v primárnej odberovej skúmavke alebo sekundárnej skúmavke pri teplote $2\text{ }^{\circ}\text{C}$ až $8\text{ }^{\circ}\text{C}$ po dobu až 5 dní alebo
- v primárnej odberovej skúmavke alebo sekundárnej skúmavke pri teplote $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ po dobu až 60 dní.

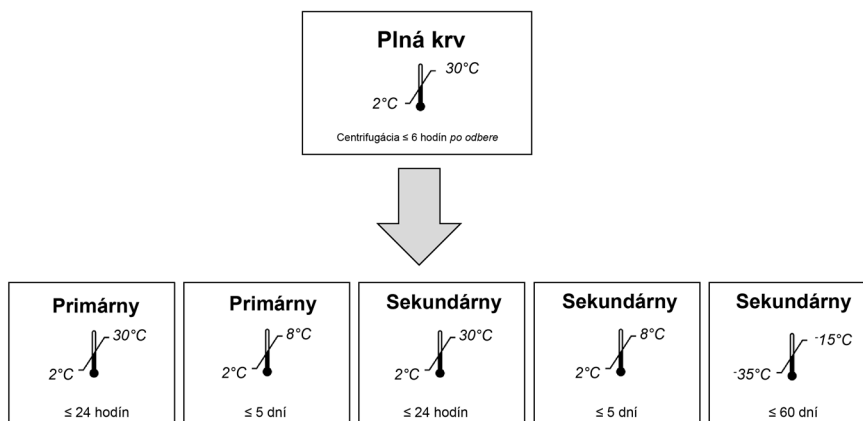


Obrázok 2. Podmienky skladovania pre PPT

3. Vzorky v sérových skúmavkách

Plnú krv je možné skladovať pri teplote 2 °C až 30 °C a je nutné ju centrifugovať do 6 hodín od odberu vzoriek. Sérum je možné následne uchovávať v jednom z nasledujúcich prostredí:

- V primárnej odberovej skúmavke alebo sekundárnej skúmavke pri teplote 2 °C až 30 °C po dobu až 24 hodín,
- v primárnej odberovej skúmavke alebo sekundárnej skúmavke pri teplote 2 °C až 8 °C po dobu až 5 dní alebo
- v sekundárnej skúmavke pri teplote –20 °C po dobu až 60 dní.

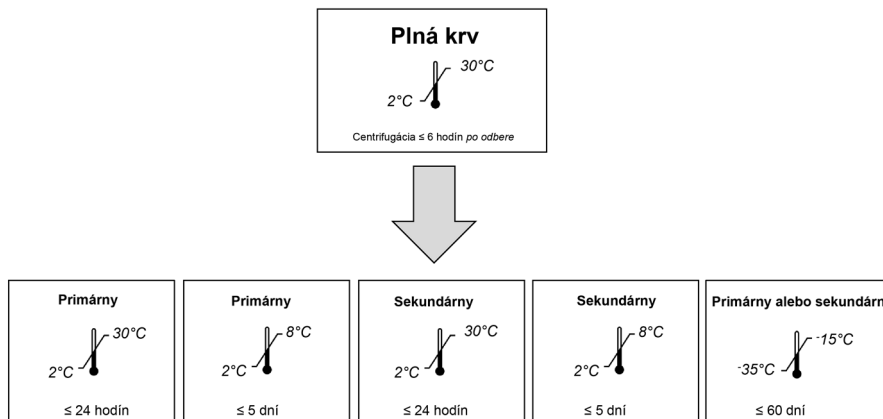


Obrázok 3. Podmienky skladovania pre sérové skúmavky

4. Vzorky SST

Plnú krv je možné skladovať pri teplote 2 °C až 30 °C a je nutné ju centrifugovať do 6 hodín od odberu vzoriek. Sérum je možné následne uchovávať v jednom z nasledujúcich prostredí:

- V primárnej odberovej skúmavke alebo sekundárnej skúmavke pri teplote 2 °C až 30 °C po dobu až 24 hodín,
- v primárnej odberovej skúmavke alebo sekundárnej skúmavke pri teplote 2 °C až 8 °C po dobu až 5 dní alebo
- v primárnej odberovej skúmavke alebo sekundárnej skúmavke pri teplote –20 °C po dobu až 60 dní.




Obrázok 4. Podmienky skladovania pre SST

C. Dlhodobé skladovanie v zmrazenom stave

Vzorky plazmy alebo séra je možné skladovať pri teplote -70 °C až 60 dní v SAT.

D. Riedenie vzoriek plazmy a séra

Vzorky plazmy a séra je možné riediť v SAT alebo sekundárnej skúmavke na testovanie na systéme Panther. Viac informácií nájdete v časti *Postup testovania systému Panther*, krok E.6.

 *Riedenie vzoriek plazmy a séra je možné použiť iba na kvantitatívne výsledky. Neriedte vzorky plazmy ani séra, ak chcete získať diagnostické výsledky.*

Poznámka: Ak je vzorka nariadená, je nutné test vykonať ihneď po riedení. Nezmrazujte nariadené vzorky.

Vzorky v systéme Panther

Vzorky je možné ponechať v systéme Panther neuzatvorené až 8 hodín. Vzorky je možné vytiahnuť zo systému Panther a otestovať, kým celková doba v prístroji neprekročí 8 hodín pred pipetovaním vzorky systémom Panther.

Preprava preparátov

Udržujte podmienky pre skladovanie vzorky podľa popisu v časti *Odber vzoriek a skladovanie*.

Poznámka: Vzorky sa musia prepravovať v súlade s platnými národnými, medzinárodnými a regionálnymi usmerneniami ohľadom prepravy.

Systém Panther

Reagencie pre Aptima HPV sú uvedené pod systémom Panther. Identifikačné symboly reagencií sú uvedené aj vedľa názvu reagencií.

Poskytnuté reagencie a materiály

Poznámka: Informácie o nebezpečenstvách a bezpečnostných opatreniach, ktoré môžu byť spojené s reagentami, nájdete v knižnici dátových bezpečnostných listov na stránkach www.hologic.com/sds.

Súprava testu Aptima HCV Quant Dx, 100 testov, kat. Č. PRD-03506

(1 krabica testu, 1 súprava kalibrátora a 1 súprava kontrol)

Ďalšie kalibrátory a kontroly je možné objednať samostatne. Nižšie nájdete príslušné katalógové čísla.

Krabica testu Aptima HCV Quant Dx

(po prijatí uchovávať pri teplote 2 °C až 8 °C)

Symbol	Komponent	Množstvo
A	Amplifikačná reagentia qHCV <i>Neinfekčné nukleové kyseliny sušené v pufrovanom roztoku.</i>	1 liekovka
E	Enzymatická reagentia qHCV <i>Reverzná transkriptáza a RNA polymeráza sušené v HEPES pufrovanom roztoku.</i>	1 liekovka
PRO	Aktivačná reagentia qHCV <i>Neinfekčné nukleové kyseliny sušené v pufrovanom roztoku.</i>	1 liekovka
AR	Rekonštitučný roztok na amplifikáciu qHCV <i>Vodný roztok obsahujúci glycerol a konzervačné látky.</i>	1 x 7,2 ml
ER	Enzymatický rekonštitučný roztok na qHCV <i>Pufrovaný roztok HEPES obsahuje povrchovo aktívnu látku a glycerol.</i>	1 x 5,8 ml
PROR	Aktivačný rekonštitučný roztok na qHCV <i>Vodný roztok obsahujúci glycerol a konzervačné látky.</i>	1 x 4,5 ml
TCR	Cieľová záchytná reagentia qHCV <i>Nukleové kyseliny v pufrovanom fyziologickom roztoku obsahujúcom pevnú fázu, neinfekčné nukleové kyseliny a interný kalibrátor.</i>	1 x 72,0 ml
	Rekonštitučné prstence	3
	List hlavného čiarového kódu	1 list

Súprava kalibrátora Aptima HCV Quant Dx (kat. č. PRD-03507)

(po prijatí uchovávať pri teplote -15 °C až -35 °C)

Symbol	Komponent	Množstvo
PCAL	Pozitívny kalibrátor qHCV <i>Transkript v pufrovanom roztoku.</i>	5 x 2,5 ml
	Štítok s čiarovým kódom kalibrátora	—

Súprava kontrol Aptima HCV Quant Dx (kat. č. PRD-03508)

(po prijatí uchovávať pri teplote -15 °C až -35 °C)

Symbol	Komponent	Množstvo
NC	Negatívna kontrola qHCV <i>HCV negatívna defibrinovaná ľudská plazma obsahujúca gentamicín a 0,2 % azid sodný ako konzervanty</i>	5 x 0,8 ml
LPC	Nízka pozitívna kontrola qHCV <i>Neinfekčná HCV obrnená RNA v defibrinovanej ľudskej plazme obsahujúcej gentamicín a 0,2 % azid sodný ako konzervanty</i>	5 x 0,8 ml
HPC	Vysoká pozitívna kontrola qHCV <i>Neinfekčná HCV obrnená RNA v defibrinovanej ľudskej plazme obsahujúcej gentamicín a 0,2 % azid sodný ako konzervanty</i>	5 x 0,8 ml
	Štítok s čiarovým kódom kontroly	—

Nutné materiály dostupné samostatne

Poznámka: Materiály dostupné od spoločnosti Hologic majú uvedené katalógové čísla, pokiaľ nie je uvedené inak.

Materiál	Kat. č.
Systém Panther	—
Súprava chodu Panther pre testy v reálnom čase (iba pre testy v reálnom čase)	PRD-03455 (5 000 testov)
<i>Súprava kvapalín testu Aptima (takisto označovaná ako súprava univerzálnych kvapalín) obsahuje premývací roztok Aptima, pufer na deaktiváciu kvapaliny Aptima, a olejovú reagensiu Aptima.</i>	303014 (1 000 testov)
<i>Viacskúmavkové jednotky (MTU)</i>	104772-02
<i>Súprava odpadových vriec Panther</i>	902731
<i>Kryt odpadkového koša Panther</i>	504405
Alebo súprava chodu Panther <i>(pri spracovávaní testov TMA nevykonávaných v reálnom čase súčasne s testami TMA v reálnom čase) obsahuje MTU, odpadové vrecia, kryty odpadkového koša, kvapaliny na automatickú detekciu a testové kvapaliny</i>	303096 (5 000 testov)
Špičky, vodivosť 1 000 µl, vnímanie kvapaliny	10612513 (Tecan)
Bielidlo, 5 % až 7 % (0,7 M až 1,0 M) roztok chlórnanu sodného	—
Jednorazové bezpráškové rukavice	—
Náhradné nepreniknuteľné uzávery	103036A
Náhradné uzávery na reagensie <i>Fľaše na rekonštitučný roztok pre amplifikačnú, enzymatickú a aktivačnú reagensiu CL0041 (100 uzáverov)</i>	
<i>Fľaštička TCR</i>	<i>CL0040 (100 uzáverov)</i>
Plastové kryty na laboratórne stoly	—
Utierky nepúšťajúce vlas	—
Pipetovač	—
Špičky	—
Možnosti pre primárne odberové skúmavky:	
<i>13 mm x 100 mm</i>	—
<i>13 mm x 75 mm</i>	—
<i>16 mm x 100 mm</i>	—
Centrifúga	—
Vortexová miešačka	—

Voliteľné materiály

Materiál	Kat. č.
Možnosti pre sekundárnu skúmavku:	
12 mm x 75 mm	—
13 mm x 100 mm	—
16 mm x 100 mm	—
Alikvotačné skúmavky vzorky Aptima (SAT) (balenie po 100 kusoch)	503762
Uzáver prepravnej skúmavky (balenie po 100 kusoch) uzáver pre SAT	504415
Riediaci prípravok na vzorky Aptima	PRD-03003
Súprava riediaceho prípravku na vzorky Aptima obsahuje riediaci prípravok na vzorky, 100 SAT a 100 uzáverov	PRD-03478
Transferové pipety	—
Komerčne dostupné panely, napr.: HCV z kontroly kvality pre molekulárnu diagnostiku (QCMD) alebo Panely SeraCare ACCURUN HCV	—
Vatové tyčinky	—
Trepačka skúmaviek	—

Postup testovania systému Panther

Poznámka: Ďalšie informácie o postupoch nájdete v Príručke operátora systému Panther.

A. Príprava pracovnej oblasti

1. Vyčistíte pracovné povrchy, kde budú pripravené reagensy. Pracovné plochy utrite 2,5 % až 3,5 % (0,35 M až 0,5 M) roztokom chlórnanu sodného. Roztok chlórnanu sodného nechajte minimálne 1 minútu v kontakte s povrchmi a potom opláchnite deionizovanou (DI) vodou. Nedovoľte, aby roztok chlórnanu sodného vyschol. Zakryte povrch pracovného stola čistými absorpčnými krytmi na laboratórny stôl podlepenými plastom.
2. Vyčistíte samostatný pracovný povrch, kde budete pripravovať vzorky. Postupujte podľa pokynov vyššie (krok A.1).
3. Vyčistíte prípadné pipety. Pri čistení postupujte podľa pokynov vyššie (krok A.1).

B. Príprava kalibrátora a kontrol

Pred spracovaním ponechajte kalibrátor a kontroly dosiahnuť teplotu 15 °C až 30 °C:

1. Vytiahnite kalibrátor a kontroly zo skladovacieho priestoru (–15 °C až –35 °C) a uložte ich do prostredia s teplotou 15 °C až 30 °C. Po celú dobu rozmrazovania jemne prevráťte každú skúmavku a starostlivo premiešajte. Pred použitím sa uistite, že je obsah skúmavky plne rozmrazený.

Možnosť. Skúmavky kalibrátora a kontrol je možné vložiť do trepačky a nechať tak dobre premiešať. Pred použitím sa uistite, že je obsah skúmavky plne rozmrazený.

Poznámka: Pri prevracaní kalibrátora a kontrol nevytvárajte nadmernú penu. Pena interferuje so snímaním hladiny v systéme Panther.

2. Po rozmrazení obsahu skúmavky vysušte vnútro skúmavky čistou suchou jednorazovou utierkou.
3. Zatiaľ skúmavky neotvárajte, aby nedošlo ku kontaminácii.

C. Rekonštitúcia/príprava reagensí novej súpravy

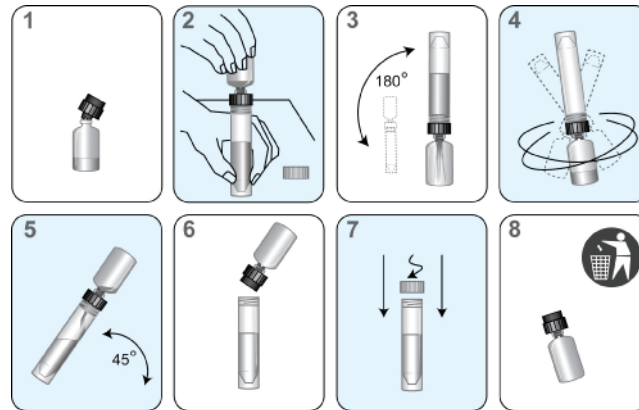
Poznámka: Rekonštitúciu reagensí je nutné vykonať pred zahájením akýchkoľvek postupov na systéme Panther.

1. Pri príprave cieľovej záchytnej reagensie (TCR) postupujte nasledovne:
 - a. Vytiahnite TCR zo skladovacieho priestoru (2 °C až 8 °C). Skontrolujte číslo šarže na fľaši s TCR, aby ste zaistili, že sa zhoduje s číslom šarže na liste čiarových kódov hlavnej šarže.
 - b. Fľaštičku s TCR ihneď starostlivo 10-krát premiešajte. Ponechajte fľaštičku TCR v prostredí s teplotou 15 °C až 30 °C minimálne 45 minút, aby sa zahriala. Po toto obdobie miešajte fľaštičku TCR vírením a prevracaním minimálne raz za 10 minút.

Možnosť. Fľaštičku TCR je možné pripraviť na trepačke nasledujúcim postupom: Vytiahnite fľaštičku TCR zo skladovacieho prostredia (2 °C až 8 °C) a ihneď starostlivo 10-krát pretrepte. Vložte TCR fľaštičku na miešačku a ponechajte TCR pri teplote 15 °C až 30 °C zahriať minimálne 45 minút.
 - c. Pred použitím sa uistite, že sa všetok precipitát dostal do roztoku a že sú magnetické čiastočky suspendované.
2. Pri rekonštitúcii amplifikačných, enzymatických a aktivačných činidiel postupujte nasledovne:
 - a. Vytiahnite lyofilizované reagensie a príslušné rekonštitučné roztoky zo skladovacieho priestoru (2 °C až 8 °C). Každý rekonštitučný roztok spárujte s príslušnou lyofilizovanou reagensiou.
 - b. Skontrolujte, že rekonštitučný roztok a lyofilizovaná reagensia majú zodpovedajúce farby štítkov. Skontrolujte čísla šarží na liste čiarových kódov hlavnej šarže, aby ste sa uistili, že sú spárované príslušné činidlá.
 - i. Otvorte ampulku lyofilizovanej reagensie odstránením kovovej pečate a gumovej zátky.
 - ii. Pevne pripojte koniec rekonštitučnej objímky so zárezom (čierny) na ampulku (Obrázok 5, krok 1).
 - iii. Otvorte príslušnú fľašu s rekonštitučným roztokom a nasadte uzáver na čistý, zakrytý pracovný povrch.
 - iv. Uložte fľašu s rekonštitučným roztokom na stabilný povrch (tzn. stôl). Následne prevráťte ampulku s lyofilizovanou reagensiou cez fľaštičku s rekonštitučným roztokom a pevne pripojte objímku k fľaštičke s rekonštitučným roztokom (Obrázok 5, krok 2).
 - v. Pomaly prevráťte pripojené fľaštičky (ampulka pripojená k fľaštičke s roztokom), aby roztok vtielol do sklenenej ampulky (Obrázok 5, krok 3).
 - vi. Zdvihnite prepojené hadičky a vírte nimi aspoň 10 sekúnd (Obrázok 5, krok 4).
 - vii. Počkajte minimálne 30 sekúnd, než sa lyofilizovaná reagensia dostane do roztoku.
 - viii. Po vstupe lyofilizovanej reagensie do roztoku vírte zostavenými fľaštičkami minimálne 10 sekúnd. Potom ľahkým nakláňaním sklenenej ampulky dopredu a dozadu dobre premiešajte roztok.
 - c. Pomaly znovu nakloňte prepojené fľaštičky, aby všetok roztok stieklo späť do fľaštičky na rekonštitučný roztok (Obrázok 5, krok 5).
 - d. Opatrne odstráňte rekonštitučný prstenec a sklenenú liekovku (Obrázok 5, krok 6).
 - e. Znovu uzatvorte fľaštičku. Na štítku zaznamenajte údaje operátora a dátum rekonštitúcie (Obrázok 5, krok 7).

f. Rekonštitučnú objímku a sklenenú liekovku zlikvidujte (obrázok 5, krok 8).

Varovanie: Pri rekonštitúcii reagensí zabráňte nadmernému peneniu. Pena interferuje so snímaním hladiny v systéme Panther.



Obrázok 5. Proces rekonštitúcie reagensie

D. Príprava reagensí pre predtým pripravené reagensie

1. Vytiahnite predtým pripravené reagensie zo skladovacieho priestoru (2 °C až 8 °C).
2. Predtým pripravené amplifikačné, enzymatické a aktivačné reagensie a TCR musia dosiahnuť teplotu 15 °C až 30 °C pred začiatkom testu.
3. U predtým pripraveného TCR postupujte pred vložením do systému podľa kroku C.1.
4. Vírením a prevrátením amplifikačnej, enzymatickej a aktivačnej reagensie starostlivo premiešajte pred vložením do systému. Pri prevracaní reagensí zabráňte nadmernému peneniu.
5. Fľašky reagensí nedopĺňajte. Systém Panther rozpozná a odmietne fľaše, ktoré boli doplnené.

E. Manipulácia so vzorkami

1. Skontrolujte, že spracované vzorky v primárnych skúmavkách alebo neriedené vzorky v sekundárnych skúmavkách boli adekvátne uskladnené podľa „Odber vzoriek a skladovanie“ na strane 7.
2. Uistite sa, že sú zmrazené vzorky adekvátne rozmrazené. Poriadne premiešajte rozmrazené vzorky v trepačke po dobu 3 až 5 sekúnd.
3. Pred spracovaním ponechajte vzorky dosiahnuť teplotu 15 °C až 30 °C. Ďalšie informácie o položkách v prístroji nájdete v časti *Vzorky v systéme Panther*.
4. Uistite sa, že každá primárna odberová skúmavka obsahuje až 1 200 µl vzorky alebo každá SAT obsahuje minimálne 700 µl vzorky. Tabuľka v časti *Odber vzoriek* na strane 7 identifikuje požiadavky na mŕtvý objem pre každý typ primárnej a sekundárnej skúmavky. Ak je nutné riedenie vzorky, preštudujte si ďalšie informácie v kroku E.6 nižšie.
5. Pred vložením vzoriek do stojana na vzorky centrifugujte každú vzorku pri 1 000 až 3 000 g po dobu 10 minút. Neodstraňujte uzávery. Bubliny v skúmavke môžu interferovať so snímaním hladiny v systéme Panther.

Informácie o plnení stojana a odstraňovaní uzáverov nájdete v časti *Príprava systému*, krok F.2 nižšie.

6. Nariedte vzorku plazmy alebo séra v pomere 1 : 3 v SAT alebo 1 : 100 v sekundárnej skúmavke.

Vzorky je možné riediť v sekundárnej skúmavke na testovanie v systéme Panther.

- ⚠ Riedenie vzoriek je možné použiť iba na kvantitatívne výsledky. Neriedte vzorky, ak chcete získať diagnostické výsledky.

Poznámka: Ak je vzorka nariedená, je nutné test vykonať ihneď po riedení.

a. Riedenie nízkoobjemových vzoriek

Objem vzoriek je možné zvýšiť na minimálny požadovaný objem (700 µl) pomocou riediaceho prípravku na vzorky Aptima. Vzorky s minimálnym objemom 240 µl je možné nariediť dvomi dielmi prípravku na riedenie vzoriek (1 : 3) nasledovne:

- i. Vložte 240 µl vzorky do SAT.
- ii. Pridajte 480 µl riediaceho prípravku na vzorky Aptima.
- iii. Uzatvorte skúmavku.
- iv. Premiešajte 5-násobným jemným prevrátením.

Vzorky nariedené v pomere 1 : 3 je možné testovať pomocou možnosti 1 : 3 na systéme Panther (ďalšie informácie nájdete v *prevádzkovej príručke systému Panther*). Software automaticky nahlásí čistý výsledok po korekcii faktorom riedenia. Tieto vzorky budú označené ako nariedené vzorky.

b. Riedenie vzoriek s vysokým titrom

Ak je výsledok vzorky nad horným limitom kvantifikácie, je ho možné nariediť 99 dielmi riediaceho prípravku na vzorky Aptima (1 : 100) nasledovne:

- i. Vložte 30 µl vzorky do SAT alebo sekundárnej skúmavky.
- ii. Pridajte 2 970 µl riediaceho prípravku na vzorky Aptima.
- iii. Uzatvorte skúmavku.
- iv. Premiešajte 5-násobným jemným prevrátením.

Vzorky nariedené v pomere 1 : 100 je možné testovať pomocou možnosti 1 : 100 na systéme Panther (ďalšie informácie nájdete v *prevádzkovej príručke systému Panther*). Software automaticky nahlásí čistý výsledok po korekcii faktorom riedenia. Tieto vzorky budú označené ako nariedené vzorky.

Poznámka: U riedených vzoriek s čistou koncentráciou vyššou než ULoQ budú výsledky hlásené vo vedeckom formáte.

F. Príprava systému

1. Nastavte systém podľa pokynov uvedených v *príručke pre operátora systému Panther* a v časti *Poznámky k postupu*. Uistite sa, že sú použité reagenčné stojany s vhodnou veľkosťou a adaptéry TCR.
2. Vložte vzorky do stojana na vzorky. Vykonajte nasledujúce kroky pre každú skúmavku na vzorky (vzorka a v prípade potreby kalibrátor a kontroly):
 - a. Uvoľnite uzáver jednej skúmavky na vzorky, ale neodstraňujte ho.

Poznámka: Zvláštnu pozornosť venujte prevencii šírenia kontaminácie formou aerosólu. Jemne uvoľnite uzáveru na vzorkách.
 - b. Vložte skúmavku na vzorky do stojana na vzorky.
 - c. Zopakujte kroky 2.a a 2.b pre každú zostávajúcu vzorku.
 - d. Po vložení vzoriek do stojana na vzorky vyťahnite a zlikvidujte každý uzáver skúmavky na vzorky v jednom stojane na vzorky. Aby ste predišli kontaminácii, nemanipulujte uzáverom nad žiadnymi inými stojanmi na vzorky ani skúmavkami na vzorky.

- e. V prípade potreby odstráňte prípadné bubliny alebo penu pomocou novej jednorazovej prenosovej pipety.
- f. Po odstránení posledného uzáveru vložte stojan na vzorky do rezervoára na vzorky.
Poznámka: Ak súčasne spracovávate ďalšie testy a typy vzoriek, zaistite zachytávač vzoriek pred vložením stojana na vzorky do rezervoára na vzorky.
- g. Zopakujte kroky 2.a až 2.f pre ďalší stojan na vzorky.

Poznámky k postupu

A. Kalibrátor a kontroly

1. Skúmavky obsahujúce pozitívny kalibrátor qHCV, nízku pozitívnu kontrolu qHCV, vysokú pozitívnu kontrolu qHCV a negatívnu kontrolu qHCV je možné vložiť do akejkoľvek polohy v stojane na vzorky a do akejkoľvek dráhy rezervoára na vzorky v systéme Panther. Pipetovanie vzorky sa začne, keď je splnená jedna z nasledujúcich dvoch podmienok:
 - a. Kalibrátor a kontroly sú v súčasnosti spracovávané systémom.
 - b. Platné výsledky pre kalibrátor a kontroly sú zaregistrované v systéme.
2. Po pipetovaní skúmaviek s kalibrátorom a kontrolou a ich spracovaní pre súpravu reagensov testu Aptima HCV Quant Dx je možné vzorky testovať pomocou spojenej rekonštitučnej súpravy až 24 hodín, **pokiaľ nenastane nasledujúce:**
 - a. Výsledky kalibrátora alebo kontroly sú neplatné.
 - b. Súprava pridruženej testovacej reagensie sa odstráni zo systému.
 - c. Súprava pridruženej testovacej reagensie prekročila limity stability.
3. Kalibrátor a každú skúmavku kontroly je možné použiť iba raz. Pokusy o opakované použitie skúmavky môžu viesť k chybám spracovania.

B. Prášok z rukavíc

Tak ako v každom reagenčnom systéme, prebytočný prášok na niektorých rukaviciach môže spôsobiť kontamináciu otvorených skúmaviek. Odporúčajú sa bezprašné rukavice.

Kontrola kvality

Obsluha môže zrušiť platnosť chodu alebo výsledku vzorky v prípade zdokumentovaných problémov technického charakteru, s obsluhou alebo prístrojom pri vykonávaní testu. V takom prípade je nutné vzorky znovu otestovať.

Kalibrácia testu

Je nutné ukončiť kalibráciu testu, aby ste získali platné výsledky. Jeden pozitívny kalibrátor sa spracuje trikrát pri vložení každej súpravy reagensí do systému Panther. Po ukončení bude kalibrácia platná až 24 hodín. Softvér v systéme Panther upozorní obsluhu, keď bude nutné vykonať kalibráciu. Obsluha naskenuje kalibračný koeficient uvedený v hlavnom liste s čiarovými kódmi šarže dodávanom s každou súpravou reagensí.

V priebehu spracovania sú softvérom systému Panther automaticky overované kritériá pre prijateľnosť kalibrátora. Ak sú platné menej než dva replikáty kalibrátora, softvér chod automaticky vyhlási za neplatný. Vzorky v neplatnom chode je nutné znovu otestovať pomocou čerstvo pripraveného kalibrátora a čerstvo pripravených kontrol.

Negatívne a pozitívne kontroly

Aby sa vygenerovali platné výsledky, musí sa otestovať súprava kontrol rozboru. Jeden replikát negatívnej kontroly, nízkej pozitívnej kontroly a vysokej pozitívnej kontroly je nutné otestovať pri každom vložení súpravy reagensí do systému Panther. Po ukončení budú kontroly platné až 24 hodín. Softvér v systéme Panther upozorní obsluhu, keď bude nutné spracovať kontroly.

V priebehu spracovania sú softvérom systému Panther automaticky overované kritériá pre prijateľnosť kontrol. Aby boli výsledky platné, negatívna kontrola musí poskytnúť výsledok „Not Detected“ (Nedetegované) a pozitívne kontroly výsledky v rámci preddefinovaných parametrov. Ak majú akékoľvek kontroly neplatný výsledok, softvér automaticky zruší platnosť chodu. Vzorky v neplatnom chode je nutné znovu otestovať pomocou čerstvo pripraveného kalibrátora a čerstvo pripravených kontrol.

Interný kalibrátor/interná kontrola

Každá vzorka obsahuje interný kalibrátor/internú kontrolu (IC). V priebehu spracovania softvér systému Panther automaticky overí kritériá prijateľnosti IC. Ak je výsledok IC neplatný, výsledok vzorky bude neplatný tiež. Každú vzorku s neplatným výsledkom IC je nutné znovu otestovať, aby ste dostali platný výsledok.

Softvér systému Panther je navrhnutý na presnú verifikáciu procesov, keď sa vykonávajú postupy podľa pokynov poskytnutých v tomto príbalovom letáku a v *prevádzkovej príručke systému Panther*.

Interpretácia výsledkov

Systém Panther automaticky stanoví koncentráciu HCV RNA pre vzorky a kontroly porovnaním výsledkov s kalibračnou krivkou. Koncentrácie HCV RNA sú hlásené v jednotkách IU/ml a \log_{10} IU/ml. Interpretáciu výsledkov uvádza Tabuľka 1. Ak je pre riedené vzorky použité riedenie 1 : 3 alebo 1 : 100, systém Panther automaticky vypočíta koncentráciu HCV pre čistú vzorku vynásobením riedenej koncentrácie faktorom riedenia. Riedené vzorky budú označené ako riedené.

Poznámka: U riedených vzoriek sa môžu objaviť výsledky „Not Detected“ (Nedetegované) alebo „<10 detected“ (Detegované < 10) v dôsledku nariedenia vzorky na koncentráciu vyššiu, ale blízku LoD alebo LLoQ (limit detekcie alebo spodný limit kvantifikácie). Ak ste nezískali kvantitatívny výsledok, odporúčame odobrať a otestovať inú čistú vzorku.

Systém Panther neposkytuje kvalitatívny výsledok (tzn. „Reactive“ (Reaktívny) alebo „Non-reactive“ (Nereaktívny)) pre diagnostické použitie. Obsluha musí interpretovať hlásenú koncentráciu HCV RNA do kvalitatívneho výsledku (Tabuľka 1). Vzorky s výsledkami uvádzanými ako „Non Detected“ (Nedetegované) sú nereaktívne pre HCV RNA. Vzorky s výsledkami uvádzanými ako „<10 detected“ (Detegované < 10) s výsledkami v lineárnom rozsahu a > 100 000 000 (horný limit kvantifikácie) informujú, že bola detegovaná HCV RNA a tieto vzorky sú reaktívne voči HCV RNA.

Tabuľka 1: Interpretácia výsledkov

Hlásený výsledok testu Aptima HCV Quant Dx		Interpretácia koncentrácie HCV RNA	Diagnostická kvalitatívna interpretácia používateľa ^a
IU/ml	Hodnota \log_{10} ^b		
Nedetegované	Nedetegované	HBV RNA nedetegovaná.	Nereaktívne voči HCV RNA
Detegované < 10	< 1,00	HCV RNA je detegovaná, ale na úrovni pod LLoQ	Reaktívne voči HCV RNA
10 až 100 000 000	1,00 až 8,00	Koncentrácia HCV RNA je v lineárnom rozsahu 10 až 100 000 000 IU/ml.	Reaktívne voči HCV RNA
> 100 000 000	> 8,00	Koncentrácia HCV RNA je nad ULoQ.	Reaktívne voči HCV RNA
Neplatné ^c	Neplatné ^c	Pri generovaní výsledku došlo k chybe. Vzorku je nutné opätovne otestovať.	Neplatný

^a Diagnostickú interpretáciu je možné poskytnúť zo vzoriek séra alebo plazmy, ktoré neboli nariedené.

^b Hodnota je skrátená na dve desatinné hodnoty.

^c Neplatné výsledky sa zobrazia modrým farebným fontom.

Obmedzenia

- Použitie tohto rozboru je limitované na personál, ktorý je vyškolený ohľadom postupu. Nedodržanie pokynov uvedených v tejto príbalovej informácii môže viesť k chybným výsledkom.
- Spoľahlivé výsledky závisia od adekvátneho odberu preparátov, transportu, uchovávaní a spracovania.

Výkon**Limit detekcie (LoD) podľa 2. medzinárodného štandardu WHO**

Limit detekcie (LoD) testu je definovaný ako koncentrácia HCV RNA detegovaná s pravdepodobnosťou 95 % alebo vyššou podľa CLSI EP17-A2.¹⁹

LoD bol stanovený testovaním panelov 2. medzinárodného štandardu WHO pre RNA vírusu hepatitídy C (NIBSC 96/798 genotyp 1) s riedením v HCV negatívnej ľudskej plazme a sére. Testovalo sa minimálne 36 replikátov každého riedenia s každou z troch šarží reagensí, minimálne 108 replikátov na riedenie. Bola vykonaná probit analýza s cieľom získať predikované limity detekcie. Hodnoty LoD uvedené v Tabuľka 2 sú výsledkom pre šaržu reagensí s najvyšším predikovaným limitom detekcie. LoD testu Aptima HCV Quant Dx podľa 2. medzinárodného štandardu WHO je 4,3 IU/ml pre plazmu a 3,9 IU/ml pre sérum.

Tabuľka 2: Limit detekcie podľa 2. medzinárodného štandardu WHO pre HCV

Predikovaný limit detekcie	Koncentrácia (IU/ml)	
	Plazma	Sérum
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

Limit detekcie u rôznych genotypov HCV

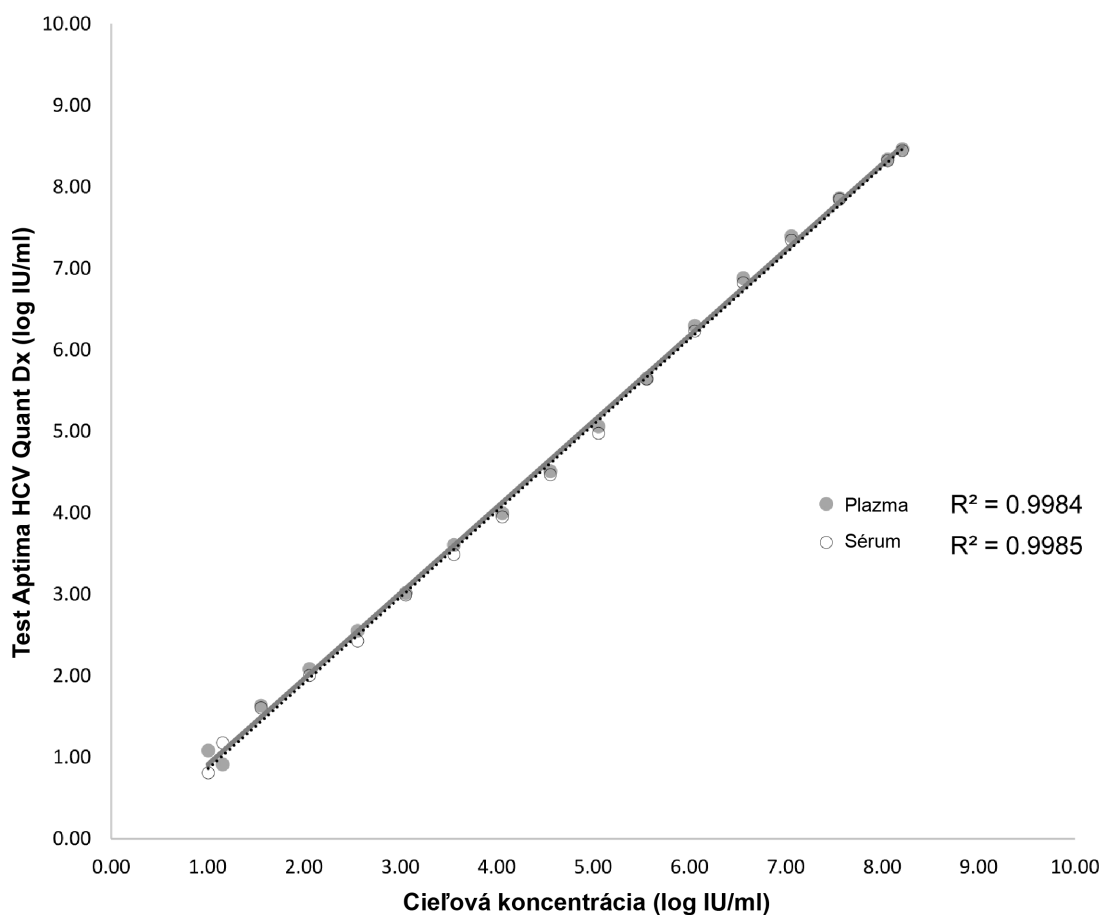
LoD bol stanovený testovaním riedení HCV pozitívnych klinických vzoriek genotypov 1, 2, 3, 4, 5 a 6 v HCV negatívnej ľudskej plazme a sére. Koncentrácie boli stanovené pomocou komparátorového testu s označením CE. Testovalo sa minimálne 20 replikátov každého člena panelu s každou z troch šarží reagensí, minimálne 60 replikátov na člen panelu. Bola vykonaná probit analýza s cieľom získať predikované limity detekcie na úrovni 50 % a 95 %. Hodnoty LoD uvedené v Tabuľka 3 sú výsledkom pre šaržu reagensí s najvyšším predikovaným limitom detekcie.

Tabuľka 3: Limit detekcie u rôznych genotypov HCV za použitia klinických vzoriek

Genotyp	Predikovaný limit detekcie	Koncentrácia (IU/ml)	
		Plazma	Sérum
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

Lineárny rozsah

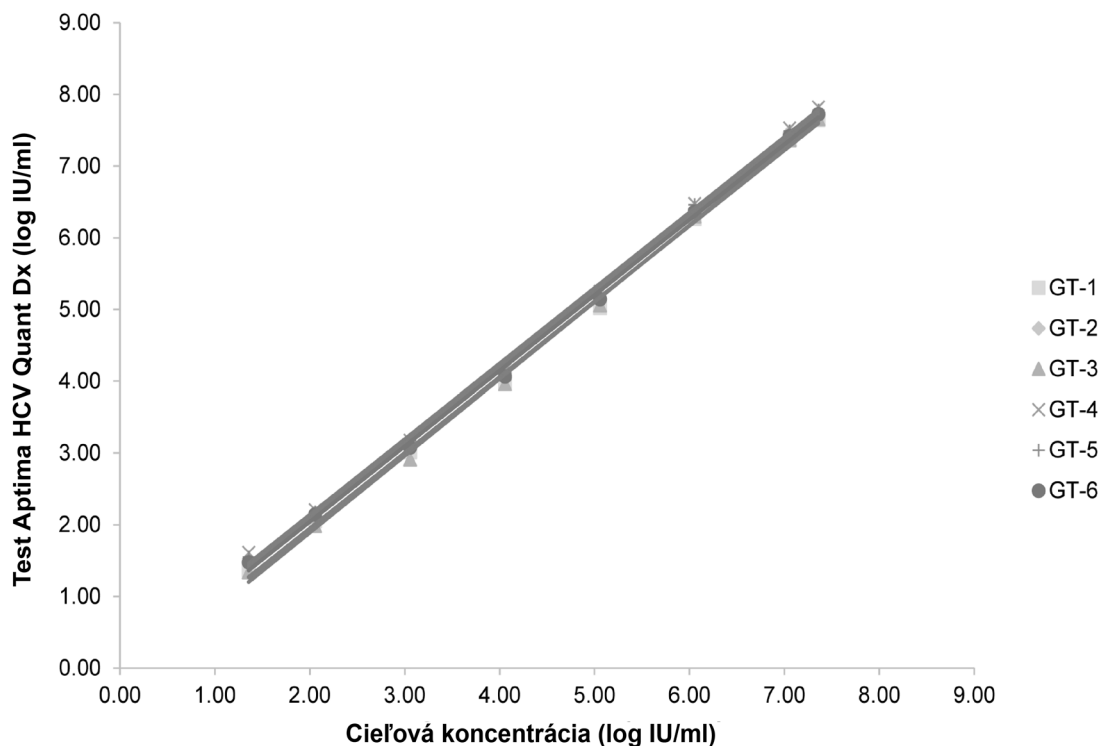
Lineárny rozsah bol stanovený testovaním panelov HCV Armored RNA riedenej v HCV negatívnych vzorkách ľudskej plazmy a séra podľa normy CLSI EP06-A.²⁰ Rozsah koncentrácií panelov bol od 1,0 log IU/ml do 8,2 log IU/ml. Test Aptima HCV Quant Dx vykazoval linearitu v testovanom rozsahu, s horným limitom kvantifikácie (ULoQ) 8,0 log IU/ml podľa Obrázok 6.



Obrázok 6. Linearita v plazme a séru

Linearita u rôznych genotypov HCV

Lineárna odozva u genotypov 1, 2, 3, 4, 5 a 6 bola potvrdená testovaním panelov HCV transkriptu nariedeného v pufri s koncentraciami v rozsahu 1,36 log IU/ml až 7,36 log IU/ml. Testovanie prebehlo na troch systémoch Panther za použitia troch šarží reagensí. Linearita bola preukázaná v testovanom rozsahu pre všetky testované genotypy podľa Obrázok 7.



Obrázok 7. Linearita u genotypov HCV 1 až 6

Spodný limit kvantifikácie podľa 2. medzinárodného štandardu WHO

Spodný limit kvantifikácie (LLoQ) je definovaný ako najnižšia koncentrácia, pri ktorej je HCV RNA spoľahlivo kvantifikovaná v rámci celkovej chyby podľa normy CLSI EP17-A2.¹⁹ Celková chyba bola odhadovaná pomocou dvoch metód: Celková analytická chyba (TAE) = |systémová chyba| + 2 SD a celková chyba (TE) = SQRT(2) x 2 SD. Celková chyba testu Aptima HCV Quant Dx bola nastavená na úrovni 1 log IU/ml (tzn. pri LLoQ je rozdiel medzi dvomi meraniami vyšší než 1 log IU/ml štatisticky významný) s cieľom zaistiť správnosť a presnosť meraní.

LLOQ bol stanovený testovaním panelov 2. medzinárodného štandardu WHO pre DNA vírusu hepatitídy B (NIBSC 96/798)1 s riedením v HCV negatívnej ľudskej plazme a sére. Testovalo sa minimálne 36 replikátov každého riedenia s každou z troch šarží reagensí, minimálne 108 replikátov na riedenie. Výsledky zo šarže reagensí s najvyššou koncentráciou rovnou alebo vyššou než LoD spĺňajúce požiadavky na TE a TAE sú uvedené v Tabuľka 4 pre plazmu a Tabuľka 5 pre sérum. LLoQ pre 2. medzinárodný štandard WHO je 7 IU/ml (0,82 log IU/ml) pre plazmu a 9 IU/ml (0,93 log IU/ml) pre sérum – pozri Tabuľka 6. LLoQ bola stanovená u rôznych genotypov (pozri ďalšia časť „Stanovenie spodného limitu kvantifikácie (LLOQ) u rôznych genotypov HCV“). Tieto genotypové údaje stanovili celkový LLoQ pre test na úrovni 10 IU/ml.

Tabuľka 4: LLoQ podľa 2. medzinárodného štandardu WHO pre HCV nariedený v plazme

Šarža reagensie	Cieľová koncentrácia	Cieľová koncentrácia	Aptima HCV Quant Dx	SD	Systémová chyba	Vypočítaná hodnota TE	Vypočítaná hodnota 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 = smerodajná odchýlka

Tabuľka 5: LLoQ podľa 2. medzinárodného štandardu WHO pre HCV nariedený v sére

Šarža reagensie	Cieľová koncentrácia	Cieľová koncentrácia	Aptima HCV Quant Dx	SD	Systémová chyba	Vypočítaná hodnota TE	Vypočítaná hodnota 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 = smerodajná odchýlka

Tabuľka 6: Súhrn pre LLoQ podľa 2. medzinárodného štandardu WHO pre HCV

Šarža reagensie	LLOQ plazmy		LLOQ séra	
	(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

Stanovenie spodného limitu kvantifikácie (LLOQ) u rôznych genotypov HCV

LLOQ bol stanovený testovaním riedení HCV pozitívnych klinických vzoriek genotypov 1, 2, 3, 4, 5 a 6 v HCV negatívnej ľudskej plazme a sére. Priradenie koncentrácie ku klinickým vzorkám bolo stanovené pomocou komparátorového testu s označením CE. Testovalo sa minimálne 36 replikátov každého člena panelu s každou z dvoch šarží reagencií, minimálne 108 replikátov na člen panelu. Výsledky zo šarže reagencií s najvyššou koncentráciou rovnou alebo vyššou než LoD spĺňajúce požiadavky na TE a TAE sú uvedené v tabuľke 7 pre plazmu a tabuľke 8 pre sérum. LLOQ pre genotypy 1 až 6 v plazme a sére sú zhrnuté v tabuľke 9. Toto stanovilo celkový LLOQ pre test na úrovni 10 IU/ml.

Tabuľka 7: Stanovenie LLOQ u rôznych genotypov v plazme

Genotyp	Cieľová koncentrácia	Cieľová koncentrácia	Aptima HCV Quant Dx	SD	Systémová chyba	Vypočítaná hodnota TE	Vypočítaná hodnota 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 = smerodajná odchýlka

Tabuľka 8: Stanovenie LLoQ u rôznych genotypov v sére

Genotyp	Cieľová koncentrácia	Cieľová koncentrácia	Aptima HCV Quant Dx	SD	Systémová chyba	Vypočítaná hodnota TE	Vypočítaná hodnota 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 = smerodajná odchýlka

Tabuľka 9: Súhrn LLoQ u rôznych genotypov v plazme a sére

HCV genotyp	LLoQ plazmy		LLoQ séra	
	(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

Presnosť

Na vyhodnotenie presnosti bol vytvorený 10-členný panel nariadením HCV pozitívnych klinických vzoriek alebo spikingom armored RNA do HCV negatívnej plazmy a séra. Panel bol testovaný tromi pracovníkmi obsluhy za použitia troch šarží reagensí v troch systémoch Panther v priebehu 21 dní.

Tabuľka 10 znázorňuje presnosť výsledkov testu (v log IU/ml) medzi prístrojmi, medzi pracovníkmi obsluhy, medzi šaržami, medzi chodmi a celkovo. Celková variabilita bola $\leq 13,31\%$ u všetkých členov panelu, primárne spôsobená variabilitou v rámci spracovania (tzn. náhodná chyba).

Tabuľka 10: Presnosť testu Aptima HCV Quant Dx

Matrica	N	Priemerná koncentrácia (log IU/ml)	Medzi prístrojmi		Medzi operátormi		Medzi šaržami		Medzi chodmi		V rámci chodov		Celkom	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Plazma	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
Plazma	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
Plazma	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
Plazma	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
Plazma	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
Sérum	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
Sérum	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
Sérum	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
Sérum	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
Sérum	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 = variačný koeficient, SD = smerodajná odchýlka

^a Počet platných výsledkov v lineárnom rozsahu testu.

Poznámka: Variabilita spojená s niektorými faktormi môže byť numericky negatívna, k čomu môže dôjsť, ak je variabilita v dôsledku týchto faktorov veľmi malá. Keď k tomu dôjde, výsledky SD a CV sa zobrazia ako 0.

Potenciálne interferujúce látky

Bola hodnotená náchylnosť testu Aptima HCV Quant Dx na interferenciu spôsobenú zvýšenými hladinami endogénnych látok alebo liečiv bežne predpisovaných pacientom infikovaným HCV. Boli testované HCV negatívne vzorky plazmy a vzorky doplnené o HCV na koncentráciu 3,3 log IU/ml HCV RNA.

Na výkone testu sa neprejavila interferencia prítomnosti albumínu (90 mg/ml), hemoglobínu (5 mg/ml), triglyceridov (30 mg/ml) ani konjugovaného hemoglobínu (0,2 mg/ml).

Klinické vzorky plazmy od pacientov so zvýšenými hladinami definovaných látok alebo od pacientov s ochoreniami uvedenými v Tabuľka 11 boli hodnotené pomocou testu Aptima HCV Quant Dx. Nebola pozorovaná interferencia vo výkone testu.

Tabuľka 11: Testované typy klinických vzoriek

Typy klinických vzoriek	
1	Reumatoidný faktor (RF)
2	Antinukleárne protilátky (ANA)
3	Protilátka anti-Jo1 (JO-1)
4	Systémový lupus erythematosus (SLE)
5	Reumatoidná artritída (RA)
6	Roztrúsená skleróza (MS)
7	Hyperglobulinémia
8	Zvýšená hladina alanínaminotransferázy (ALT)
9	Zvýšená hladina aspartátaminotransferázy (AST)
10	Alkoholická cirhóza (AC)
11	Mnohopočetný myelóm (MM)
12	Lipemická (zvýšený lipid)
13	Ikterická (zvýšený bilirubín)
14	Hemolyzovaná (zvýšený hemoglobín)
15	Zvýšená hladina albumínu
16	Protilátky proti HBV
17	Protilátky proti HIV-1
18	Protilátky proti HIV-2

Nebola pozorovaná žiadna interferencia s výkonom testu v prítomnosti exogénnych látok uvedených v Tabuľka 12 pri koncentráciách na úrovni minimálne trojnásobku C_{max} (ľudská plazma).

Tabuľka 12: Exogénne látky

Pool exogénnych látok	Testované exogénne látky
1	Telaprevir, klaritromycín, interferón alfa-2a, dolutegravir, azitromycín
2	Simeprevir, sofosbuvir
3	Efavirenz, boceprevir, pegylovaný interferón alfa-2b, emtricitabín, raltegravir, amoxicilín
4	Abakavir sulfát, ribavirín, dasabuvir, rilpivirín, rifampín/rifampicín
5	Lopinavir, tenofovir, lamivudín, valganciklovir
6	Heparín, EDTA, citrát sodný

Špecificita

Špecificita bola stanovená za použitia 198 čerstvých a 538 zmrazených HCV negatívnych klinických vzoriek. Celkom bolo testovaných 370 vzoriek plazmy a 366 vzoriek séra.

Špecificita bola vypočítaná ako percentuálny pomer HCV negatívnych vzoriek s výsledkom „Not Detected“ (Nedetegované). HCV RNA nebola detegovaná u žiadnej zo 736 vzoriek.

Špecificita bola 100 % (736/736, 95 % CI: 99,6 % – 100 %).

Tabuľka 13: Špecificita vo vzorkách plazmy a séra

	Čerstvá plazma	Zmrazená plazma	Plazma Celkom	Čerstvé Sérum	Zmrazené sérum	Sérum Celkom	Kombinované
Validne replikáty (n)	100	270	370	98	268	366	736
Nedetegované	100	270	370	98	268	366	736
Špecificita (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 = interval spoľahlivosti

Analytická špecificita

Potenciálna krížová reaktivita s patogénmi uvedenými v Tabuľka 14 bola hodnotená u HCV negatívnej ľudskej plazmy v prítomnosti alebo absencii 3,3 log IU/ml HCV RNA. Nebola pozorovaná žiadna krížová reaktivita. V prítomnosti patogénov nebola pozorovaná žiadna interferencia.

Tabuľka 14: Patogény testované na analytickú špecificitu

Patogén	Koncentrácia	
Vírus hepatitídy A	100 000	počet kópií/ml
Vírus hepatitídy B (HBV)	100 000	IU/ml ^a
Vírus hepatitídy G	1 470	PFU/ml ^b
HIV-1	100 000	počet kópií/ml
HIV-2	100 000	PFU/ml
Herpes simplex vírus 1 (HSV-1)	100 000	PFU/ml
Herpes simplex vírus 2 (HSV-2)	100 000	PFU/ml
Ľudský herpes vírus 6B	100 000	počet kópií/ml
Ľudský herpes vírus 8	2 667	TCID50 U/ml ^c
Ľudský T-bunkový lymfotropný vírus typu 1 (HTLV-1)	100 000	vp/ml ^d
Ľudský T-bunkový lymfotropný vírus typu 2 (HTLV-2)	100 000	vp/ml
Parvovírus B19	100 000	IU/ml
Západonílsky vírus	100 000	PFU/ml
Vírus dengue 1	100 000	PFU/ml
Vírus dengue 2	100 000	PFU/ml
Vírus dengue 3	100 000	PFU/ml
Vírus dengue 4	100 000	PFU/ml
Cytomegalovírus	100 000	PFU/ml
Vírus Epstein a Barrovej	100 000	počet kópií/ml
Vírus osýpok	100 000	PFU/ml
Ľudský papilomavírus	100 000	buniek/ml
Adenovírus typ 5	100 000	TCID50 U/ml
Vírus influenzy A	100 000	TCID50 U/ml
Vírus japonskej encefalitídy	nehodí sa	nehodí sa
Vírus encefalitídy St. Louis	nehodí sa	nehodí sa
Vírus encefalitídy Murray Valley	2 643	LD/ml ^e
Vírus žltej zimnice	100 000	buniek/ml

Patogén	Koncentrácia	
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	1 000 000	CFU/ml ^f
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1 000 000	CFU/ml
<i>Staphylococcus aureus</i>	1 000 000	CFU/ml
<i>Propionibacterium acnes</i>	1 000 000	CFU/ml
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1 000 000	CFU/ml
<i>Candida albicans</i>	1 000 000	CFU/ml
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1 000 000	CFU/ml
<i>Chlamydia trachomatis</i>	1 000 000	IFU/ml ^g
<i>Trichomonas vaginalis</i>	1 000 000	buniek/ml

^aIU/ml = medzinárodné jednotky na ml

^bPFU/ml = počet jednotiek tvoriacich plak na ml

^cTCID50 U/ml = jednotky infekčnej dávky pre tkanivovú kultúru na ml

^dvp/ml = viriónov na ml

^eLD/ml = letálna dávka na ml

^fCFU/ml = počet jednotiek tvoriacich kolónie na ml

^gIFU/mô = počet jednotiek tvoriacich inklúzie na ml

Klinické vzorky obsahujúce vírusy iné než HCV

Patogény uvedené v Tabuľka 15 prešli hodnotením pomocou individuálnych prirodzene infikovaných klinických vzoriek. Boli testované v prítomnosti alebo absencii 3,3 log IU/ml HCV RNA. Nebola pozorovaná žiadna krížová reaktivita. Nebola pozorovaná žiadna interferencia.

Tabuľka 15: Klinické vzorky testované na analytickú špecificitu

Mikroorganizmus	Matrica	N (darcovia)
HBV	sérum	5
HBV	plazma	5
Vírus dengue	plazma	10
Vírus hepatitídy A	plazma	10
HTLV-1	plazma	10
HTLV-2	plazma	10
HIV-1	plazma	10
Západonílsky vírus	plazma	10

Opakovateľnosť klinických vzoriek

Opakovateľnosť bola hodnotená testovaním troch replikátov prirodzene infikovaných klinických vzoriek HCV pozitívnej plazmy a séra. Priemerná koncentrácia a smerodajné odchýlky pre testované vzorky plazmy a séra sú uvedené v Tabuľky 16, resp. 17.

Tabuľka 16: Opakovateľnosť klinických vzoriek plazmy Tabuľka 17: Opakovateľnosť klinických vzoriek séra

ID vzorky plazmy	Priemerná koncentrácia (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

ID vzorky séra	Priemerná koncentrácia (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 ^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

^aVýsledok dvoch z troch testovaných replikátov. Odstránený jeden mimoležiaci replikát.

Riedenie vzorky pomocou riediaceho prípravku na vzorky

Na hodnotenie záchyty HCV RNA vo vzorkách nariadených pomocou riediaceho prípravku na vzorky Aptima boli vzorky plazmy a séra v lineárnom rozsahu nariadené v pomere 1 : 3 s riediacim prípravkom na vzorky Aptima. Okrem toho boli prirodzene infikované klinické vzorky s vysokým titrom a vzorky s pridanou Armored RNA s koncentraciami nad ULoQ nariadené v pomere 1 : 100 s riediacim prípravkom na vzorky Aptima. Každá vzorka bola trikrát testovaná čistá a nariadená (1 : 3 alebo 1 : 100). Rozdiely medzi priemernou hlásenou koncentraciou (výsledok nariadenej vzorky korigovaný faktorom riedenia) a priemernou čistou koncentraciou uvádza Tabuľka 18 pre plazmu a Tabuľka 19 pre sérum. Koncentrácie vzoriek boli v nariadených vzorkách správne zachytené.

Tabuľka 18: Riedenie vzorky s riediacim prípravkom na vzorky Aptima v plazme

Riedenie	Priemerná čistá koncentrácia (log IU/ml)	Priemerná hlásená koncentrácia ^a (log IU/ml)	Rozdiel
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

^aHlásená koncentrácia je hodnota vypočítaná po korekcii faktorom riedenia.

^bDoplnená vzorka.

Poznámka: Všetky výsledky > 8,00 log IU/ml boli odhadované pomocou ďalšej analýzy.

Tabuľka 19: Riedenie vzorky s riediacim prípravkom na vzorky Aptima v sére

Faktory riedenia	Priemerná čistá Koncentrácia (log IU/ml)	Priemerná hlásená koncentrácia ^a (log IU/ml)	Rozdiel
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

^aHlásená koncentrácia je hodnota vypočítaná po korekcii faktorom riedenia.

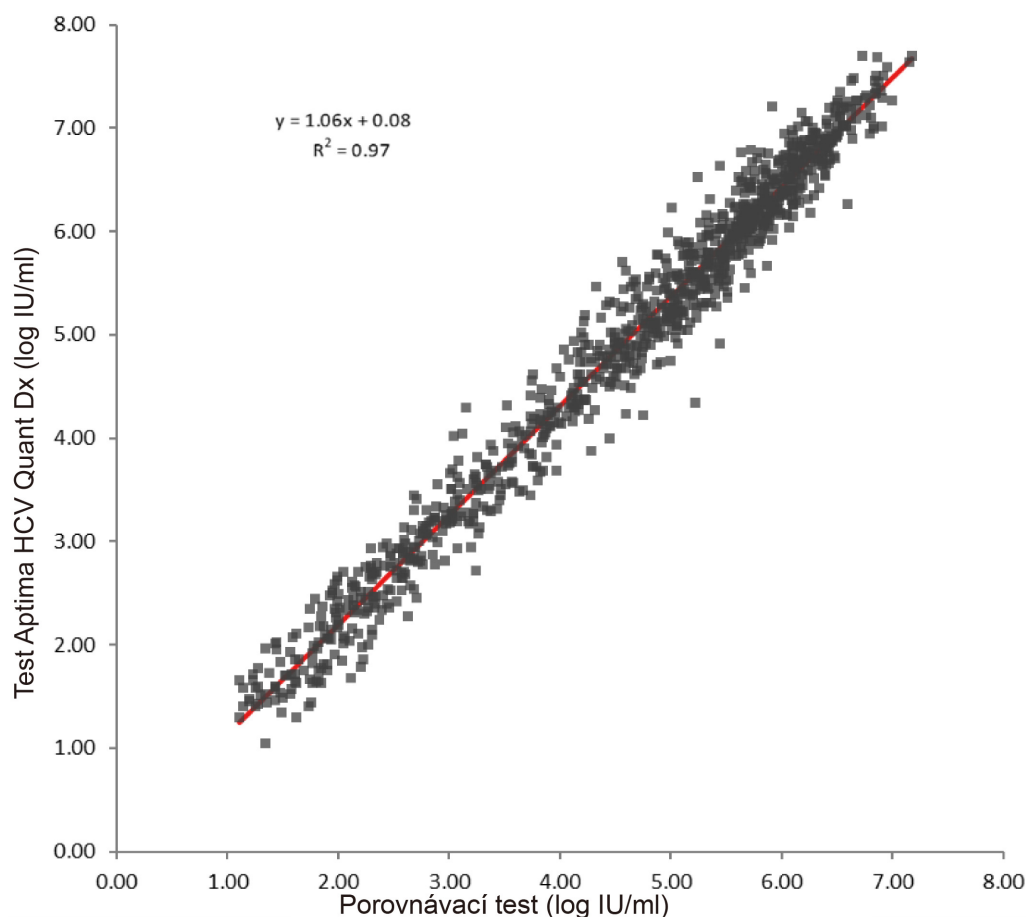
^bDoplnená vzorka.

^cVýsledok dvoch z troch testovaných replikátorov. Odstránený jeden mimoležiaci replikát.

Poznámka: Všetky výsledky > 8,00 log IU/ml boli odhadované pomocou ďalšej analýzy.

Korelácia metód

Výkon testu Aptima HCV Quant Dx bol hodnotený proti komparátorovému testu s označením CE testovaním neriedených klinických vzoriek od pacientov infikovaných HCV na troch systémoch Panther za použitia štyroch šarží reagensí. Celkom 1 058 vzoriek plazmy a séra (872 vzoriek plazmy, 186 vzoriek séra) zo všetkých genotypov HCV v lineárnom rozsahu spoločnom pre oba testy bolo použitých na lineárnu regresiu podľa Obrázok 8.



Obrázok 8. Korelácia medzi testom Aptima HCV Quant Dx a komparátorovým testom

Diagnostická zhoda

V rámci vyhodnotenia diagnostickej zhody bolo testovaných 227 vzoriek plazmy a séra od HCV pozitívnych jedincov pomocou testu Aptima HCV Quant Dx a komparátorového kvalitatívneho rozboru s označením CE. Akýkoľvek výsledok poskytujúci kvantifikovateľný alebo detegovateľný výsledok bol kategorizovaný ako „Detegované“. Akýkoľvek cieľ nedetegovaný bol kategorizovaný ako „Cieľ nedetegovaný“. Diagnostická zhoda medzi testami bola 100 %, ako ukazuje Tabuľka 20.

Tabuľka 20: Diagnostická zhoda medzi testom Aptima HCV Quant Dx a komparátorovým testom

		Test Aptima HCV Quant Dx	
		Detegované	Cieľ nedetegovaný
Komparátorový test	Detegované	99	0
	Cieľ nedetegovaný	0	128

Prenos

Bola vykonaná štúdia za použitia doplnených panelov na troch systémoch Panther s cieľom potvrdiť, že systém Panther minimalizuje riziko falošne pozitívnych výsledkov vznikajúcich kontamináciou v dôsledku prenosu. Prenos bol hodnotený pomocou vzoriek plazmy doplnených o armored RNA s vysokým titrom (7 log IU/ml) vmedzených medzi HCV negatívne vzorky v šachovnicovom vzorci. Testovanie prebehlo v pätnástich chodoch. Celková miera prenosu bola 0,14 % (1/704).

Panel sérokonverzie

Bolo testovaných jedenásť súborov panelov sérokonverzie HCV, celkom 72 vzoriek. Výsledky testu Aptima HCV Quant Dx boli porovnané s výsledkami testu na protilátky proti HCV. Počet dní do prvého reaktívneho výsledku uvádza Tabuľka 21. Test Aptima HCV Quant Dx detegoval prítomnosť HCV v priemere o 20 dní skôr než protilátkové testy.

Tabuľka 21: Súhrn údajov panelu sérokonverzie

ID panelu	Počet testovaných členov panelu	Počet reaktívnych členov panelu		Dni do prvého reaktívneho výsledku			Rozdiel v dňoch do prvého reaktívneho výsledku (na základe dátumu odberu krvi)		
		Aptima HCV Quant Dx	Test protilátok proti HCV 1	Test protilátok proti HCV 2	Aptima HCV Quant Dx	Test protilátok proti HCV 1	Test protilátok proti HCV 2	Dni skôr než test protilátok proti HCV 1	Dni skôr než test protilátok proti HCV 2
		PHV911	4	4	3	3	3 ^a	14	14
PHV913	4	4	0	2	0	9 ^b	7	9	7
PH919	7	4	3	3	25	28	28	3	3
PH920	9	9	7	6	0 ^c	13	16	13	16
PH921	11	11	9	7	0	7	18	7	18
PH923	6	6	2	2	0	21	21	21	21
PH924	6	6	3	3	0	59	59	59	59
PH925	5	5	1	1	0	27	27	27	27
PH926	5	5	1	0	0	14	14 ^b	14	14
6 227	7	4	2	2	42	74	74	32	32
6 229	8	8	4	3	0	17	20	17	20
Celkom	72	66	35	32			Priemer	19,36	20,73
							Priemer	14	18

Test protilátok proti HCV 1 bol vykonaný pomocou testu Abbott Prism HCV.

Test protilátok proti HCV 2 bol vykonaný pomocou testu Ortho Enhanced SAVE s nasledujúcimi výnimkami:

Panely 6227 a 6229, ktoré boli oba testované pomocou testu Ortho ELISA Anti-HCV 3.0

^aVzorka z prvého odberu nebola testovaná, keďže nebola dostupná u predajcu.

^bVšetky odbery v tomto paneli boli nereaktívne na protilátky proti HCV. Posledný deň odberu bol použitý ako hodnota „Dni do prvého reaktívneho výsledku“.

^cVzorka z druhého odberu nebola testovaná, keďže nebola dostupná u predajcu.

Literatúra

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

Zákaznícka podpora: +1 800 442 9892
customersupport@hologic.com

Technická podpora: +1 888 484 4747
molecularsupport@hologic.com

Ďalšie kontaktné informácie nájdete na stránkach www.hologic.com.



Hologic BVBA
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

Hologic, Aptima, Panther a príslušné logá sú ochranné známky a/alebo registrované ochranné známky spoločnosti Hologic, Inc. a/alebo jej pobočiek v USA a/alebo v iných krajinách.

Armored RNA je ochranná známka spoločnosti Asuragen, Inc.

Akékoľvek ďalšie ochranné známky, ktoré môžu byť vyobrazené na tomto príbalovom letáku, sú majetkom príslušných vlastníkov.

Výrobok je chránený jedným alebo viacerými patentmi Spojených štátov, ktoré sú uvedené na stránkach www.hologic.com/patents.

© 2015-2019 Hologic, Inc. Všetky práva vyhradené.

AW-13249-3201 Rev. 005
2019-04