

Aptima® HCV Quant Dx Assay

Pentru utilizare în diagnosticarea *in vitro*.

Exclusiv pentru export din SUA.

Informații generale	2
Domeniu de utilizare	2
Rezumatul și explicația testării	2
Principiile procedurii	3
Avertismente și precauții	4
Cerințe privind depozitarea și manipularea reactivilor	7
Recoltarea și depozitarea eșantioanelor	8
Probe pe sistemul Panther	11
Transportul eșantioanelor	11
Sistem Panther	12
Reactivi și materiale furnizate	12
Materiale necesare dar disponibile separat	14
Materiale opționale	15
Procedura de testare cu sistemul Panther	15
Note procedurale	19
Controlul calității	20
Calibrarea testului	20
Substanțe de control negative și pozitive	20
Calibrator intern/Substanță de control internă	20
Interpretarea rezultatelor	21
Limitări	22
Performanță	23
Limita de detecție (LoD) utilizând al doilea Standard internațional al OMS	23
Limita de detecție la nivelul genotipurilor de HCV	24
Intervalul liniar	25
Liniaritatea la nivelul genotipurilor de HCV	26
Limita inferioară de cuantificare utilizând al doilea Standard internațional al OMS	26
Determinarea limitei inferioare de cuantificare (LLOQ) la nivelul genotipurilor de HCV	28
Precizie	30
Substanțe cu potențial de interferență	31
Specificitate	32
Specificitate analitică	33
Probe clinice conținând virusuri diferite de HCV	34
Repetabilitatea eșantioanelor clinice	34
Diluarea probelor utilizând diluantul pentru eșantioane	35
Corelația metodelor	37
Acordul diagnosticului	38
Transferul	38
Panelul de seroconversie	39
Bibliografie	40

Informații generale

Domeniu de utilizare

Testul Aptima® HCV Quant Dx este o testare de amplificare mediată de transcripție în timp real. Acest test este utilizat pentru detectarea și cuantificarea ARN-ului virusului hepatitei C (HCV) în serul și plasma umană proaspătă și congelată, de la indivizi infectați cu HCV.

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

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

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

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

Rezumatul și explicația testării

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

Din punct de vedere clinic, există o prevalență ridicată a infecției asimptomatice cu HCV și, în ciuda anticorpului detectabil (de obicei în 5-12 săptămâni), infecția cronică cu HCV apare la până la 75% dintre pacienți.² Algoritmii de testare HCV în laborator necesită diagnosticarea infecțiilor cu HCV active la persoanele pozitive la anticorpi, prin detectarea ARN-ului HCV în plasmă sau ser pentru a permite o asociere adecvată cu asistența medicală.^{7,8,9}

Cuantificarea ARN-ului HCV (încărcătura virală) a jucat un rol central în definirea și monitorizarea succesului tratamentului pentru HCV. Răspunsul virologic susținut (SVR), definit ca ARN HCV nedetectat după o terapie reușită, este un marker cheie pentru o vindecare de HCV.^{10,11} În terapia bazată pe interferon, răspunsul virologic timpuriu (EVR), definit ca o scădere a încărcăturii virale HCV de 2 log sau mai mare după 12 săptămâni de tratament și un răspuns virologic rapid (RVR), definit ca niveluri nedetectabile de ARN HCV după 4 săptămâni de tratament, s-au dovedit a fi predictorii pozitivi pentru SVR.^{10,12,13} Acești

markeri ai cineticii virale sunt utilizați în abordări bazate pe răspuns, adaptând opțiunile de tratament pentru oprirea sau extinderea terapiei pentru a obține SVR.¹⁴ În plus, studiile de urmărire pe termen lung au demonstrat durabilitatea SVR după un tratament reușit, iar eradicarea virală împiedică progresia bolii hepatice.¹⁰

În epoca antiviralelor cu acțiune directă (DAA), măsurătorile privind încărcătura virală HCV sunt făcute înainte de terapie pentru a stabili încărcătura virală inițială, în timpul tratamentului pentru răspunsurile la tratament și după terapie pentru evaluarea SVR (sau a recidivării). Aproape toți pacienții obțin răspunsuri virologice la tratamentul cu DAA definite ca fiind sub limita inferioară de cuantificare (< LLoQ) pentru test, urmate de rate SVR mai mari de 90% la 12 săptămâni după terapia cu cele mai multe regimuri.^{8,11} Detectarea și cuantificarea ARN-ului HCV vor continua să joace un rol central în diagnosticarea HCV și gestionarea pacienților aflați în terapie antivirală.

Principiile procedurii

Testul Aptima HCV Quant Dx este o testare de amplificare a acidului nucleic care utilizează tehnologia de amplificare mediată de transcripție în timp real (TMA) pentru a detecta și cuantifica ARN HCV înainte de terapie pentru a veni în ajutorul diagnosticării sau pentru a stabili încărcătura virală inițială, precum și pentru a măsura răspunsurile în timpul tratamentului și după tratament. Testul vizează o regiune conservată a genomului HCV, detectând și cuantificând genotipurile 1, 2, 3, 4, 5 și 6. Testul este standardizat pe baza celui de-al doilea Standard Internațional al OMS pentru virusul hepatitei C (NIBSC Cod 96/798).¹²

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

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

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

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

Avertismente și precauții

- A. Pentru a reduce riscul rezultatelor nevalide, citiți cu atenție întregul prospect și *Manualul de utilizare a sistemului Panther®*, înainte de efectuarea acestui test.

În legătură cu laboratorul

- B. ATENȚIE: Substanțele de control pentru acest test conțin plasmă umană. Plasma este negativă pentru antigenul superficial al hepatitei B (HBsAg), anticorpii pentru HCV, anticorpii pentru HIV-1 și HIV-2, și antigenul HIV, atunci când este testată prin procedurile autorizate de Food and Drug Administration din SUA. În plus, plasma nu este reactivă pentru ARN-ul HCV și ARN-ul HIV-1 atunci când este testată cu testări de acid nucleic licențiate utilizând probe compozite. Toate materialele provenite din sânge uman trebuie considerate potențial infecțioase și trebuie tratate cu respectarea precauțiilor universale.^{15,16,17}
- C. Numai personalul instruit corespunzător în utilizarea testului Aptima HCV Quant Dx și în manipularea materialelor potențial infecțioase trebuie să efectueze această procedură. Dacă se produce o scurgere, dezinfectați imediat în conformitate cu procedurile adecvate ale unității.
- D. Utilizați doar instrumentarul și consumabilele de laborator de unică folosință prevăzute sau specificate.
- E. Respectați precauțiile de laborator obișnuite. Nu pipetați cu ajutorul gurii. Nu consumați alimente sau băuturi și nu fumați în zonele de lucru desemnate. Purtați mănuși de unică folosință fără pudră, ochelari de protecție și halate de laborator atunci când manipulați eșantioane și reactivi din trusă. Spălați-vă temeinic mâinile după ce ați manipulat eșantioane sau reactivi din trusă.
- F. Suprafețele de lucru, pipetele și alte echipamente trebuie decontaminate în mod regulat cu soluție de hipoclorit de sodiu între 2,5% și 3,5% (între 0,35 M și 0,5 M).
- G. Eliminați toate materialele care au intrat în contact cu eșantioanele și cu reactivii în conformitate cu reglementările locale, naționale și federale.^{15,16,17,18} Curățați temeinic și dezinfectați toate suprafețele de lucru.
- H. Substanțele de control conțin azidă de sodiu cu rol de conservant. Nu utilizați tuburi metalice pentru transferul reactivilor. Dacă soluțiile care conțin compuși ai azidei de sodiu sunt eliminate într-un sistem de canalizare, acestea trebuie diluate și clătite cu cantități generoase de apă de la robinet. Aceste precauții sunt recomandate pentru a evita acumularea de depuneri în tuburile metalice în care s-ar putea dezvolta condiții explozive.
- I. Bunele practici standard pentru laboratoarele moleculare includ monitorizarea mediului înconjurător. Pentru a monitoriza mediul unui laborator, se recomandă următoarea procedură:
1. Luați un bețișor de vată și asociați-l cu tubul pentru părți alicote din eșantion (SAT) Aptima.
 2. Etichetați fiecare SAT în mod corespunzător.
 3. Umpleți fiecare SAT cu 1 ml de diluant pentru eșantioane Aptima.
 4. Pentru a recolta probele superficiale, umeziți ușor un bețișor de vată în apă deionizată fără nuclează.
 5. Tamponați suprafața de interes folosind o mișcare verticală, de sus în jos. Rotiți bețișorul de vată cu aproximativ o jumătate de tură, în timp ce tamponați locul.
 6. Amplasați imediat în tub proba recoltată pe bețișorul de vată și rotiți încet bețișorul de vată în diluant pentru a extrage potențialele materiale tamponate. Apăsăți bețișorul de vată pe partea laterală a tubului de transport pentru a extrage cât mai mult lichid posibil. Aruncați bețișorul de vată și acoperiți tubul cu un capac.
 7. Repetați etapele pentru restul probelor recoltate pe bețișorul de vată.
 8. Testați bețișorul de vată prin intermediul testului molecular.

În legătură cu eșantioanele

- J. Eșantioanele prezintă potențial contagios. Aplicați precauțiile universale^{15,16,17} la efectuarea acestui test. Metodele de manipulare și eliminare corespunzătoare trebuie stabilite conform regulamentelor locale.¹⁸ Numai personalul instruit în mod corespunzător în utilizarea testului Aptima HCV Quant Dx și instruit în manipularea materialelor infecțioase trebuie să efectueze această procedură.
- K. Mențineți condiții de depozitare adecvate în timpul expedierii eșantionului pentru a asigura integritatea acestuia. Nu a fost evaluată stabilitatea eșantionului în condiții de expediere diferite de cele recomandate.
- L. Evitați contaminarea încrucișată pe parcursul etapelor de manipulare a eșantioanelor. Aveți grijă în special să evitați contaminarea prin răspândirea aerosolilor, la slăbirea sau scoaterea capacelor eșantioanelor. Eșantioanele pot conține niveluri extrem de ridicate de organisme. Asigurați-vă că recipientele cu eșantioane nu se ating între ele și eliminați materialele utilizate fără a le trece pe deasupra recipientelor deschise. Schimbați mănușile dacă acestea intră în contact cu eșantionul.

În legătură cu testul

- M. Nu utilizați kitul de reactivi, calibratorul sau substanțele de control după data expirării.
- N. Nu interschimbați, amestecați sau combinați reactivi ai testului din kituri cu numere diferite ale lotului principal. Lichidele pentru test pot proveni din numere de lot diferite. Substanțele de control și calibratorul pot proveni din numere de lot diferite.
- O. Evitați contaminarea microbiană și cu nucleaze a reactivilor.
- P. Acoperiți și depozitați toți reactivii testului la temperaturile specificate. Performanța testului poate fi afectată de utilizarea unor reactivi ai testului depozitați necorespunzător. Consultați *Cerințe privind depozitarea și manipularea reactivilor și Procedura de testare cu sistemul Panther* pentru mai multe informații.
- Q. Nu combinați reactivi sau lichide ale testului fără instrucțiuni specifice. Nu umpleți până la refuz cu reactivi sau lichide. Sistemul Panther verifică nivelurile reactivilor.
- R. Unii reactivi din acest kit sunt etichetați cu simbolurile de risc și siguranță.

Notă: Declarația privind pericolele reflectă clasificările conform Fișelor cu date de securitate (FDS) la nivel european. Pentru informații privind comunicarea pericolelor specifice regiunii dvs., consultați FDS specifică regiunii în Biblioteca de fișe cu date de securitate la adresa www.hologicds.com.

**HCV VL Kit Controls**

Azidă de sodiu <1%
Ser uman 95-100%

—

H412 – Nociv pentru mediul acvatic cu efecte pe termen lung.

P273 – Evitați eliberarea în mediu.

P501 – Aruncați conținutul/recipientul la o unitate de eliminare a deșeurilor autorizată.

—	—	Amplification Reagent <i>Clorură de magneziu 60%-65%</i> H412 – Nociv pentru mediul acvatic cu efecte pe termen lung. P273 – Evitați eliberarea în mediu. P501 – Aruncați conținutul/recipientul la o unitate de eliminare a deșeurilor autorizată.
—	—	Enzyme Reagent <i>HEPES 1%–5%</i> <i>Triton X-100 1%-5%</i> H412 – Nociv pentru mediul acvatic cu efecte pe termen lung. P273 – Evitați eliberarea în mediu. P501 – Aruncați conținutul/recipientul la o unitate de eliminare a deșeurilor autorizată.
—	—	Enzyme Reconstitution Solution <i>HEPES 1%–5%</i> <i>Triton X-100 5%-10%</i> <i>Glicerol 20%-25%</i> H412 – Nociv pentru mediul acvatic cu efecte pe termen lung. P273 – Evitați eliberarea în mediu. P501 – Aruncați conținutul/recipientul la o unitate de eliminare a deșeurilor autorizată.
—	—	Promoter Reagent <i>Clorură de magneziu 60%-65%</i> H412 – Nociv pentru mediul acvatic cu efecte pe termen lung. P273 – Evitați eliberarea în mediu. P501 – Aruncați conținutul/recipientul la o unitate de eliminare a deșeurilor autorizată.
—	—	Target Capture Reagent <i>HEPES 15% – 20%</i> <i>Sare lauril sulfat de litiu 5% – 10%</i> <i>Hidroxid de litiu monohidrat 1% – 5%</i> <i>Acid succinic 1% – 5%</i> H412 – Nociv pentru mediul acvatic cu efecte pe termen lung. P273 – Evitați eliberarea în mediu. P501 – Aruncați conținutul/recipientul la o unitate de eliminare a deșeurilor autorizată.
—	—	HCV VL Kit Calibrators <i>HEPES 15% – 20%</i> <i>Sare lauril sulfat de litiu 5% – 10%</i> <i>Hidroxid de litiu monohidrat 1% – 5%</i> <i>Acid succinic 1% – 5%</i> H412 – Nociv pentru mediul acvatic cu efecte pe termen lung. P273 – Evitați eliberarea în mediu. P501 – Aruncați conținutul/recipientul la o unitate de eliminare a deșeurilor autorizată.

Cerințe privind depozitarea și manipularea reactivilor

- A. Tabelul următor prezintă condițiile de depozitare și stabilitatea pentru reactivi, substanțe de control și calibrator.

Reactiv	Depozitare în stare nedeschisă	Kit deschis (reconstituit)	
		Depozitare	Stabilitate
Reactiv de amplificare qHCV	Între 2 °C și 8 °C		
Soluție de reconstituire a amplificării qHCV	Între 2 °C și 8 °C	Între 2 și 8 °C	30 de zile ^a
Reactiv enzimatic qHCV	Între 2 °C și 8 °C		
Soluție de reconstituire enzimatică qHCV	Între 2 °C și 8 °C	Între 2 și 8 °C	30 de zile ^a
Reactiv al probei qHCV	Între 2 °C și 8 °C		
Soluție de reconstituire a probei qHCV	Între 2 °C și 8 °C	Între 2 și 8 °C	30 de zile ^a
Reactiv de captare a țintei qHCV	Între 2 °C și 8 °C	Între 2 și 8 °C	30 de zile ^a
qHCV NC CONTROL – (substanță de control negativă)	Între -15°C și -35°C	Între 15°C și 30°C	Fiolă de unică folosință A se utiliza în decurs de 24 de ore
qHCV LPC CONTROL + (substanță de control slab pozitivă)	Între -15°C și -35°C	Între 15°C și 30°C	Fiolă de unică folosință A se utiliza în decurs de 24 de ore
qHCV HPC CONTROL + (substanță de control puternic pozitivă)	Între -15°C și -35°C	Între 15°C și 30°C	Fiolă de unică folosință A se utiliza în decurs de 24 de ore
qHCV PCAL (calibrator pozitiv)	Între -15°C și -35°C	Între 15°C și 30°C	Fiolă de unică folosință A se utiliza în decurs de 24 de ore

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

- B. Eliminați orice reactivi reconstituiți și reactivul de captare a țintei (TCR) nefolosiți după 30 de zile sau după data de expirare a Lotului principal, oricare dintre acestea survine mai întâi.
- C. Reactivii depozitați pe sistemul Panther au o stabilitate de 72 de ore în cadrul sistemului. Reactivii pot fi încărcăți în sistemul Panther de până la 5 ori. Sistemul Panther înregistrează fiecare încărcare a reactivilor.
- D. După decongelarea calibratorului, soluția trebuie să fie limpede, adică să nu fie tulbure și să nu prezinte precipitate.
- ⚠ E. Reactivul probei și reactivul reconstituit al probei sunt fotosensibili. Protejați aceste reactivi împotriva luminii în timpul depozitării și al pregătirii pentru utilizare.

Recoltarea și depozitarea eșantioanelor

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

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

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

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

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

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

A. Recoltarea eșantionului

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

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

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

B. Condiții de depozitare a eșantioanelor

1. Eșantioane de plasmă în EDTA și ACD

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

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

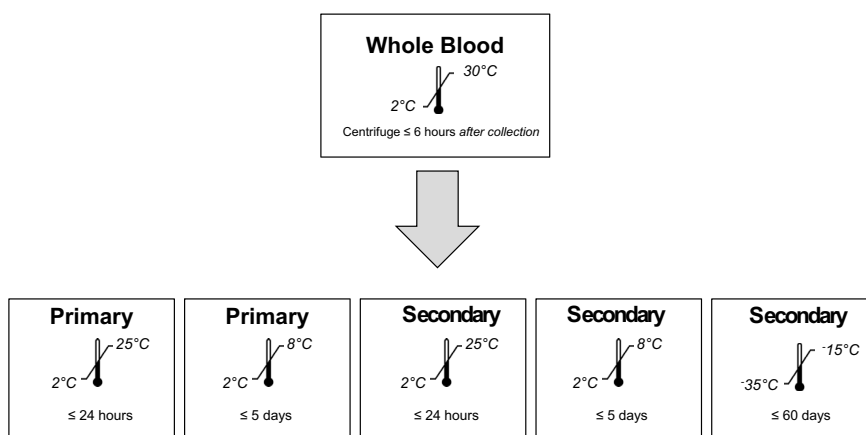


Figura 1. Condiții de depozitare pentru tuburile cu EDTA/ACD

2. Eșantioane PPT

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

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

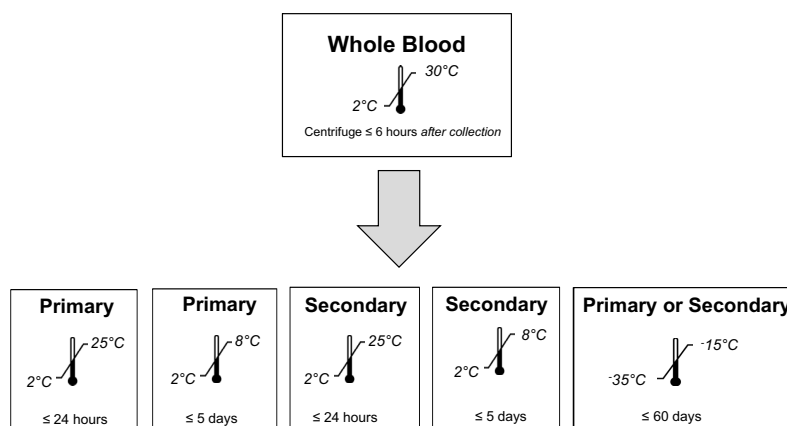


Figura 2. Condiții de depozitare pentru PPT

3. Eșantioane în tuburi pentru ser

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

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

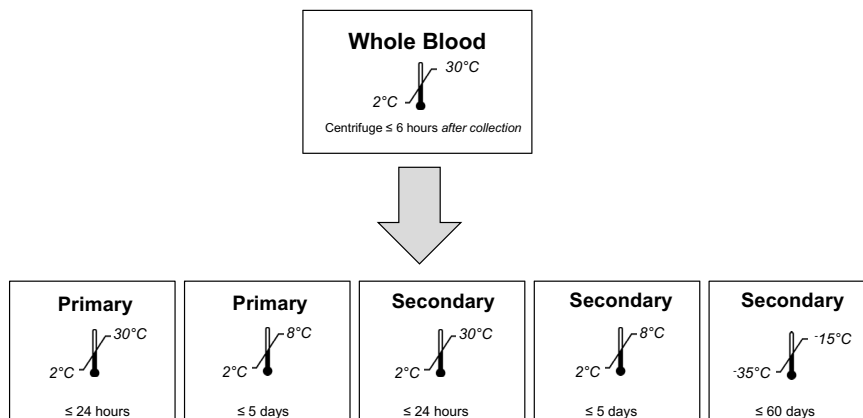


Figura 3. Condiții de depozitare pentru tuburile pentru ser

4. Eșantioane SST

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

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

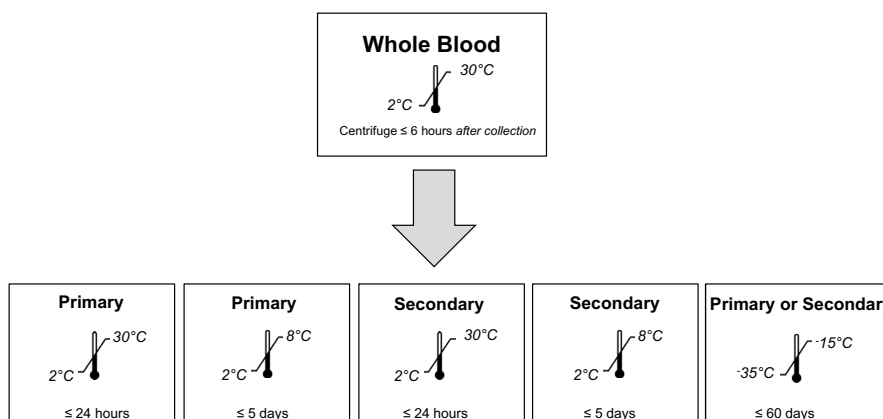


Figura 4. Condiții de depozitare SST

C. Depozitare în stare congelată pe termen lung

Probele de plasmă sau de ser pot fi depozitate la -70 °C timp de până la 60 de zile în SAT.

D. Diluarea eșantioanelor de plasmă și ser

Eșantioanele de plasmă și ser pot fi diluate în SAT sau în tubul secundar pentru testare pe sistemul Panther. Consultați *Procedura de testare cu sistemul Panther*, etapa E.6 de mai jos pentru mai multe informații.

⚠ *Diluarea probelor de plasmă și de ser poate fi utilizată numai pentru rezultate cantitative. Nu diluați probele de plasmă sau de ser pentru rezultate ale diagnosticării.*

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

Probe pe sistemul Panther

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

Transportul eșantioanelor

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

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

Sistem Panther

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

Reactivi și materiale furnizate

Notă: Pentru informații privind orice frază de pericol sau de precauție care ar putea fi asociată cu reactivii, consultați Biblioteca de fișe cu date de securitate la adresa www.hologic.com/sds.

Aptima HCV Quant Dx Assay Kit, 100 de testări Nr. cat. PRD-03506

(1 cutie de test, 1 kit calibrator și 1 kit substanțe de control)

Pot fi comandate separat calibratoare și substanțe de control suplimentare. Consultați mai jos numerele de catalog respective.

Aptima HCV Quant Dx Assay Box

(depozitați între 2 °C și 8 °C în momentul primirii)

Simbol	Produs	Cantitate
A	Reactiv de amplificare qHCV <i>Acizi nucleici neinfecțioși uscați în soluție tamponată.</i>	1 fiolă
E	Reactiv enzimatic qHCV <i>Transcriptază inversă și polimerază ARN uscată în soluție tamponată HEPES.</i>	1 fiolă
PRO	Reactiv al probei qHCV <i>Acizi nucleici neinfecțioși uscați în soluție tamponată.</i>	1 fiolă
AR	Soluție de reconstituire a amplificării qHCV <i>Soluție apoasă conținând glicerol și conservanți.</i>	1 x 7,2 ml
ER	Soluție de reconstituire enzimatică qHCV <i>Soluție tamponată HEPES conținând surfactant și glicerol.</i>	1 x 5,8 ml
PROR	Soluție de reconstituire a probei qHCV <i>Soluție apoasă conținând glicerol și conservanți.</i>	1 x 4,5 ml
TCR	Reactiv de captură a țintei qHCV <i>Acizi nucleici într-o soluție salină tamponată conținând faza solidă, acizi nucleici neinfecțioși și calibrator intern.</i>	1 x 72,0 ml
	Coliere reconstituire	3
	Fișă cu codurile de bare ale lotului principal	1 pagină

Aptima HCV Quant Dx Calibrator Kit (Nr. cat. PRD-03507)

(depozitați între -15°C și -35°C în momentul primirii)

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

Aptima HCV Quant Dx Controls Kit (Nr. cat. PRD-03508)
(depozitați între -15°C și -35°C în momentul primirii)

Simbol	Produs	Cantitate
NC	Substanță de control negativă qHCV <i>Plasmă umană defibrinată negativă HCV conținând gentamicină și 0,2% azidă de sodiu cu rol de conservanți.</i>	5 x 0,8 ml
LPC	Substanță de control slab pozitivă qHCV <i>Armored RNA pentru HCV neinfecțios în plasmă umană defibrinată conținând gentamicină și 0,2% azidă de sodiu cu rol de conservanți.</i>	5 x 0,8 ml
HPC	Substanță de control puternic pozitivă qHCV <i>Armored RNA pentru HCV neinfecțios în plasmă umană defibrinată conținând gentamicină și 0,2% azidă de sodiu cu rol de conservanți.</i>	5 x 0,8 ml
	Etichetă cu coduri de bare pentru substanță de control	—

Materiale necesare dar disponibile separat

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

Material	Nr. cat.
Sistem Panther	303095
Panther Run Kit pentru teste în timp real (exclusiv pentru testele în timp real)	PRD-03455 (5000 de testări)
<i>Kit de lichide pentru testul Aptima (cunoscut și drept Kit de lichide universale) conține soluție de spălare Aptima, soluție tampon Aptima pentru lichidul de dezactivare și reactiv ulei Aptima</i>	303014 (1000 de testări)
<i>Unități multi-tub (MTU)</i>	104772-02
<i>Kit pungi de reziduuri Panther</i>	902731
<i>Capac coș reziduuri Panther</i>	504405
Sau Panther System Run Kit <i>(la execuția testelor TMA nedesfășurate în timp real, în paralel cu testele TMA în timp real) conține unități multi-tub (MTU), pungi de reziduuri, capace pentru coșuri de reziduuri, auto detect și lichide pentru test</i>	303096 (5000 de testări)
Vârfuri, 1000 µL, filtrate, pentru detecția lichidului, conductoare și de unică folosință.	901121 (10612513 Tecan) 903031
Este posibil ca unele produse să nu fie disponibile în toate regiunile. Pentru informații specifice regiunii, contactați reprezentantul.	(10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Înălbitor, soluție hipoclorit de sodiu între 5 și 8,25% (0,7 M - 1,16 M)	—
Mănuși de unică folosință, fără pudră	—
Capace de schimb nepenetrabile	103036A
Capace de schimb pentru reactivi <i>Flacoane pentru reconstituirea reactivului de amplificare, enzimatic și al probei</i>	CL0041 (100 de capace)
<i>Flacon TCR</i>	CL0040 (100 de capace)
Huse căptușite cu plastic pentru masa de lucru din laborator	—
Șervețele fără fibre	—
Pipetor	—
Vârfuri	—
Opțiuni pentru tubul de recoltare primar:	—
13 mm x 100 mm	—
13 mm x 75 mm	—
16 mm x 100 mm	—
Centrifugă	—
Agitator vortex	—

Materiale opționale

Material	Nr. cat.
Opțiuni pentru tubul secundar:	
12 mm x 75 mm	—
13 mm x 100 mm	—
16 mm x 100 mm	—
Tuburi pentru părți alicote din eşantion Aptima (SAT) (pachet de 100 de bucăți)	FAB-18184
Capac pentru tub de transport (pachet de 100 de bucăți) capac pentru SAT	504415
Diluant pentru eşantioane Aptima	PRD-03003
Kit diluant pentru eşantioane Aptima conține diluant pentru eşantioane, 100 SAT și 100 de capace	PRD-03478
Pipete de transfer	—
Paneluri disponibile în comerț, de exemplu: HCV din controlul calității pentru diagnosticare moleculară (QCMD) sau paneluri SeraCare ACCURUN HCV	—
Bețisoare cu vată	—
Agitator oscilant pentru tuburi	—

Procedura de testare cu sistemul Panther

Notă: Consultați manualul de utilizare a sistemului Panther pentru informații de procedură suplimentare.

A. Pregătirea zonei de lucru

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

B. Prepararea calibratorului și a substanțelor de control

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

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

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

Notă: Evitați crearea de spumă excesivă la răsturnarea calibratorului și a substanțelor de control. Spuma compromise funcția de detectare a nivelului la sistemul Panther.

2. După ce conținutul tubului s-a decongelat, uscați exteriorul tubului cu un șervețel de unică folosință, curat și uscat.
3. Pentru a preveni contaminarea, nu deschideți tuburile în acest moment.

C. Reconstituirea reactivului/prepararea unui kit nou

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

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

Opțiune. Flaconul cu TCR poate fi preparat pe un agitator oscilant pentru tuburi, cu respectarea acestor instrucțiuni: scoateți TCR din locul de depozitare (între 2 °C și 8 °C) și agitați imediat viguros, de 10 ori. Amplasați flaconul cu TCR pe un agitator oscilant pentru tuburi și lăsați TCR să se încălzească timp de minimum 45 de minute, la o temperatură cuprinsă între 15 °C și 30 °C.

- c. Asigurați-vă că tot precipitatul este în soluție și că particulele magnetice sunt suspendate înainte de utilizare.
2. Pentru reconstituirea reactivilor de amplificare, enzimatici și ai probei, efectuați următoarele acțiuni:
 - a. Scoateți reactivii liofilizați și soluțiile de reconstituire corespunzătoare din locul de depozitare (între 2 și 8 °C). Asociați fiecare soluție de reconstituire cu reactivul liofilizat al acesteia.
 - b. Asigurați-vă că soluția de reconstituire și reactivul liofilizat au etichete de aceeași culoare. Verificați numerele de lot de pe fișa cu codurile de bare ale lotului principal pentru a vă asigura că s-au împerecheat reactivii corespunzători.
 - i. Deschideți fiola de reactiv liofilizat scoțând garnitura metalică și dopul din cauciuc.
 - ii. Introduceți cu fermitate capătul crestă al colierului de reconstituire (negru) pe fiolă (Figura 5, Etapa 1).
 - iii. Deschideți flaconul aferent cu soluția de reconstituire și așezați capacul pe o suprafață de lucru curată, acoperită.
 - iv. Amplasați flaconul cu soluție de reconstituire pe o suprafață stabilă (de exemplu, masa de lucru). Apoi răsturnați flaconul de reactiv liofilizat peste flaconul cu soluție de reconstituire și fixați bine colierul pe flaconul cu soluție de reconstituire (Figura 5, Etapa 2).
 - v. Răsturnați lent ansamblul de flacoane (fiola atașată la flaconul cu soluție) pentru a permite scurgerea soluției în fiola din sticlă (Figura 5, Etapa 3).
 - vi. Ridicați flacoanele asamblate și rotiți-le timp de minimum 10 secunde (Figura 5, Etapa 4).
 - vii. Așteptați cel puțin 30 de minute pentru ca reactivul liofilizat să pătrundă în soluție.
 - viii. După pătrunderea reactivului liofilizat în soluție, rotiți ansamblul de flacoane timp de cel puțin 10 secunde și apoi oscilați ușor soluția în fiola din sticlă înainte și înapoi, pentru o amestecare temeinică.
 - c. Înclinați lent, din nou, ansamblul de flacoane, pentru a permite ca toată soluția să se scurgă înapoi în flaconul cu soluție de reconstituire (Figura 5, Etapa 5).
 - d. Scoateți cu atenție colierul de reconstituire și fiola din sticlă (Figura 5, Etapa 6).

- e. Puneți la loc capacul pe flacon. Înregistrați inițialele operatorului și data reconstituirii pe etichetă (Figura 5, Etapa 7).
- f. Aruncați colierul de reconstituire și fiola din sticlă (Figura 5, Etapa 8).

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

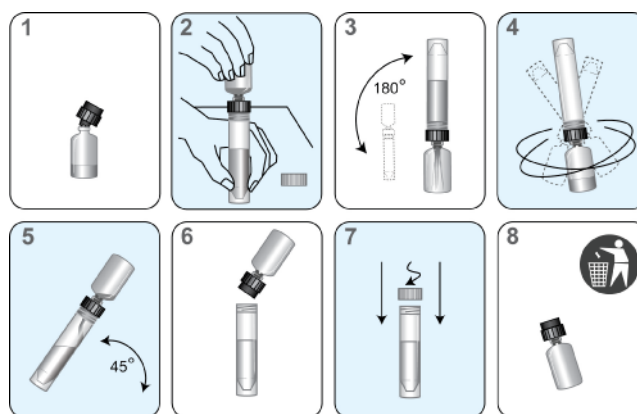


Figura 5. Procesul de reconstituire a reactivilor

D. Prepararea reactivului pentru reactivi preparați anterior

1. Scoateți reactivii preparați anterior din locul de depozitare (între 2 și 8 °C).
2. Reactivii de amplificare, enzimatici, ai probei și TCR preparați anterior trebuie să atingă 15 °C până la 30 °C înainte de începerea testului.
3. Pentru TCR preparat anterior, parcurgeți etapa C.1 de mai sus, înainte de încărcarea pe sistem.
4. Rotiți și răsturnați reactivii de amplificare, enzimatici și ai probei pentru o amestecare temeinică, înainte de încărcarea acestora pe sistem. Evitați crearea de spumă excesivă în timpul răsturnării reactivilor.
5. Nu umpleți flacoanele cu reactiv până la refuz. Sistemul Panther va recunoaște și respinge flacoanele care au fost umplute până la refuz.

E. Manipularea eșantioanelor

1. Asigurați-vă că eșantioanele procesate din tuburile primare sau eșantioanele nediluate din tuburile secundare au fost depozitate în mod corespunzător, conform „Recoltarea și depozitarea eșantioanelor” la pagina 8.
2. Asigurați-vă că eșantioanele congelate sunt decongelate complet. Vortexați eșantioanele decongelate timp de 3 până la 5 secunde, pentru ca acestea să fie amestecate temeinic.
3. Lăsați eșantioanele să ajungă la o temperatură cuprinsă între 15 și 30 °C, înainte de procesare. Consultați *Probe pe sistemul Panther* pentru informații suplimentare de încărcare pe sistem.
4. Asigurați-vă că fiecare tub de recoltare primar conține până la 1200 µl de eșantion sau fiecare SAT conține cel puțin 700 µl de eșantion. Consultați tabelul furnizat în *Recoltarea eșantionului* la pagina 8 pentru a identifica cerințele de volum mort pentru fiecare tip de tub primar și secundar. Dacă este necesară diluarea eșantionului, consultați etapa E.6 de mai jos pentru informații suplimentare.
5. Chiar înainte de încărcarea eșantioanelor într-un stativ pentru probe, centrifugați fiecare eșantion la 1000 – 3000g timp de 10 minute. Nu scoateți capacele. Bulele din tub pot compromite funcția de detectare a nivelului la sistemul Panther.

Consultați *Pregătirea sistemului*, etapa F.2 de mai jos, pentru informații despre încărcarea pe stativ și scoaterea capacelor.

6. Diluați un eșantion de plasmă sau de ser 1:3 într-un SAT sau 1:100 într-un tub secundar.

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

- ⚠ Diluarea eșantioanelor poate fi utilizată numai pentru rezultate cantitative. Nu diluați eșantioanele pentru rezultate ale diagnosticării.

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

- a. Diluarea eșantioanelor cu volum redus

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

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

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

- b. Diluarea eșantioanelor cu titru mare

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

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

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

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

F. Pregătirea sistemului

1. Configurați sistemul conform instrucțiunilor din *Manualul de utilizare a sistemului Panther* și *Note procedurale*. Asigurați-vă că s-au utilizat stativale pentru reactivi de dimensiuni corespunzătoare și adaptoarele TCR adecvate.
2. Încărcați probele în stativul pentru probe. Parcurgeți etapele următoare pentru fiecare tub pentru probe (eșantion și, dacă este necesar, calibrator și substanțe de control):
 - a. Desfaceți capacul unui tub pentru probe, dar încă nu îl scoateți.

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

- b. Încărcați tubul pentru probe în stativul pentru probe.
- c. Repetați etapele 2.a și 2.b pentru fiecare probă rămasă.
- d. După încărcarea probelor în stativul pentru probe, scoateți și aruncați capacul fiecărui tub pentru probe dintr-un stativ pentru probe. Pentru a evita contaminarea, nu treceți niciun capac pe deasupra altor stative pentru probe sau tuburi pentru probe.
- e. Dacă este necesar, utilizați o pipetă de transfer de unică folosință nouă, pentru eliminarea oricăror bule sau a spumei.
- f. După eliminarea ultimului capac, încărcați stativul pentru probe într-un compartiment de probe.

Notă: Dacă executați simultan teste și tipuri de probe diferite, securizați dispozitivul de fixare a probelor înainte de încărcarea stativului pentru probe într-un compartiment de probe.

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

Note procedurale

A. Calibrator și substanțe de control

1. Calibratorul pozitiv qHCV, substanța de control slab pozitivă qHCV, substanța de control puternic pozitivă qHCV și tuburile de substanță de control negativă qHCV pot fi încărcate în orice poziție din stativul pentru probe și în orice compartiment de turbiprobe pe sistemul Panther. Pipetarea eșantionului va începe în momentul în care este îndeplinită una dintre cele două condiții de mai jos:
 - a. Calibratorul și substanțele de control sunt procesate în prezent de către sistem.
 - b. Pe sistem sunt înregistrate rezultate valide pentru calibrator și substanțe de control.
2. De îndată ce tuburile pentru calibrator și tuburile pentru substanța de control au fost pipetate și sunt în curs de procesare pentru un anumit kit de reactivi al testului Aptima HCV Quant Dx, eșantioanele pot fi testate cu kitul asociat și reconstituit timp de maxim 24 de ore, **cu excepția cazului în care:**
 - a. Rezultatul calibratorului sau rezultatele substanțelor de control sunt nevalide.
 - b. Kitul asociat de reactivi ai testului este scos din sistem.
 - c. Kitul asociat de reactivi ai testului a depășit limitele de stabilitate.
3. Calibratorul și fiecare tub de substanță de control pot fi utilizate o singură dată. Încercările de a folosi tubul de mai multe ori pot genera erori de procesare.

B. Pudrarea mănușilor

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

Controlul calității

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

Calibrarea testului

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

În timpul procesării, criteriile de acceptare a calibratorului sunt verificate automat de software-ul sistemului Panther. Dacă sunt valabile mai puțin de două replicat ale calibratorului, software-ul invalidează automat execuția. Probele din orice execuție invalidată trebuie retestate folosind un calibrator proaspăt preparat și substanțe de control proaspăt preparate.

Substanțe de control negative și pozitive

Pentru generarea unor rezultate valide, trebuie testat un set de substanțe de control ale testului. Câte un replicat al substanței de control negative, al substanței de control slab pozitive și al substanței de control puternic pozitive trebuie testate de fiecare dată când un kit de reactivi este încărcat pe sistemul Panther. Odată stabilite, substanțele de control sunt valabile până la 24 de ore. Software-ul sistemului Panther alertează operatorul atunci când sunt necesare substanțe de control.

În timpul procesării, criteriile de acceptare a substanțelor de control sunt verificate automat de software-ul sistemului Panther. Pentru a genera rezultate valide, substanța de control negativă trebuie să obțină un rezultat „Not Detected” („Nedetectat”), iar substanțele de control pozitive trebuie să obțină rezultate care să se încadreze în parametrii predefiniți. Dacă oricare dintre substanțele de control are un rezultat nevalid, software-ul invalidează automat execuția. Probele din orice execuție invalidată trebuie retestate folosind un calibrator proaspăt preparat și substanțe de control proaspăt preparate.

Calibrator intern/Substanță de control internă

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

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

Interpretarea rezultatelor

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

Notă: Pentru eșantioanele diluate, rezultatele enumerate ca „Not Detected” („Nedetectat”) sau „<10 detected” („Detectat <10”) pot fi generate prin diluarea unui eșantion cu o concentrație mai mare, dar apropiată de LoD sau de LLoQ (limita de detecție sau limita inferioară de cuantificare). Se recomandă recoltarea și testarea unui alt eșantion pur, dacă nu se obține un rezultat cantitativ.

Sistemul Panther nu oferă un rezultat calitativ (adică „Reactive” („Reactiv”) sau „Non-reactive” („Nereactiv”)) pentru utilizare în diagnosticare. Operatorul trebuie să interpreteze concentrația de ARN HCV raportată într-un rezultat calitativ (Tabel 1). Eșantioanele cu rezultate enumerate ca „Not Detected” („Nedetectat”) nu sunt reactive pentru ARN-ul HCV. Eșantioanele cu rezultate enumerate ca „<10 detected” („Detectat <10”), cu rezultate enumerate în intervalul liniar și >100.000.000 (limită superioară de cuantificare) indică faptul că a fost detectat ARN-ul HCV și că aceste eșantioane sunt reactive pentru ARN-ul HCV.

Tabel 1: Interpretarea rezultatelor.

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

^a Poate fi făcută o interpretare a diagnosticului pe baza eșantioanelor de ser sau de plasmă care nu au fost diluate.

^b Valoarea este redusă la două zecimale.

^c Rezultatele nevalide sunt afișate cu font de culoare albastră.

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

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

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

Componentă	Intervalul de recuperare pentru procesări valide
Control negativ	N/A
Control scăzut pozitiv	+/- 0,5 log ₁₀ UI/ml
Control ridicat pozitiv	+/- 0,5 log ₁₀ UI/ml

Limitări

- A. Utilizarea acestui test este limitată la personalul care a fost instruit cu privire la procedură. Nerespectarea instrucțiunilor din acest prospect poate duce la rezultate eronate.
- B. Rezultatele sigure depind de recoltarea, transportul, depozitarea și procesarea adecvate ale eșantioanelor.

Performanță

Limita de detecție (LoD) utilizând al doilea Standard internațional al OMS

Limita de detecție (LoD) a testului este definită ca fiind concentrația de ARN HCV care este detectată la o probabilitate de minim 95%, în conformitate cu CLSI EP17-A2.¹⁹

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

Tabel 3: Limita de detecție utilizând al doilea Standard internațional al OMS pentru HCV

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

Limita de detecție la nivelul genotipurilor de HCV

LoD a fost determinată prin testarea diluțiilor de eșantioane clinice pozitive la HCV pentru genotipurile 1, 2, 3, 4, 5 și 6 din plasma și serul umane negative la HCV. Concentrațiile au fost determinate utilizând un test comparativ cu marcaj CE. Un minim de 20 de replicare din fiecare membru al panelului au fost testate cu fiecare din cele trei loturi de reactivi pentru un număr minim de 60 de replicare pe membru al panelului. A fost efectuată analiza probit pentru a genera limitele de detecție previzionate 50% și 95%. Valorile LoD prezentate în Tabel 4 sunt rezultatele lotului de reactivi cu limita de detecție previzionată maximă.

Tabel 4: Limita de detecție la nivelul genotipurilor de HCV utilizând eșantioane clinice

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

Intervalul liniar

Intervalul liniar a fost stabilit prin testarea panelurilor de Armored RNA pentru HCV, diluate în plasma și serul umane negative la HCV, în conformitate cu CLSI EP06-A.²⁰ Panelurile s-au încadrat într-un interval de concentrații între 1,0 log UI/ml și 8,2 log UI/ml. Testul Aptima HCV Quant Dx a demonstrat liniaritatea în intervalul testat, cu o limită superioară de cuantificare (ULoQ) de 8,0 log UI/ml, așa cum se arată în Figura 6.

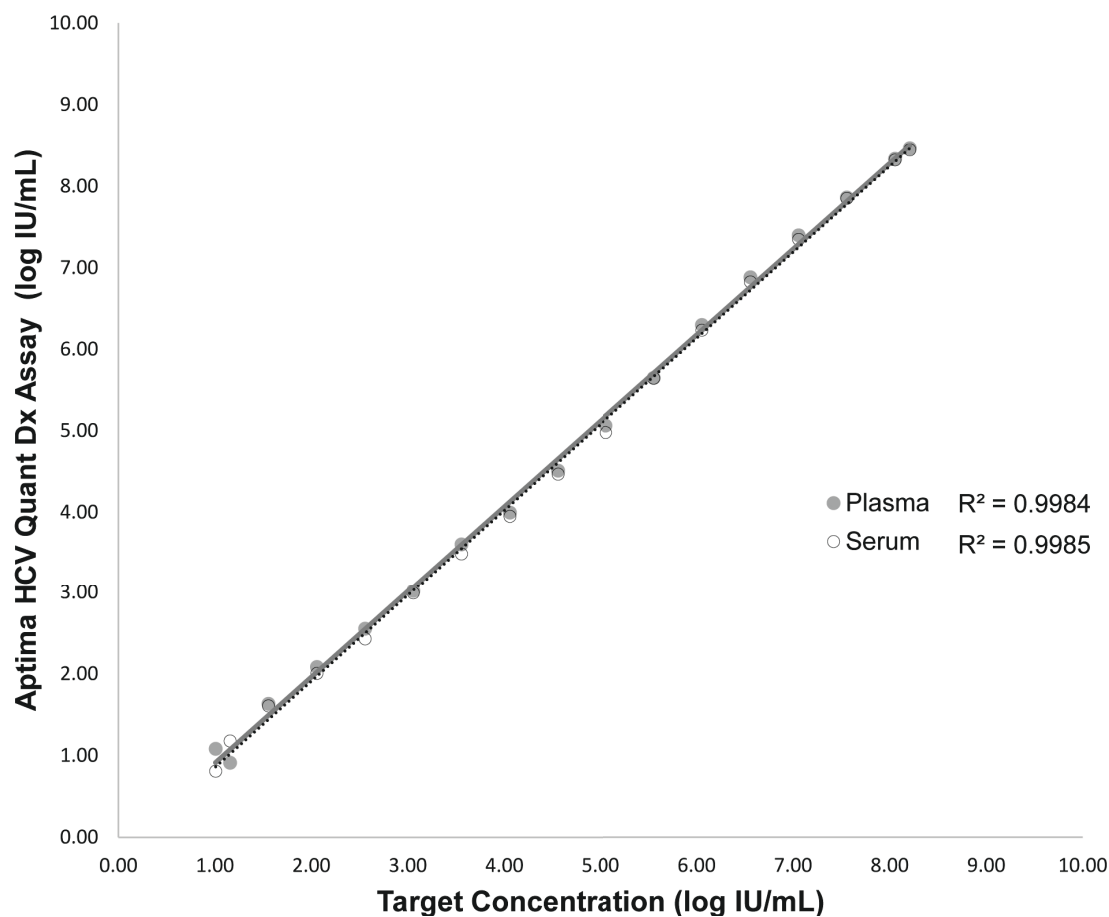


Figura 6. Liniaritatea în plasmă și ser

Liniaritatea la nivelul genotipurilor de HCV

Răspunsul liniar pentru genotipurile 1, 2, 3, 4, 5 și 6 a fost confirmat prin testarea panelurilor de transcripție HCV diluate în soluție tampon la concentrații cuprinse între 1,36 log UI/ml și 7,36 log UI/ml. Testarea a fost efectuată pe trei sisteme Panther, utilizând trei loturi de reactivi. Liniaritatea a fost demonstrată pe tot intervalul testat, pentru toate genotipurile testate așa cum se arată în Figura 7.

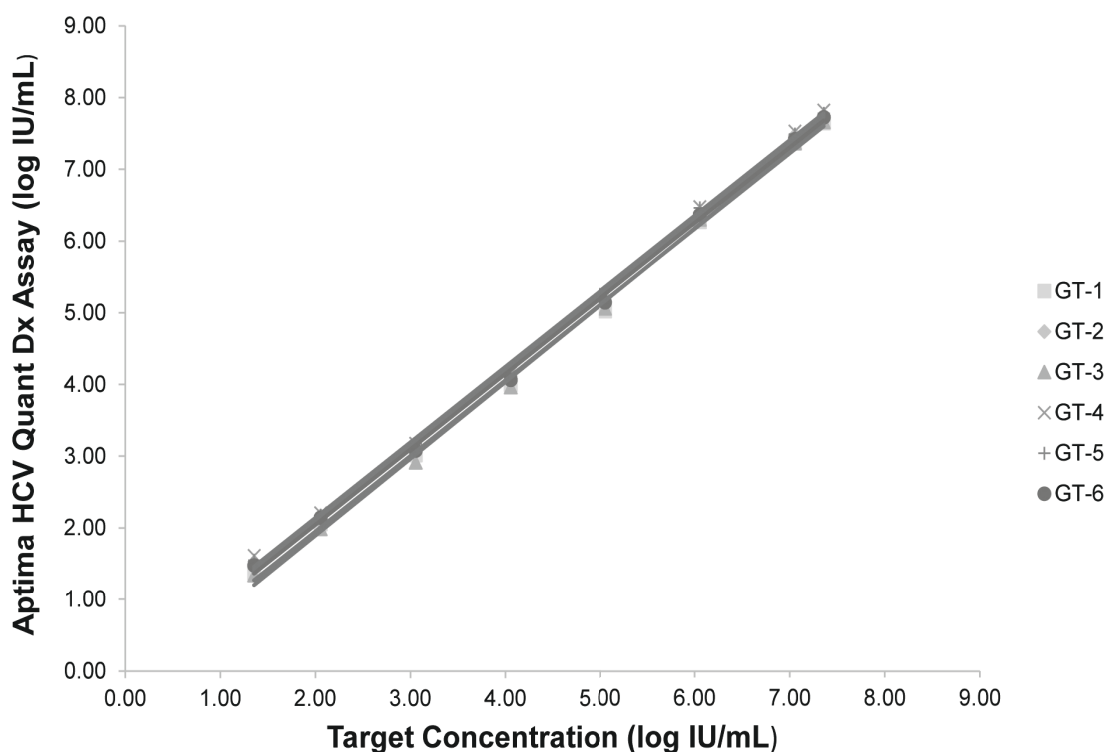


Figura 7. Liniaritatea la nivelul genotipurilor de HCV între 1 și 6

Limita inferioară de cuantificare utilizând al doilea Standard internațional al OMS

Limita inferioară de cuantificare (LLOQ) este definită ca fiind cea mai mică concentrație la care ARN-ul HCV este cuantificat în mod fiabil în cadrul unei erori totale, în conformitate cu CLSI EP17-A2.¹⁹ Eroarea totală a fost estimată prin două metode: eroarea analitică totală (TAE) = |abatere| + 2SD și eroarea totală (TE) = $\text{SQRT}(2) \times 2\text{SD}$. Pentru a asigura acuratețea și precizia măsurătorilor, eroarea totală a testului Aptima HCV Quant Dx a fost setată la 1 log UI/ml (adică, la LLOQ, diferența dintre două măsurători mai mare de 1 log UI/ml este semnificativă din punct de vedere statistic).

LLOQ a fost determinată prin testarea panelurilor din cadrul celui de-al doilea Standard Internațional al OMS pentru ARN-ul virusului hepatitei C (NIBSC 96/798 genotipul 1), diluate în plasma și serul uman negative la HCV. Un minim de 36 de replicare din fiecare diluție au fost testate cu fiecare din cele trei loturi de reactivi pentru un număr minim de 108 de replicare per diluție. Rezultatele obținute din lotul de reactivi cu cea mai mare concentrație mai mare sau egală cu LoD și care îndeplinesc cerințele TE și TAE sunt prezentate în Tabel 5 pentru plasmă și în Tabel 6 pentru ser. LLOQ pentru cel de-al doilea Standard Internațional al OMS este de 7 UI/ml (0,82 log UI/ml) pentru plasmă și de 9 UI/ml (0,93 log UI/ml) pentru ser, așa cum este sintetizat în Tabel 7. LLOQ a fost stabilită la nivel de genotipuri (consultați secțiunea următoare, „Determinarea limitei inferioare de cuantificare (LLOQ) la nivelul genotipurilor de HCV”). Aceste date privind genotipurile stabilesc LLOQ globală pentru test ca fiind 10 UI/ml.

Tabel 5: LLOQ utilizând cel de-al doilea Standard Internațional al OMS pentru HCV diluat în plasmă

Lot de reactiv	Concentrație țintă	Concentrație țintă	Aptima HCV Quant Dx	SD	Abatere	TE calculat	TAE calculat
	(UI/ml)	(log UI/ml)	(log UI/ml)	(log UI/ml)	(log UI/ml)	(log UI/ml)	(log UI/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 = deviație standard

Tabel 6: LLOQ utilizând cel de-al doilea Standard Internațional al OMS pentru HCV diluat în ser

Lot de reactiv	Concentrație țintă	Concentrație țintă	Aptima HCV Quant Dx	SD	Abatere	TE calculat	TAE calculat
	(UI/ml)	(log UI/ml)	(log UI/ml)	(log UI/ml)	(log UI/ml)	(log UI/ml)	(log UI/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 = deviație standard

Tabel 7: Sinteza LLoQ utilizând al doilea Standard Internațional al OMS pentru HCV

Lot de reactiv	LLoQ plasmă		LLoQ ser	
	(log UI/ml)	(UI/ml)	(log UI/ml)	(UI/ml)
1	0,73	5	0,93	9
2	0,82	7	0,89	8
3	0,76	6	0,71	5

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

LLOQ a fost determinată prin testarea diluțiilor de eșantioane clinice pozitive la HCV pentru genotipurile 1, 2, 3, 4, 5 și 6 din plasma și serul umane negative la HCV. Alocarea concentrației pentru eșantioanele clinice a fost determinată utilizând un test comparativ cu marcaj CE. Un minim de 36 de replicare din fiecare membru al panelului a fost testat cu fiecare din cele trei loturi de reactivi pentru un număr minim de 108 de replicare per membru al panelului. Rezultatele obținute din lotul de reactivi cu cea mai mare concentrație mai mare sau egală cu LoD și care îndeplinesc cerințele TE și TAE sunt prezentate în Tabelul 7 pentru plasmă și în Tabelul 8 pentru ser. Limitele LLoQ pentru genotipurile între 1 și 6 din plasmă și ser sunt sintetizate în Tabelul 9. Aceasta a stabilit LLoQ globală pentru test ca fiind 10 UI/ml.

Tabel 8: Determinarea LLoQ la nivelul genotipurilor în plasmă

Genotip	Concentrație țintă	Concentrație țintă	Aptima HCV Quant Dx	SD	Abatere	TE calculat	TAE calculat
	(UI/ml)	(log UI/ml)	(log UI/ml)	(log UI/ml)	(log UI/ml)	(log UI/ml)	(log UI/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 = deviație standard

Tabel 9: Determinarea LLoQ la nivelul genotipurilor în ser

Genotip	Concentrație țintă	Concentrație țintă	Aptima HCV Quant Dx	SD	Abatere	TE calculat	TAE calculat
	(UI/ml)	(log UI/ml)	(log UI/ml)	(log UI/ml)	(log UI/ml)	(log UI/ml)	(log UI/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 = deviație standard

Tabel 10: Sinteza LLoQ la nivelul genotipurilor în plasmă și ser

Genotip HCV	LLOQ plasmă		LLOQ ser	
	(log UI/ml)	(UI/ml)	(log UI/ml)	(UI/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

Precizie

Pentru evaluarea preciziei, a fost realizat un panel cu 10 membri prin diluarea eșantioanelor clinice pozitive la HCV sau prin îmbogățirea Armored RNA în plasma și serul negative la HCV. Panelul a fost testat de trei operatori, utilizând trei loturi de reactivi pe trei sisteme Panther, în decurs de 21 de zile.

Tabel 11 indică precizia rezultatelor testului (exprimată în UI/ml) între instrumente, între operatori, între loturi, între execuții, în cadrul execuțiilor și în total. Variabilitatea totală a fost de $\leq 13,31\%$ la nivelul tuturor membrilor panelului, în principal datorită variabilității din cadrul execuției (adică datorită erorii aleatorii).

Tabel 11: Precizia testului Aptima HCV Quant Dx

Matrice	N	Concentrație medie (log UI/ml)	Între instrumente		Între operatori		Între loturi		Între execuții		Intra-execuție		Total	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Plasmă	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
Plasmă	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
Plasmă	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
Plasmă	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
Plasmă	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
Ser	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
Ser	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
Ser	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
Ser	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
Ser	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 = coeficient de variație, SD = deviație standard

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

Notă: Variabilitatea provenită de la unii factori poate fi negativă numeric, lucru care se poate întâmpla dacă variabilitatea generată de factorii respectivi este foarte mică. Când se întâmplă acest lucru, SD și CV sunt afișate ca 0.

Substanțe cu potențial de interferență

A fost evaluată sensibilitatea testului Aptima HCV Quant Dx la interferența generată de nivelurile ridicate de substanțe endogene sau de medicamentele prescrise frecvent la indivizii infectați cu HCV. Au fost testate probele de plasmă negative la HCV și probele îmbogățite cu HCV la o concentrație de 3,3 log UI/ml a ARN-ului HCV.

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

Eșantioanele clinice de plasmă de la pacienții cu niveluri ridicate de substanțe definite sau de la pacienții cu afecțiunile enumerate în Tabel 12 au fost testate cu testul Aptima HCV Quant Dx. Nu s-a observat nicio interferență în performanța testului.

Tabel 12: Tipuri de eșantioane clinice testate

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

Nu s-a observat nicio interferență în performanța testului în prezența substanțelor exogene enumerate în Tabel 13 la concentrații de cel puțin de trei ori mai mari decât $C_{\max}$ (plasmă umană).

Tabel 13: Substanțe exogene

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

Specificitate

Specificitatea a fost determinată utilizând 198 de eșantioane proaspete și 538 de eșantioane clinice negative la HCV congelate. A fost testat un total de 370 de eșantioane de plasmă și 366 de eșantioane de ser. Specificitatea a fost calculată ca procentaj al probelor negative la HCV cu rezultatele „Not Detected” („Nedetectat”). ARN-ul HCV nu a fost detectat în toate cele 736 de probe. Specificitatea a fost de 100% (736/736, 95% ÎI: 99,6 -100%).

Tabel 14: Specificitatea în eșantioanele clinice din plasmă și din ser

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

ÎI = interval de încredere

Specificitate analitică

Potențiala reactivitate încrucișată la agenții patogeni enumerați în Tabel 15 a fost evaluată în plasma umană negativă la HCV în prezența sau absența a 3,3 log UI/ml de HCV. Nu s-a observat reactivitate încrucișată. Nu a fost observată nicio interferență în prezența agenților patogeni.

Tabel 15: Agenți patogeni testați pentru specificitatea analitică

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

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

^aUI/ml = unități internaționale per ml

^bUFP/ml = unități formatoare de placă per ml

^cTCID50 U/ml = unități cultură tisulară doză infecțioasă per ml

^dpv/ml = particule virale per ml

^eDL/ml = doză letală per ml

^fUFC/ml = unități formatoare de colonii per ml

^gUFI/ml = unități formatoare de incluziuni per ml

Probe clinice conținând virusuri diferite de HCV

Agenții patogeni enumerați în Tabel 16 au fost evaluați prin obținerea eșantioanelor clinice individuale, infectate în mod natural. Acestea au fost testate în prezența sau în absența a 3,3 log UI/ml de ARN HCV. Nu s-a observat reactivitate încrucișată. Nu s-a observat nicio interferență.

Tabel 16: Probe clinice testate pentru specificitatea analitică

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

Repetabilitatea eșantioanelor clinice

Repetabilitatea a fost evaluată prin testarea a trei replicare ale eșantioanelor clinice de plasmă și ser pozitive la HCV infectate natural. Concentrația medie și devierea standard pentru probele de plasmă și de ser testate sunt prezentate în Tabele 17 și în 18.

Tabel 17: Repetabilitatea eșantioanelor clinice de plasmă Tabel 18: Repetabilitatea eșantioanelor clinice de ser

ID eșantion de plasmă	Concentrație medie (log UI/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 eșantion de ser	Concentrație medie (log UI/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

^aRezultat obținut pentru două din trei replicare testate.
Un replicat cu deviație extremă a fost eliminat.

Diluarea probelor utilizând diluantul pentru eșantioane

Pentru a evalua recuperarea ARN-ului HCV în probele diluate cu diluant pentru eșantioane Aptima, probele de plasmă și de ser care au acoperit intervalul liniar au fost diluate 1:3 cu diluant pentru eșantioane Aptima. În plus, eșantioanele clinice infectate natural, cu titru mare, și probele îmbogățite cu Armored RNA cu concentrații peste ULoQ au fost diluate 1:100 cu diluant pentru eșantioane Aptima. Fiecare probă a fost testată în stare pură și diluată (1:3 sau 1:100) în triplicat. Diferențele dintre concentrația medie raportată (factorul de diluție aplicat la rezultatul probei diluate) și concentrația medie pură sunt prezentate în Tabel 19 pentru plasmă și în Tabel 20 pentru ser. Concentrațiile probelor au fost recuperate cu precizie în probele diluate.

Tabel 19: Diluarea probelor cu diluant pentru eșantioane Aptima – plasmă

Diluție	Concentrație medie pură (log UI/ml)	Concentrație medie raportată ^a (log UI/ml)	Diferență
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

^aConcentrația raportată este valoarea calculată după aplicarea factorului de diluție.

^bEșantion îmbogățit.

Notă: Toate rezultatele > 8,00 log UI/ml au fost estimate utilizând analiza suplimentară.

Tabel 20: Diluarea probelor cu diluant pentru eșantioane Aptima – ser

Factor de diluție	Concentrație medie pură (log UI/ml)	Concentrație medie raportată ^a (log UI/ml)	Diferență
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

^aConcentrația raportată este valoarea calculată după aplicarea factorului de diluție.

^bEșantion îmbogățit.

^cRezultat obținut pentru două din trei replicare testate. Un replicat cu deviație extremă a fost eliminat.

Notă: Toate rezultatele > 8,00 log UI/ml au fost estimate utilizând analiza suplimentară.

Corelația metodelor

Performanța testului Aptima HCV Quant Dx a fost evaluată pe baza unui test comparativ cu marcaj CE prin testarea eșantioanelor clinice nediluate de la pacienții infectați cu HCV pe trei sisteme Panther folosind patru loturi de reactivi. Un total de 1058 probe de plasmă și de ser (872 plasmă, 186 ser) la nivelul tuturor genotipurilor de HCV din intervalul liniar comun pentru ambele teste a fost utilizat pentru regresia liniară, după cum se arată în Figura 8.

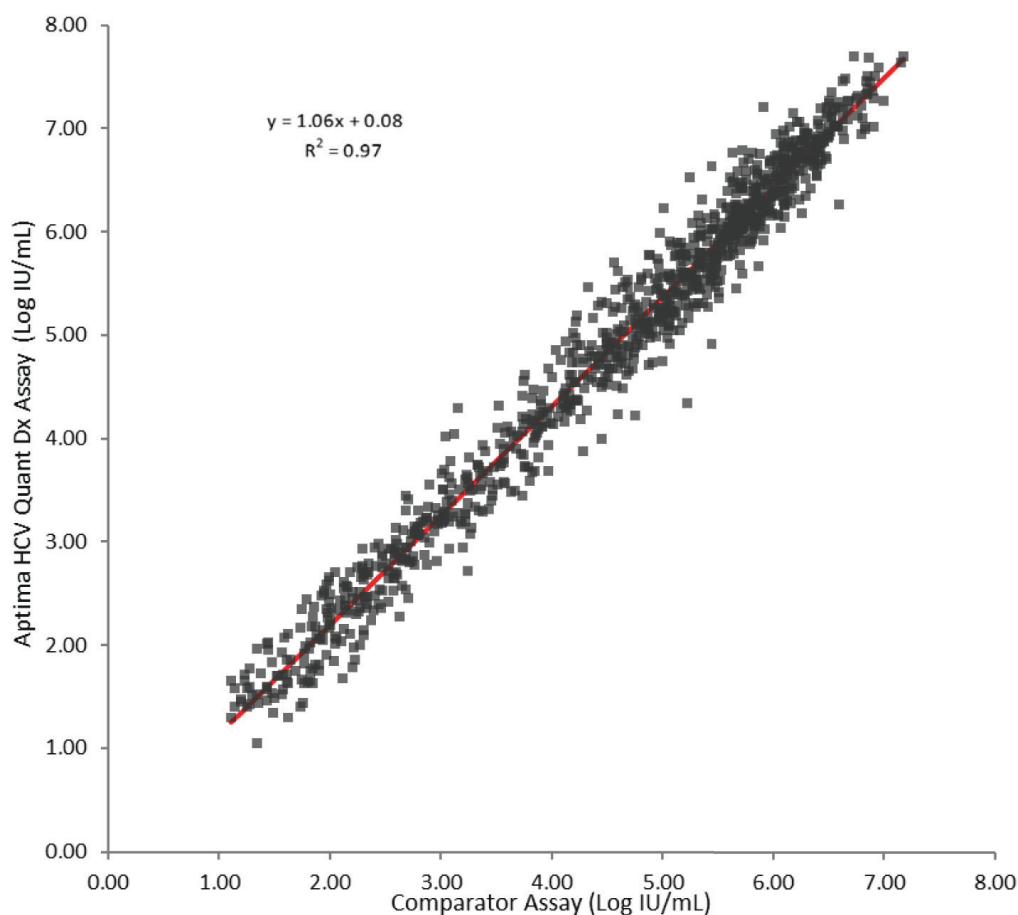


Figura 8. Corelația dintre testul Aptima HCV Quant Dx și testul comparativ

Acordul diagnosticului

Pentru a evalua acordul diagnosticului, s-au testat 227 de eșantioane de plasmă și de ser de la indivizii pozitivi la HCV, utilizând testul Aptima HCV Quant Dx și un test calitativ comparativ cu marcaj CE. Orice rezultat care obține un rezultat cuantificabil sau detectabil a fost clasificat drept „Detected” („Detectat”). Orice rezultat al țintei care nu a fost detectat a fost clasificat drept „Target Not Detected” („Țintă nedetectată”). Acordul diagnosticului între teste a fost de 100%, așa cum se arată în Tabel 21.

Tabel 21: Acordul diagnosticului între testul Aptima HCV Quant Dx și testul comparativ

		Test Aptima HCV Quant Dx	
		Detected (Detectat)	Target Not Detected (Țintă nedetectată)
Test comparativ	Detected (Detectat)	99	0
	Target Not Detected (Țintă nedetectată)	0	128

Transferul

Pentru a stabili dacă sistemul Panther minimizează riscul rezultatelor fals pozitive provenite din contaminarea la transfer, a fost efectuat un studiu folosind paneluri îmbogățite pe trei sisteme Panther. Transferul a fost evaluat utilizând probe de plasmă îmbogățite cu Armored RNA, cu titru mare (7 log UI/ml) intercalate între probele negative la HCV, într-un tipar de tablă de șah. Testarea a fost efectuată în mai mult de cincisprezece execuții. Rata globală de transfer a fost de 0,14% (1/704).

Panelul de seroconversie

Au fost testate 11 seturi de paneluri de seroconversie HCV, în total 72 de probe. Rezultatele testului Aptima HCV Quant Dx au fost comparate cu rezultatele testării pentru anticorpi anti-HCV. Numărul de zile până la primul rezultat reactiv este menționat în Tabel 22. Testul Aptima HCV Quant Dx a detectat prezența HCV în medie cu 20 de zile mai devreme decât testările pentru anticorpi.

Tabel 22: Sinteza datelor privind panelul de seroconversie

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

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

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

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

^aPrima recoltare de sânge nu a fost testată, din cauza indisponibilității probei de la furnizor.

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

^cA doua recoltare de sânge nu a fost testată, din cauza indisponibilității probei de la furnizor.

Bibliografie

1. Averhoff FM, Glass N and Holtzman D. Global Burden of Hepatitis C: Considerations for Healthcare Providers in the United States. *Clinical Infectious Diseases* 2012; 55 (S1): S10-15.
2. Current and Future Disease Progression of the Chronic HCV Population in the United States (2013) PLOS ONE Volume 8: Issue 5; 1-10.
3. Engle RE, Bukh J, Alter HJ et al., <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24797372> Transfusion-associated hepatitis before the screening of blood for hepatitis risk factors. *Transfusion*. 5 mai 2014
4. Lee M-H, Yang, H-I, Yuan Y et al., Epidemiology and natural history of hepatitis C virus infection. *World J Gastroenterology* 2014; 20 (28): 9270-9280
5. Hepatitis C Viruses: Genome and Molecular Biology (2006); Horizon Biosciences
6. Smith DB, Bukh J, Kuiken C, et al, P. Expanded classification of hepatitis C virus into 7 genotypes and 67 subtypes: updated criteria and genotype assignment web resource. *Hepatology*. 2014 Jan;59(1):318-27.
7. EASL Recommendations on treatment of Hepatitis C 2014: www.easl.eu/_clinical-practice-guideline
8. AASLD și Infectious Diseases Society of America (IDSA), în colaborare cu International Antiviral Society-SUA (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-α2a/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); versiunea curentă.
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

Asistență clienți: +1 800 442 9892
customersupport@hologic.com

Asistență tehnică: +1 888 484 4747
molecularsupport@hologic.com

Pentru mai multe informații de contact, vizitați www.hologic.com.



Hologic BV
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

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

Armored RNA este o marcă comercială a Asuragen, Inc.

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

Este posibil ca acest produs să fie acoperit de unul sau mai multe brevete S.U.A. identificate la adresa www.hologic.com/patents.

© 2015-2025 Hologic, Inc. Toate drepturile rezervate.

AW-13249-3101 Rev. 006
2025-03