

Aptima® HCV Quant Dx Assay

In vitro diagnosztikai használatra.

Kizárólag U.S. exportra.

Általános tudnivalók	2
Alkalmazási terület	2
A teszt összefoglalása és leírása	2
Az eljárás alapelvei	3
Figyelmeztetések és óvintézkedések	4
Reagenstárolási és -kezelési előírások	7
Mintavétel és -tárolás	8
Minták a Panther System fedélzetén	11
Vizsgálati minta szállítása	11
Panther System	12
Mellékelt reagensek és anyagok	12
Szükséges, de külön beszerezhető anyagok	13
Opcionális anyagok	14
A Panther System teszteljárás	14
Megjegyzések az eljáráshoz	18
Minőségellenőrzés	20
A vizsgálat kalibrálása	20
Negatív és pozitív kontrollok	20
Belső kalibrátor/belső kontroll	20
Az eredmények értelmezése	21
Korlátozások	22
Teljesítőképesség	23
Kimutatási határ (LoD) a WHO 2. nemzetközi szabványának alkalmazásával	23
A kimutatási határ a HCV genotípusok között	24
Lineáris tartomány	25
Linearitás a HCV genotípusok között	26
A mennyiségi meghatározás alsó határa a 2. WHO nemzetközi szabvány felhasználásával	26
A kvantitatív alsó határérték (LLOQ) meghatározása a HCV genotípusok között	28
Pontosság	30
Potenciálisan interferáló anyagok	31
Specifitás	32
Analitikai specifitás	33
HCV-től eltérő vírusokat tartalmazó klinikai minták	34
Klinikai minták ismételtetősége	34
Minta hígítása mintahígítóval	35
Módszerkorreláció	37
Diagnosztikai egyezés	38
Átvitel	38
Szerokonverziós panel	39
Irodalomjegyzék	40

Általános tudnivalók

Alkalmazási terület

Az Aptima® HCV Quant Dx vizsgálat egy valós idejű, transzkripcióval mediált amplifikációs teszt. Ez a vizsgálat a hepatitis C-vírus (HCV) RNS kimutatására és mennyiségi meghatározására szolgál HCV-fertőzött egyének friss és fagyasztott humán szérumában és plazmájában.

A plazma etilén-diamin-tetraecetsav (EDTA), véralvadásgátló citrát-dextróz (ACD) oldatban és plazma előkészítő csövekben (PPT) készíthető elő. A szérum előkészíthető szérumcsövekben és szérumszeparátor csövekben (SST). A minták tesztelése a Panther® rendszerrel történik, amely automatizált mintafeldolgozást, amplifikációt, detektálást és kvantitatív meghatározást végez. Az 1-6 HCV-genotípusokat tartalmazó minták validálásra kerülnek a vizsgálatban történő kimutatás és kvantitatív meghatározás szempontjából.

Az Aptima HCV Quant Dx vizsgálat a HCV-fertőzés diagnózisának segédeszközeként használható. A vizsgálat pozitív HCV-antitest-eredménnyel rendelkező betegek aktív HCV-fertőzésének megerősítésére használható. A HCV RNS kimutatása azt jelzi, hogy a vírus replikálódik, és ezért az aktív fertőzés bizonyítéka.

Az Aptima HCV Quant Dx vizsgálat a HCV-ellenes gyógyszeres terápiában részesülő HCV-fertőzött betegek kezelésének segédeszközeként javallt. A vizsgálat a HCV RNS-szinteket méri a kiindulási szinten, a kezelés alatt és a kezelés után a tartós virológiai válasz (SVR) meghatározásához. Az Aptima HCV Quant Dx vizsgálat eredményeit az összes releváns klinikai és laboratóriumi lelet összefüggésében kell értelmezni.

Az Aptima HCV Quant Dx vizsgálat nem arra szolgál, hogy a HCV jelenlétét vérben vagy vérkészítményekben szűrővizsgálatként mutassa ki.

A teszt összefoglalása és leírása

A HCV vérrel terjedő kórokozó, amely világszerte közegészségügyi terhet jelent, mivel globálisan akár 170 millió ember is fertőzött lehet, és évente 350 000 ember hal meg a HCV-vel összefüggő betegségek, köztük a cirrózis és a májrák miatt.^{1,2} A HCV vérrel, vérkészítményekkel vagy perkután expozíciót lehetővé tevő tevékenységekkel történő expozíció útján terjed.^{3,4} Genetikailag a HCV egy körülbelül 9500 nukleotidból álló pozitív szálú RNS genomot tartalmaz, amely strukturális fehérjéket (mag, E1 és E2 glikoproteinek, p7 ioncsatorna fehérje) és nem strukturális fehérjéket (NS2, NS3, NS4A/B, NS5A/B) kódol, ez utóbbiak kulcsfontosságú vírusreplikációs fehérjék és a közvetlen hatású antivirális szerek célpontjai.^{4,5} A genom két nem transzlált régiója (UTR), az 5'UTR és a 3'UTR a genom transzlációs és replikációs/csomagoló szerepét tölti be.⁵ Az 5'-UTR a legkonzerváltabb genomi régió a hat fő HCV-genotípusban.⁶

Klinikai szempontból a tünetmentes HCV-fertőzés nagy gyakorisággal fordul elő, és a kimutatható antitestek ellenére (jellemzően 5–12 héten belül) a betegek akár 75%-ánál krónikus HCV-fertőzés fordul elő.² A HCV laboratóriumi tesztelési algoritmusok megkövetelik az aktív HCV-fertőzés diagnózisát az antitest-pozitív egyéneknél a HCV RNS kimutatásával a plazmában vagy szérumban, hogy lehetővé váljon a megfelelő kapcsolódás a kezeléshez.^{7,8,9}

A HCV RNS (vírusterhelés) kvantitatív meghatározása kulcsfontosságú szerepet játszik a sikeres HCV-kezelés meghatározásában és nyomon követésében. A tartós virológiai válasz (SVR), amely a sikeres terápia után nem kimutatható HCV RNS-t jelenti, a HCV-gyógyulás kulcsfontosságú markere.^{10,11} Interferonalapú terápia esetén a korai virológiai válasz (EVR), amely a HCV-vírusterhelés 2 log vagy nagyobb mértékű csökkenését jelenti 12 hetes terápia után, és a gyors virológiai válasz (RVR), amely a HCV RNS nem kimutatható szintjét jelenti 4 hetes terápia után, az SVR pozitív előrejelzőjének bizonyult.^{10,12,13} A vírus kinetikájának ezen markerei felhasználhatók a válaszvezérelt megközelítésekben, amelyek a kezelési lehetőségeket

testre szabják az SVR elérése érdekében a terápia leállítására vagy meghosszabbítására.¹⁴ Továbbá a hosszú távú követéses vizsgálatok bizonyították az SVR tartósságát a sikeres kezelés után, és a vírusürítés megakadályozza a májbetegség progresszióját.¹⁰

A közvetlen hatású antivirális szerek (DAA-k) korában a HCV vírusterhelését a terápia előtt mérik az alapszintű vírusterhelés megállapítására, a kezelés alatt a kezelésre adott válaszok megállapítására, a terápia után pedig az SVR (vagy a visszaesés) értékelésére. A DAA-kra csaknem minden betegnél a kezelés során virológiai választ érnek el, amely a meghatározás szerint az alsó kvantitatív meghatározási határérték (<LLOQ) alatt van, majd a legtöbb kezeléssel végzett terápia után 12 héttel 90%-nál nagyobb SVR arány érhető el.^{8,11} A HCV RNS kimutatása és kvantitatív meghatározása továbbra is kulcsfontosságú szerepet fog játszani a HCV diagnózisában és az antivirális terápiában részesülő betegek kezelésében.

Az eljárás alapelvei

Az Aptima HCV Quant Dx vizsgálat egy olyan nukleinsav-amplifikációs teszt, amely valós idejű transzkripció-mediált amplifikációs (TMA) technológiát alkalmaz a HCV RNS kimutatására és kvantitatív meghatározására a terápia előtt a diagnózis segítésére vagy az alapszintű vírusterhelés megállapítására, valamint a kezelés alatti és utáni válaszok mérésére. A vizsgálat a HCV-genom egy konzervált régióját célozza, és az 1., 2., 3., 4., 5. és 6. genotípust detektálja és kvantitatívan meghatározza. A vizsgálat a WHO hepatitis C-vírusra vonatkozó 2. nemzetközi szabványa (NIBSC 96/798 kód) alapján van szabványosítva.¹²

Az Aptima HCV Quant Dx vizsgálat három fő lépést foglal magában, amelyek mindegyike egyetlen csőben zajlik a Panther® rendszerben: a célmolekula megkötése, a célmolekula amplifikációja TMA révén, és az amplifikációs termékek (amplikon) kimutatása fluoreszcens jelölésű próbákkal (fáklyákkal).

A célmolekula megkötése során a vírusos RNS-t izolálják a mintákból. A mintát detergenssel kezelik a vírusburok szolubilizálása, a fehérjék denaturálása és a vírus genomi RNS felszabadítása érdekében. A megkötő oligonukleotidok a HCV RNS magasan konzervált régióihoz hibridizálódnak, ha azok jelen vannak a vizsgálati mintában. A hibridizált célmolekulát ezután mágneses mikrorészecskékre rögzítik, amelyeket mágneses térben választanak el a mintától. A mosási lépések eltávolítják az idegen komponenseket a reakciócsőből.

A célmolekula amplifikációja TMA-val történik, amely egy transzkripcióval mediált nukleinsav-amplifikációs módszer, amely két enzimet, a Moloney egér leukémiavírus (MMLV) reverz transzkriptázt és a T7 RNS-polimerázt használja. A reverz transzkriptáz segítségével létrehozzák a célszekvencia DNS-kópiáját (amely a T7 RNS-polimeráz promóterszekvenciáját tartalmazza). A T7 RNS-polimeráz a DNS kópia alapján több kópiát készít az RNS amplikonból. Az Aptima HCV Quant Dx vizsgálat a TMA-módszert használja a HCV-genom 5' UTR egy részének amplifikálásához. E régió amplifikációja specifikus primerekkel történik, amelyeket az 1., 2., 3., 4., 5. és 6. HCV-genotípus amplifikálására terveztek.

A kimutatás egyszálú nukleinsav fáklyákkal történik, amelyek a célpont amplifikációja során jelen vannak, és amelyek valós időben specifikusan hibridizálódnak az amplikonhoz. Minden fáklya rendelkezik egy fluorofórral és egy kioltóval. Amikor a fáklya nem hibridizálódik az amplikonhoz, a kioltó a fluorofór közelében van, és elnyomja a fluoreszcenciát. Amikor a fáklya az amplikonhoz kötődik, a kioltó anyag távolabb kerül a fluorofortól, és az egy fényforrás által gerjesztve egy adott hullámhosszon jelet fog kibocsátani. Minél több fáklya hibridizálódik az amplikonhoz, annál nagyobb fluoreszcens jel keletkezik. Az az idő, amely alatt a fluoreszcens jel eléri a meghatározott küszöbértéket, arányos a kiindulási HCV koncentrációval. Minden reakció rendelkezik egy belső kalibrátorral/belső kontrollal (IC), amely ellenőrzi a minta feldolgozásában, az amplifikációban és a detektálásban előforduló eltéréseket. A minta koncentrációját a Panther rendszer szoftvere határozza meg az egyes reakciók HCV és IC jeleinek felhasználásával és a kalibrációs adatokkal való összehasonlításával.

Figyelmeztetések és óvintézkedések

- A. Az érvénytelen eredmények kockázatának csökkentése érdekében a vizsgálat elvégzése előtt figyelmesen olvassa el a teljes használati utasítást és a *Panther® System kezelői kézikönyvét*.

Laboratóriumhoz kapcsolódó

- B. VIGYÁZAT: A jelen vizsgálat kontrolljai humán plazmát tartalmaznak. A plazma negatív hepatitis B felszíni antigénre (HBsAg), HCV elleni antitestekre, HIV-1 és HIV-2 elleni antitestekre és HIV-antigénre, ha az USA Élelmiszer- és Gyógyszerügyi Hatósága (US Food and Drug Administration) által engedélyezett eljárásokkal vizsgálják. Ezenkívül a plazma nem reagál a HCV RNS-re és a HIV-1 RNS-re, amikor engedélyezett nukleinsav-tesztekkel, egyesített mintákon vizsgálják. Minden emberi vérből származó anyagot potenciálisan fertőzőnek kell tekinteni, és az általános óvintézkedéseknek megfelelően kell kezelni.^{15,16,17}
- C. Ezt az eljárást csak az Aptima HCV Quant Dx vizsgálat használatára és a potenciálisan fertőző anyagok kezelésére megfelelően kiképzett személyzet végezheti. Kiömlés esetén azonnal fertőtlenítsen a megfelelő helyszíni eljárások szerint.
- D. Kizárólag a gyártótól beszerzett vagy a gyártó által előírt egyszer használatos laboratóriumi eszközök használhatók.
- E. Tartsa be a rutinszerű laboratóriumi óvintézkedéseket. Ne pipetázzon szájon át. A kijelölt munkaterületeken tilos az étkezés, ivás vagy dohányzás. A minták és a készletek reagenseinek kezelése során viseljen egyszer használatos, púdermentes kesztyűt, védőszemüveget és laborköpenyt. A minták és a készletek reagenseinek kezelését követően a kezet alaposan meg kell mosni.
- F. A munkafelületeket, pipettákat és egyéb felszereléseket rendszeresen dekontaminálni kell 2,5–3,5%-os (0,35–0,5 M) nátrium-hipoklorit oldattal.
- G. A helyi, állami és szövetségi előírásoknak megfelelően ártalmatlanítson minden olyan anyagot, amely érintkezésbe került a mintákkal és a reagensekkel.^{15,16,17,18} Alaposan tisztítsa és fertőtlenítsen az összes munkafelületet.
- H. A kontrollok nátrium-azidot tartalmaznak tartósítószerként. Ne használjon fémcsövet a reagensek átviteléhez. Ha a nátrium-azidvegyületeket tartalmazó oldatokat vízvezetékrendszerben ártalmatlanítják, azokat hígítani kell, és bőséges mennyiségű folyóvízzel át kell öblíteni. Ezek az óvintézkedések a lerakódások felhalmozódásának elkerülése érdekében javasoltak a fémcsővezetékben, amelyekben robbanásveszélyes állapotok alakulhatnak ki.
- I. A molekuláris laboratóriumok helyes szabványos gyakorlatai közé tartozik a környezeti monitorozás. A laboratóriumi környezet ellenőrzésére a következő eljárás javasolt.
1. Vegyen egy vattapálcát, és párosítsa az Aptima Specimen Aliquot Tube (SAT) csővel.
 2. Címkézzon fel minden SAT eszközt megfelelően.
 3. Töltsön meg minden SAT-ot 1 mL Aptima mintahígítóval.
 4. A felületi minták gyűjtéséhez nedvesítsen meg enyhén egy tampont nukleázmentes deionizált vízzel.
 5. A kívánt felületet felülről lefelé irányuló függőleges mozdulatokkal törölje át. Forgassa el a pálcát körülbelül fél fordulatot, miközben a helyet áttörli.
 6. Azonnal helyezze a kenetmintát a csőbe, és óvatosan forgassa meg a pálcát a hígítóban, hogy kivonja a lehetséges felvett anyagokat. Nyomja a tampont a szállítócső oldalára, hogy a lehető legtöbb folyadékot kinyerje. Dobja ki a tampont, és zárja le a csövet.

7. Ismételje meg a lépéseket a többi kenetmintával.
8. Tesztelje a kenetet molekuláris vizsgálattal.

Mintához kapcsolódó

- J. A minták fertőzőek lehetnek. A vizsgálat végzése során alkalmazzon általános óvintézkedéseket.^{15,16,17} A megfelelő kezelési és ártalmatlanítási módszereket a helyi előírásoknak megfelelően kell meghatározni.¹⁸ Ezt az eljárást csak az Aptima HCV Quant Dx vizsgálat használatára és a fertőző anyagok kezelésére megfelelően kiképzett személyzet végezheti.
- K. A minta épségének megőrzése érdekében a minta szállítása során tartsa fenn a megfelelő tárolási körülményeket. A minták stabilitását az ajánlottól eltérő szállítási körülmények között nem értékelték.
- L. A minták kezelési lépései során óvakodjon a keresztszennyezéstől. Különösen ügyeljen arra, hogy elkerülje az aeroszolok terjedése miatti szennyeződést, amikor a mintákat kilazítja vagy kinyitja. A minták rendkívül nagy mennyiségű organizmust tartalmazhatnak. Ügyeljen arra, hogy a mintatartályok ne érintkezzenek egymással, és ne vigye az elhasznált anyagokat a minták fölé, amikor kidobja azokat. Ha megérinti a vizsgálati mintát, cserélje le a kesztyűjét.

Vizsgálathoz kapcsolódó

- M. Ne használja a reagenskészletet, a kalibrátort vagy a kontrollokat a lejáratí idő után.
- N. Ne cserélje fel, ne keverje vagy kombinálja a különböző törzstételszámú készletekből származó vizsgálati reagenseket. A vizsgálati folyadékok különböző tételszámúak lehetnek. A kontrollok és a kalibrátor különböző tételszámúak lehetnek.
- O. Kerülje a reagensek mikrobiális vagy nukleázzal történő kontaminációját.
- P. Zárja le és tárolja az összes vizsgálati reagenst a megadott hőmérsékleten. A nem az előírt módon tárolt vizsgálati reagensek befolyásolhatják a vizsgálat teljesítőképességét. További információkért lásd: *Reagenstárolási és -kezelési előírások és A Panther System teszteljárás*.
- Q. Ne kombináljon semmilyen vizsgálati reagenst vagy folyadékot külön utasítás nélkül. Ne töltsé utána a reagenseket vagy folyadékokat. A Panther rendszer ellenőrzi a reagensek szintjét.
- R. A készletben lévő egyes reagensek R- és S-mondatokkal vannak ellátva.

Megjegyzés: A veszélyjelző mondatok megfelelnek az EU biztonsági adatlapokon (SDS) alkalmazott osztályoknak. Az Ön régiójában használt veszélyjelző információkat lásd a weboldalunkon – www.hologiccsds.com – található biztonsági adatlap könyvtár régióspecifikus biztonsági adatlapján (SDS).



HCV VL Kit Controls

Nátrium-azid <1%

Humán szérum 95-100%

—

H412 – Ártalmas a vízi élővilágra, hosszan tartó károsodást okoz.

P273 – Kerülni kell az anyagnak a környezetbe való kijutását.

P501 – A tartalom/edény elhelyezése hulladékként: jóváhagyott hulladékkezelő létesítményben.

—	Amplification Reagent <i>Magnézium-klorid 60-65%</i> — H412 – Ártalmas a vízi élővilágra, hosszan tartó károsodást okoz. P273 – Kerülni kell az anyagnak a környezetbe való kijutását. P501 – A tartalom/edény elhelyezése hulladékként: jóváhagyott hulladékkezelő létesítményben.
—	Enzyme Reagent <i>HEPES, 1–5%</i> <i>Triton X-100 1–5%</i> — H412 – Ártalmas a vízi élővilágra, hosszan tartó károsodást okoz. P273 – Kerülni kell az anyagnak a környezetbe való kijutását. P501 – A tartalom/edény elhelyezése hulladékként: jóváhagyott hulladékkezelő létesítményben.
—	Enzyme Reconstitution Solution <i>HEPES, 1–5%</i> <i>Triton X-100 5–10%</i> <i>Glicerol 20–25%</i> — H412 – Ártalmas a vízi élővilágra, hosszan tartó károsodást okoz. P273 – Kerülni kell az anyagnak a környezetbe való kijutását. P501 – A tartalom/edény elhelyezése hulladékként: jóváhagyott hulladékkezelő létesítményben.
—	Promoter Reagent <i>Magnézium-klorid 60-65%</i> — H412 – Ártalmas a vízi élővilágra, hosszan tartó károsodást okoz. P273 – Kerülni kell az anyagnak a környezetbe való kijutását. P501 – A tartalom/edény elhelyezése hulladékként: jóváhagyott hulladékkezelő létesítményben.
—	Target Capture Reagent <i>HEPES, 15–20%</i> <i>Lauril-szulfát, lítiumsó 5–10%</i> <i>Lítium hidroxid monohidrát 1–5%</i> <i>Szukcinilsav 1–5%</i> — H412 – Ártalmas a vízi élővilágra, hosszan tartó károsodást okoz. P273 – Kerülni kell az anyagnak a környezetbe való kijutását. P501 – A tartalom/edény elhelyezése hulladékként: jóváhagyott hulladékkezelő létesítményben.
—	HCV VL Kit Calibrators <i>HEPES, 15–20%</i> <i>Lauril-szulfát, lítiumsó 5–10%</i> <i>Lítium hidroxid monohidrát 1–5%</i> <i>Szukcinilsav 1–5%</i> — H412 – Ártalmas a vízi élővilágra, hosszan tartó károsodást okoz. P273 – Kerülni kell az anyagnak a környezetbe való kijutását. P501 – A tartalom/edény elhelyezése hulladékként: jóváhagyott hulladékkezelő létesítményben.

Reagenstárolási és -kezelési előírások

- A. A következő táblázat a reagensek, a kontrollok és a kalibrátor tárolási körülményeit és stabilitását mutatja be.

Reagens	Bontatlan tárolás	Nyitott készlet (feloldott)	
		Tárolás	Stabilitás
qHCV Amplification Reagent	2 °C és 8 °C között		
qHCV Amplification Reconstitution Solution	2 °C és 8 °C között	2 °C és 8 °C között	30 nap ^a
qHCV Enzyme Reagent	2 °C és 8 °C között		
qHCV Enzyme Reconstitution Solution	2 °C és 8 °C között	2 °C és 8 °C között	30 nap ^a
qHCV Promoter Reagent	2 °C és 8 °C között		
qHCV Promoter Reconstitution Solution	2 °C és 8 °C között	2 °C és 8 °C között	30 nap ^a
qHCV Target Capture Reagent	2 °C és 8 °C között	2 °C és 8 °C között	30 nap ^a
qHCV NC CONTROL – (negatív kontroll)	-15 °C és -35 °C között	15 °C és 30 °C között	Egyszer használatos üveg 24 órán belül felhasználandó
qHCV LPC CONTROL + (alacsony pozitív kontroll)	-15 °C és -35 °C között	15 °C és 30 °C között	Egyszer használatos üveg 24 órán belül felhasználandó
qHCV HPC CONTROL + (magas pozitív kontroll)	-15 °C és -35 °C között	15 °C és 30 °C között	Egyszer használatos üveg 24 órán belül felhasználandó
qHCV PCAL (pozitív kalibrátor)	-15 °C és -35 °C között	15 °C és 30 °C között	Egyszer használatos üveg 24 órán belül felhasználandó

^a Amikor a reagenseket kiveszik a Panther rendszerből, azonnal vissza kell helyezni őket a megfelelő tárolási hőmérsékletű helyre.

- B. A fel nem használt feloldott reagenseket és a célmolekula-megkötő reagenst (TCR) ki kell dobni 30 nap után vagy a törzstétel lejáratí ideje után, amelyik hamarabb következik be.
- C. A Panther rendszer fedélzetén tárolt reagensek 72 órás fedélzeti stabilitással rendelkeznek. A reagensek akár 5 alkalommal is betölthetők a Panther rendszerbe. A Panther rendszer minden egyes alkalommal naplózza a reagensek betöltését.
- D. A kalibrátor felolvasztása után az oldatnak tisztának kell lennie, azaz nem lehet zavaros és nem tartalmazhat csapadékot.
- ⚠ E. A promoter reagens és a feloldott promoter reagens fényérzékeny. A tárolás és a felhasználásra való előkészítés során védje ezeket a reagenseket a fénytől.

Mintavétel és -tárolás

Megjegyzés: Minden mintát kezeljen úgy, mintha potenciálisan fertőző ágenseket tartalmazna. Alkalmazzon általános óvintézkedéseket.

Megjegyzés: A minta kezelési lépései során ügyeljen a keresztszennyezés elkerülésére. Például dobja ki a használt anyagot anélkül, hogy nyitott csöveken vinné át.

Megjegyzés: Csak műanyag másodlagos csövek tárolása ajánlott.

A következő üveg- vagy műanyag csövekbe levett teljes vérminták használhatók:

- Etilén-diamin-tetraecetsav (EDTA) vagy savas citrát-dextróz (ACD) antikoagulánsokat tartalmazó csövek vagy
- Plazma előkészítő csövek (PPT)
- Szérumcsövek
- Szérumseparátor csövek (SST)

Szérum esetében a további feldolgozás előtt hagyja, hogy a vérrög kialakuljon.

A. Mintavétel

A teljes vér 2 °C és 30 °C között tárolható, és a mintavételt követő 6 órán belül centrifugálni kell. Válassza el a plazmát vagy szérumot a pelletált vörösvértestektől a gyártó által a használt csőre vonatkozóan megadott utasításokat követve. A plazma vagy szérum vizsgálható a Panther rendszerben egy elsődleges csőben, vagy átvihető egy másodlagos csőbe, például az Aptima minta alikvot csőbe. Az 500 µL-es reakciótér fogat eléréséhez a plazma vagy szérum minimális térfogata az elsődleges gyűjtőcsövek esetében legfeljebb 1200 µL, a másodlagos csövek esetében pedig 700 µL. A következő táblázat meghatározza az egyes elsődleges és másodlagos csőtípusok holt térfogati követelményeit.

Cső (méret és típus)	Holt térfogat a Panther rendszeren
Aptima Sample Aliquot Tube (SAT)	0,2 mL
12x75 mm	0,5 mL
13x100 mm	0,5 mL
13x100 mm géllal	0,3 mL
16x100 mm géllal	0,7 mL

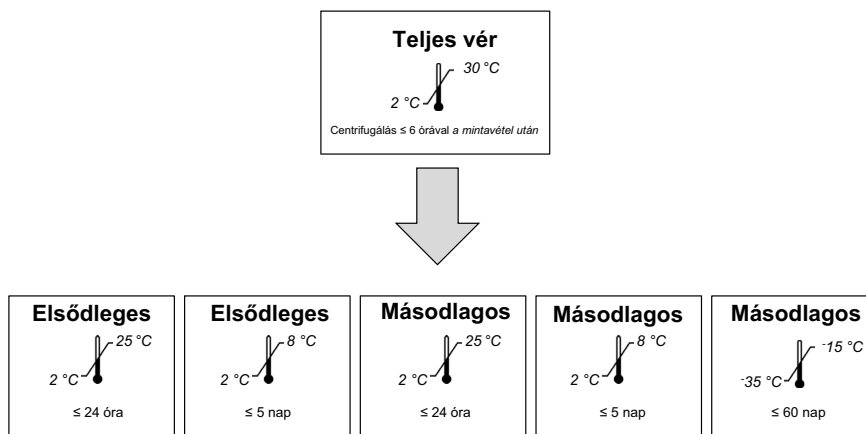
Ha nem tesztelik azonnal, a plazma és a szérum az alábbi előírásoknak megfelelően tárolható. Ha a plazma vagy a szérum másodlagos csőbe kerül, akkor -20 °C-on lefagyasztható. Ne lépje túl a 3 fagyasztási-felolvasztási ciklust. Ne fagyassza le a mintákat az EDTA, ACD vagy szérum elsődleges gyűjtőcsövekben.

B. A minta tárolási feltételei

1. EDTA és ACD plazmaminták

A teljes vér 2 °C és 30 °C között tárolható, és a mintavételt követő 6 órán belül centrifugálni kell. A plazma ezután a következő feltételek valamelyike mellett tárolható:

- Az elsődleges gyűjtőcsőben vagy másodlagos csőben 2 °C és 25 °C között legfeljebb 24 órán keresztül,
- Az elsődleges gyűjtőcsőben vagy másodlagos csőben 2 °C és 8 °C között legfeljebb 5 napig vagy
- A másodlagos csőben -20 °C-on legfeljebb 60 napig.

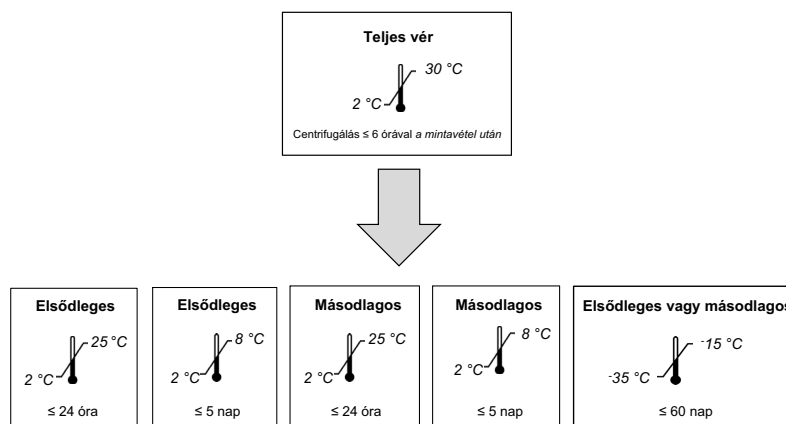


1. táblázat: Az EDTA/ACD csövek tárolási körülményei

2. PPT minták

A teljes vér 2 °C és 30 °C között tárolható, és a mintavételt követő 6 órán belül centrifugálni kell. A plazma ezután a következő feltételek valamelyike mellett tárolható:

- Az elsődleges gyűjtőcsőben vagy másodlagos csőben 2 °C és 25 °C között legfeljebb 24 órán keresztül,
- Az elsődleges gyűjtőcsőben vagy másodlagos csőben 2 °C és 8 °C között legfeljebb 5 napig vagy
- Az elsődleges gyűjtőcsőben vagy másodlagos csőben -20 °C-on legfeljebb 60 napig.

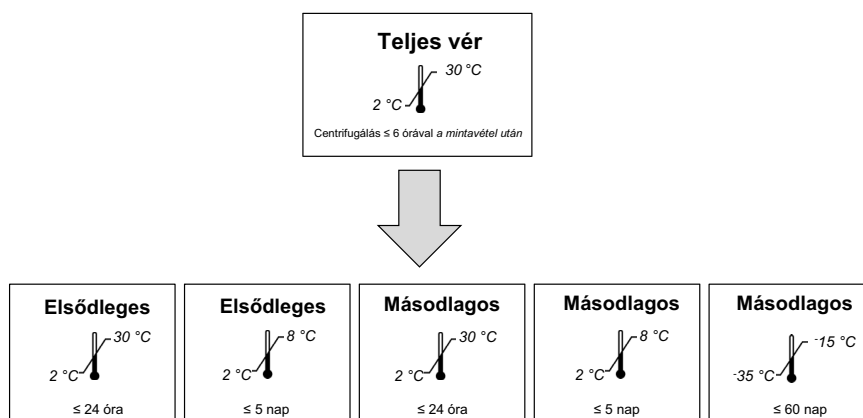


2. táblázat: A PPT-k tárolási körülményei

3. Szérumcső minták

A teljes vér 2 °C és 30 °C között tárolható, és a mintavételt követő 6 órán belül centrifugálni kell. A szérum ezután a következő feltételek valamelyike mellett tárolható:

- Az elsődleges gyűjtőcsőben vagy másodlagos csőben 2 °C és 30 °C között legfeljebb 24 órán keresztül,
- Az elsődleges gyűjtőcsőben vagy másodlagos csőben 2 °C és 8 °C között legfeljebb 5 napig vagy
- A másodlagos csőben -20 °C-on legfeljebb 60 napig.

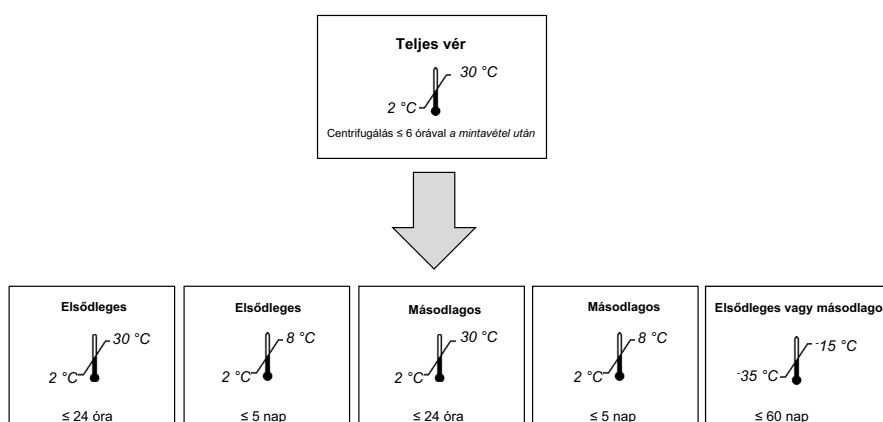


3. táblázat: A szérumcsövek tárolási körülményei

4. SST minták

A teljes vér 2 °C és 30 °C között tárolható, és a mintavételt követő 6 órán belül centrifugálni kell. A szérum ezután a következő feltételek valamelyike mellett tárolható:

- Az elsődleges gyűjtőcsőben vagy másodlagos csőben 2 °C és 30 °C között legfeljebb 24 órán keresztül,
- Az elsődleges gyűjtőcsőben vagy másodlagos csőben 2 °C és 8 °C között legfeljebb 5 napig vagy
- Az elsődleges gyűjtőcsőben vagy másodlagos csőben -20 °C-on legfeljebb 60 napig.



4. táblázat: SST-k tárolási körülményei

C. Hosszú távú fagyasztott tárolás

A plazma- vagy szérumminták -70 °C-on legfeljebb 60 napig tárolhatók SAT-ban.

D. Plazma- és szérumminták hígítása

A plazma- és szérummintákat fel lehet hígítani a SAT-ban vagy egy másodlagos csőben a Panther rendszerrel történő vizsgálathoz. További információkért lásd: *A Panther System teszteljárás*, E.6. lépés.

⚠ *A plazma- és szérumminták hígítása csak kvantitatív eredményekhez használható. Diagnosztikai eredményekhez ne hígítsa a plazma- vagy szérummintákat.*

Megjegyzés: *Ha a mintát hígítják, a hígítás után azonnal tesztelni kell. Ne fagyassza le a hígított mintát.*

Minták a Panther System fedélzetén

A mintákat a Panther rendszerben legfeljebb 8 órán keresztül lehet fedetlenül hagyni. A minták kivethetők a Panther rendszerből és tesztelhetők, amennyiben a fedélzetén töltött teljes idő nem haladja meg a 8 órát a minta Panther rendszer általi pipettázása előtt.

Vizsgálati minta szállítása

Tartsa fenn a minták tárolási körülményeit a *Mintavétel és -tárolás* című fejezetben leírtak szerint.

Megjegyzés: *A mintákat a vonatkozó nemzeti, nemzetközi és regionális szállítási előírásoknak megfelelően kell szállítani.*

Panther System

A Panther System készüléken végzett Aptima HCV Quant Dx vizsgálatához szükséges reagensek listáját lásd alább. A reagensek neve mellett a reagensazonosító szimbólumok is fel vannak tüntetve.

Mellékelt reagensek és anyagok

Megjegyzés: A reagensekkel kapcsolatos esetleges veszélyekre és óvintézkedésekre vonatkozó információkért tekintse meg a www.hologic.com/sds oldalon található biztonsági adatlap-könyvtárat (Safety Data Sheet Library).

Aptima HCV Quant Dx Assay Kit, 100 teszt, Kat. sz. PRD-03506

(1 vizsgálati doboz, 1 kalibrátorkészlet és 1 kontrollkészlet)

További kalibrátorok és vezérlők külön rendelhetők. A megfelelő katalógusszámokat lásd alább.

Aptima HCV Quant Dx Assay Box

(kézhezvétel után 2 °C és 8 °C között kell tárolni)

Szimbólum	Összetevő	Mennyiség
A	qHCV Amplification Reagent <i>Pufferoldatban szárított, nem fertőző nukleinsavak.</i>	1 üveg
E	qHCV Enzyme Reagent <i>Reverz transzkriptáz és RNS-polimeráz HEPES pufferoldatban szárítva.</i>	1 üveg
PRO	qHCV Promoter Reagent <i>Pufferoldatban szárított, nem fertőző nukleinsavak.</i>	1 üveg
AR	qHCV Amplification Reconstitution Solution <i>Glicerint és tartósítószereket tartalmazó vizes oldat.</i>	1 x 7,2 mL
ER	qHCV Enzyme Reconstitution Solution <i>Felületaktív anyagot és glicerint tartalmazó, HEPES-sel pufferelt oldat.</i>	1 x 5,8 mL
PROR	qHCV Promoter Reconstitution Solution <i>Glicerint és tartósítószereket tartalmazó vizes oldat.</i>	1 x 4,5 mL
TCR	qHCV Target Capture Reagent <i>Nukleinsavak szilárd fázist, nem fertőző nukleinsavakat és belső kalibrátort tartalmazó pufferelt sóoldatban.</i>	1 x 72,0 mL
	Rekonstitúciós feltétek	3
	Törzstétel vonalkódos lapja	1 lap

Aptima HCV Quant Dx Calibrator Kit (Kat. sz. PRD-03507)

(kézhezvétel után -15 °C és -35 °C között kell tárolni)

Szimbólum	Összetevő	Mennyiség
PCAL	qHCV Positive Calibrator <i>Transzkriptum pufferelt oldatban.</i>	5 x 2,5 mL
	Kalibrátor vonalkódcímke	—

Aptima HCV Quant Dx Controls Kit (Kat. sz. PRD-03508)
(kézhezvétel után -15 °C és -35 °C között kell tárolni)

Szimbólum	Összetevő	Mennyiség
NC	qHCV Negative Control <i>HCV negatív defibrinált humán plazma, amely gentamicint és 0,2% nátrium-azidot tartalmaz tartósítószerként.</i>	5 x 0,8 mL
LPC	qHCV Low Positive Control <i>Nem fertőző HCV Armored RNS defibrinált emberi plazmában, amely gentamicint és 0,2% nátrium-azidot tartalmaz tartósítószerként.</i>	5 x 0,8 mL
HPC	qHCV High Positive Control <i>Nem fertőző HCV Armored RNS defibrinált emberi plazmában, amely gentamicint és 0,2% nátrium-azidot tartalmaz tartósítószerként.</i>	5 x 0,8 mL
	Kontroll vonalkódcímke	—

Szükséges, de külön beszerezhető anyagok

Megjegyzés: Ellenkező megjegyzés hiányában a Hologic által értékesített anyagok mellett fel van tüntetve a katalógusszám.

Anyag	Kat. sz.
Panther System	303095
Panther Run Kit for Real Time Assays (csak valós idejű vizsgálatokhoz)	PRD-03455 (5000 teszt)
<i>Aptima Assay Fluids Kit (más néven univerzális folyadékkészlet)</i> <i>tartalma: Aptima Wash Solution, Aptima Buffer for Deactivation Fluid és Aptima Oil Reagent</i>	303014 (1000 teszt)
<i>Multi-tube units (MTUs)</i>	104772-02
<i>Panther Waste Bag Kit</i>	902731
<i>Panther Waste Bin Cover</i>	504405
vagy Panther System Run Kit <i>(ha a nem valós idejű TMA vizsgálatokat valós idejű TMA vizsgálatokkal párhuzamosan végzik) MTU-kat, hulladékgyűjtő zsákokat, hulladékgyűjtő fedeleket, automatikus érzékelőt és vizsgálati folyadékokat tartalmaz.</i>	303096 (5000 teszt)
Hegyek, 1000 µL, filteres, folyadékérzékelős, vezetőképes és eldobható	901121 (10612513 Tecan)
Nem minden termék érhető el minden régióban. A régióra vonatkozó információkért forduljon a helyi képviselőhöz.	903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Fehérítőszer, 5%–8,25%-os (0,7M–1,16M) nátrium-hipoklorit-oldat	—
Eldobható, púdermentes kesztyű	—
Nem átszűrhető cserekupakok	103036A

Anyag	Kat. sz.
Reagens cserekupakok	
Amplifikációs, enzim-, és promotor reagens rekonstitúciós palackok	CL0041 (100 kupak)
TCR palack	CL0040 (100 kupak)
Műanyag hátlappal borított laboratóriumi terítő	—
Szöszmentes törölkendők	—
Pipettor	—
Hegyek	—
Elsődleges gyűjtőcső opciók:	
13 mm x 100 mm	—
13 mm x 75 mm	—
16 mm x 100 mm	—
Centrifuga	—
Vortex keverő	—

Opcionális anyagok

Anyag	Kat. sz.
Másodlagos cső opciók:	
12 mm x 75 mm	—
13 mm x 100 mm	—
16 mm x 100 mm	—
Aptima Specimen Aliquot Tubes (SAT) (100-as csomag)	FAB-18184
Szállítócső-kupak (100-as csomag)	504415
kupak a SAT-hoz	
Aptima Specimen Diluent	PRD-03003
Aptima Specimen Diluent Kit	PRD-03478
mintahígítót, 100 SAT-ot és 100 kupakot tartalmaz	
Transzferpipetták	—
A kereskedelemben kapható panelek például:	—
HCV a Quality Control for Molecular Diagnostics-tól (QCMD, molekuláris diagnosztikai minőségellenőrzés) vagy SeraCare ACCURUN HCV panelek	
Vattapálcák	—
Csőbillegtető	—

A Panther System teszteljárás

Megjegyzés: A további eljárásleírásokat lásd a Panther System kezelői kézikönyvében.

A. A munkaterület előkészítése

1. Tisztítsa meg a reagensek készítéséhez használt munkafelületeket. Törölje le a munkafelületeket 2,5–3,5%-os (0,35–0,5 M) nátrium-hipoklorit oldattal. Hagyja, hogy a nátrium-hipoklorit oldat legalább 1 percig érintkezzen a felületekkel, majd öblítse le deionizált (DI) vízzel. Ne hagyja megszáradni a nátrium-hipoklorit oldatot. Fedje le a munkaasztal felületét tiszta, műanyag hátlappal borított, nedvszívó laboratóriumi terítővel.

2. Tisztítsa meg egy külön munkafelületet, ahol a minták előkészítése történik. A fent leírt eljárást alkalmazza (A.1. lépés).
3. Tisztítsa meg minden pipettort. A fent leírt tisztítási eljárást alkalmazza (A.1 lépés).

B. Kalibrátor és kontrollok előkészítése

Hagyja, hogy a kalibrátor és a kontrollok elérjék a 15 °C és 30 °C közötti hőmérsékletet a feldolgozás előtt az alábbiak szerint:

1. Vegye ki a kalibrátort és a vezérlőket a tárolóból (-15 °C és -35 °C között), és helyezze 15 °C és 30 °C közötti hőmérsékletű helyre. A felolvasztás során óvatosan fordítsa meg az egyes kémcsöveket, hogy alaposan összekeveredjenek. Használat előtt győződjön meg arról, hogy a kémcső tartalma teljesen felolvadt.

Választási lehetőség. A kalibrátort és a kontrollt tartalmazó csöveket egy csőbillegetetőre lehet helyezni, hogy alaposan összekeveredjenek. Használat előtt győződjön meg arról, hogy a kémcső tartalma teljesen felolvadt.

Megjegyzés: Kerülje a túlzott habképződést a kalibrátor és a kontrollok megfordításakor. A hab zavarja a Panther rendszer szintérzékelő funkcióját.

2. Amikor a kémcső tartalma felolvadt, törölje szárazra a kémcső külsejét egy tiszta, száraz, eldobható törlőkendővel.
3. A szennyeződés elkerülése érdekében ne nyissa ki a csöveket ekkor.

C. Reagens feloldása/új készlet előkészítése

Megjegyzés: A reagensok feloldását a Panther rendszeren végzett bármilyen munka megkezdése előtt el kell végezni.

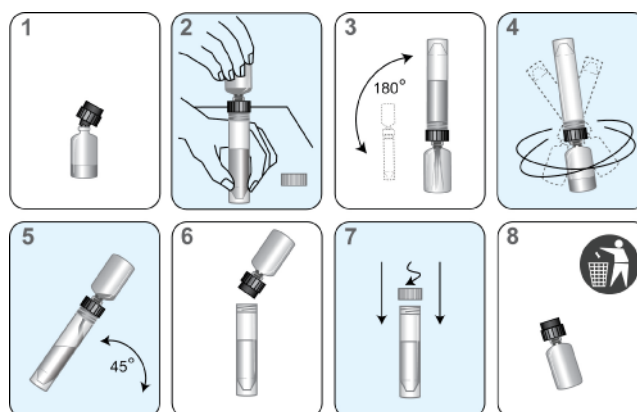
1. A célmolekula-megkötő reagens (TCR) elkészítéséhez hajtsa végre a következőket:
 - a. Vegye ki a TCR-t a tárolóhelyről (2 °C és 8 °C között). Ellenőrizze a TCR palackon lévő tételszámot, hogy az megegyezik-e a törzstétel vonalkód-lapján szereplő tételszámmal.
 - b. Azonnal rázza fel 10-szer erőteljesen a TCR palackot. Hagyja a TCR palackot legalább 45 percig 15 °C és 30 °C közötti hőmérsékleten melegedni. Ez idő alatt legalább 10 percenként meg kell forgatni és fel kell fordítani a TCR palackot.

Választási lehetőség. A TCR palack az alábbi utasításokat követve készíthető el csőbillegetetővel: Vegye ki a TCR-t a tárolóhelyről (2 °C és 8 °C között), és azonnal rázza fel erőteljesen 10-szer. Helyezze a TCR-palackot egy csőbillegetetőre, és hagyja a TCR-t legalább 45 percig 15 °C és 30 °C közötti hőmérsékleten melegedni.

- c. Használat előtt győződjön meg arról, hogy az összes csapadék oldatban van, és a mágneses részecskék szuszpendálva vannak.
2. Az amplifikációs, enzim- és promoter reagensok feloldásához végezze el a következőket:
 - a. Vegye ki a liofilizált reagenseket és a megfelelő rekonstitúciós oldatokat a tárolóból (2 °C és 8 °C között). Párosítsa össze az egyes rekonstitúciós oldatokat a megfelelő liofilizált reagenssel.
 - b. Győződjön meg arról, hogy a rekonstitúciós oldat és a liofilizált reagens címkéje azonos színű. A törzstétel vonalkódos lapja segítségével ellenőrizze, hogy megfelelő reagenset párosított-e össze.
 - i. Nyissa ki a liofilizált reagenst tartalmazó üveget a fémtömítés és a gumidugó eltávolításával.
 - ii. Határozott mozdulattal illessze a rekonstitúciós feltét bevágott végét (fekete) az üvegre (5.ábra, 1. lépés).

- iii. Nyissa fel a megfelelő rekonstitúciós oldatos palackot, és helyezze a kupakját tiszta, lefedett munkafelületre.
- iv. Helyezze a rekonstitúciós oldatos palackot stabil felületre (pl. munkaasztalra). Ezután fordítsa meg a liofilizált reagenspalackot a rekonstitúciós oldatos üveg fölé, és erősítse a feloldó gallért a rekonstitúciós oldatos palackhoz (5. ábra, 2. lépés).
- v. Lassan fordítsa meg az összeszerelt palackokat (az oldatos palackhoz csatlakoztatott üveg), hogy az oldat lefolyjon az üvegbe (5. ábra, 3. lépés).
- vi. Vegye fel az összeszerelt palackokat, és legalább 10 másodpercig forgassa őket (5. ábra, 4. lépés).
- vii. Várjon legalább 30 percet, amíg a liofilizált reagens oldatba kerül.
- viii. Miután a liofilizált reagens oldatba került, legalább 10 másodpercig forgassa az összeállított palackokat, majd az üvegben lévő oldatot az alapos keverés érdekében enyhén hintáztassa előre-hátra.
- c. Lassan döntse meg újra az összeszerelt palackokat, hogy az összes oldat vissza tudjon folyni a rekonstitúciós oldatos palackba (5. ábra, 5. lépés).
- d. Óvatosan vegye le a rekonstitúciós feltétet és a porüveget (5. ábra, 6. lépés).
- e. Helyezze vissza a palack kupakját. Írja fel a kezelő monogramját és a rekonstitúciós dátumot a címkére (5. ábra, 7. lépés).
- f. Dobja ki a használt rekonstitúciós feltétet és porüveget (5. ábra, 8. lépés).

Figyelmeztetés: Reagensek feloldása során kerülje a túlzott habképződést. A hab zavarja a Panther rendszer szintérzékelő funkcióját.



5. táblázat: Reagens rekonstitúciós eljárás

D. Reagensek elkészítése korábban elkészített reagensekhez

1. Vegye ki a korábban elkészített reagenst a tárolóhelyről (2 °C és 8 °C között).
2. Az előzőleg elkészített amplifikációs, enzim-, promoter reagenseknek és TCR reagenseknek a vizsgálat megkezdése előtt el kell érniük a 15 °C és 30 °C közötti hőmérsékletet.
3. Korábban elkészített TCR esetében a fenti C.1 lépést a rendszerbe töltés előtt hajtsa végre.
4. Az amplifikációs, enzim- és promoter reagenseket a rendszerbe töltés előtt alaposan keverje össze és fordítsa meg. A reagensek megfordításakor kerülje a túlzott habképződést.

5. A reagenspalackokat nem szabad utántölteni. A Panther rendszer felismeri és elutasítja az utántöltött palackokat.

E. Minta kezelése

1. Győződjön meg arról, hogy az elsődleges csövekben lévő feldolgozott mintákat vagy a másodlagos csövekben lévő hígítatlan mintákat megfelelően tárolták a következő rész szerint: „Mintavétel és -tárolás”, 8 oldal.
2. Biztosítsa, hogy a fagyasztott minták alaposan felolvadjanak. A felolvasztott mintákat 3-5 másodpercig vortexelje, hogy alaposan összekeveredjenek.
3. Hagyja, hogy a minták a feldolgozás előtt elérjék a 15 °C és 30 °C közötti hőmérsékletet. További fedélzeti információkért lásd: *Minták a Panther System fedélzetén*.
4. Biztosítsa, hogy minden egyes elsődleges gyűjtőcső legfeljebb 1200 µL mintát, vagy minden egyes SAT legalább 700 µL mintát tartalmazzon. Az egyes elsődleges és másodlagos csőtípusokhoz szükséges holt térfogati követelmények meghatározásához tekintse meg a következő fejezetben található táblázatot: *Mintavétel* 8. oldal. Ha a minta hígítása szükséges, további információkért lásd az alábbi E.6 lépést.
5. Közvetlenül a mintának a mintatartó állványba történő betöltése előtt centrifugálja az egyes mintákat 1000-3000 g-nél 10 percig. Ne távolítsa el a kupakokat. A csőben lévő buborékok megzavarhatják a Panther rendszer szintérzékelését.

Az állvány betöltésével és a kupakok eltávolításával kapcsolatos információkért lásd: *A rendszer előkészítése*, F.2 lépés.

6. Hígítsa a plazma- vagy szérummintát 1:3 arányban egy SAT-ban vagy 1:100 arányban egy másodlagos csőben.

A mintát fel lehet hígítani egy másodlagos csőben a Panther rendszerrel történő vizsgálathoz.

- ⚠ A minták hígítása csak kvantitatív eredményekhez használható. Diagnosztikai eredményekhez ne hígítsa a mintákat.

Megjegyzés: Ha a mintát hígítják, a hígítás után azonnal tesztelni kell.

a. Kis térfogatú minták hígítása

A minták térfogata az Aptima Specimen Diluent segítségével növelhető a minimálisan szükséges térfogatra (700 µL). A legalább 240 µL térfogatú mintákat két rész mintahígítóval (1:3) lehet hígítani az alábbiak szerint:

- i. Helyezzen 240 µL mintát a SAT-ba.
- ii. Adjon hozzá 480 µL Aptima Specimen Diluent mintahígítót.
- iii. Zárja le a csövet.
- iv. Óvatosan fordítsa meg 5-ször, hogy összekeverje.

Az 1:3 arányban hígított minták a Panther rendszer 1:3 opciójával vizsgálhatók (további információkért lásd a Panther System kezelői kézikönyvét. A szoftver a hígítási tényező alkalmazásával automatikusan megadja a tiszta eredményt. Ezek a minták hígított mintaként lesznek megjelölve.

b. Magas titerű minták hígítása

Ha egy minta eredménye a kvantitatív felső határérték felett van, a minta 99 rész Aptima Specimen Diluent mintahígítóval (1:100) hígítható az alábbiak szerint:

- i. Helyezzen 30 µL mintát a SAT-ba vagy egy másodlagos csőbe.
- ii. Adjon hozzá 2970 µL Aptima Specimen Diluent mintahígítót.

- iii. Zárja le a csövet.
- iv. Óvatosan fordítsa meg 5-ször, hogy összekeverje.

Az 1:100 arányban hígított minták a Panther rendszer 1:100 opciójával vizsgálhatók (további információkért lásd a Panther System kezelői kézikönyvét. A szoftver a hígítási tényező alkalmazásával automatikusan megadja a tiszta eredményt. Ezek a minták hígított mintaként lesznek megjelölve.

Megjegyzés: Az ULoQ-nál nagyobb tiszta koncentrációjú hígított minták esetében az eredményeket tudományos jelöléssel kell közölni.

F. A rendszer előkészítése

1. Állítsa be a rendszert a *Panther System kezelői kézikönyv* és a *Megjegyzések az eljáráshoz* utasításai szerint. Ügyeljen arra, hogy megfelelő méretű reagensállványokat és TCR adaptereket használjanak.
2. Töltse be a mintákat a mintatartó állványba. Végezze el a következő lépéseket minden egyes mintacsövön (minta, és ha szükséges, kalibrátor és kontrollok):
 - a. Lazítsa meg az egyik mintacső kupakját, de még ne vegye le.

Megjegyzés: Különösen ügyeljen arra, hogy elkerülje az aeroszolok terjedése miatti szennyeződést. Óvatosan lazítsa meg a minták kupakját.

- b. Töltse be a mintatartó csövet a mintatartó állványba.
- c. Ismételje meg a 2.a és 2.b lépést minden egyes fennmaradó minta esetében.
- d. Miután a mintákat betöltötte a mintatartó állványba, vegye le és dobja ki az egyes mintatartó állványokban lévő mintatartó csövek kupakjait. A szennyeződés elkerülése érdekében ne helyezzen kupakot más mintatartó állványokra vagy mintacsövekre.
- e. Ha szükséges, használjon új, eldobható transzferpipettát az esetleges buborékok vagy hab eltávolításához.
- f. Amikor az utolsó kupakot is eltávolította, töltse be a mintatartó állványt a mintabeviteli sorba.

Megjegyzés: Ha egyidejűleg más vizsgálatokat és mintatípusokat is futtat, rögzítse a mintarögzítőt, mielőtt a mintatartó állványt betöltené a mintabeviteli sorba.

- g. Ismételje meg a 2.a–2.f lépéseket a következő mintatartó állványhoz.

Megjegyzések az eljáráshoz

A. Kalibrátor és kontrollok

1. A qHCV pozitív kalibrátor, a qHCV alacsony pozitív kontroll, a qHCV magas pozitív kontroll és a qHCV negatív kontroll csövek a Panther rendszerben a mintatartó állvány bármelyik pozíciójába és bármelyik mintabeviteli sorba betölthetők. A minták pipettázása akkor indul el, ha az alábbi feltételek egyike teljesül:
 - a. A kalibrátort és a kontrollokat jelenleg feldolgozza a rendszer.
 - b. A kalibrátorra és a kontrollokra vonatkozó érvényes eredményeket a rendszer regisztrálja.
2. Miután a kalibrátor- és kontrollcsöveket pipettázták és az Aptima HCV Quant Dx vizsgálat reagenskészlethez feldolgozták, a mintákat a kapcsolódó, feloldott készlettel legfeljebb 24 órán keresztül lehet vizsgálni, **kivéve, ha:**
 - a. A kalibrátor eredmény vagy a kontroll eredmények érvénytelenek.

- b. A kapcsolódó vizsgálati reagenskészletet eltávolítják a rendszerből.
 - c. A kapcsolódó vizsgálati reagenskészlet meghaladta a stabilitási határértékeket.
3. A kalibrátor és minden egyes kontrollcső egyszer használható. A cső többszöri használatára tett kísérletek feldolgozási hibákhoz vezethetnek.

B. Púderes kesztyűk

Mint más reagensrendszerek esetében, az egyes típusú kesztyűkön található túlzott mennyiségű púder a felnyitott csövek kontaminációjához vezethet. Púdermentes kesztyűk használata javasolt.

Minőségellenőrzés

A futtatást vagy a minta eredményét a kezelő érvénytelenítheti, ha a vizsgálat elvégzése során technikai, kezelői vagy műszeres nehézségeket észlelnek, és ezeket dokumentálják. Ebben az esetben a mintákat újra kell tesztelni.

A vizsgálat kalibrálása

Az érvényes eredmények előállításához el kell végezni a vizsgálat kalibrálását. Minden alkalommal, amikor egy reagenskészletet betöltenek a Panther rendszerbe, egyetlen pozitív kalibrátort futtatnak le háromszorosan. Ha a kalibrálás megtörtént, az legfeljebb 24 óráig érvényes. A Panther rendszer szoftvere figyelmezteti a kezelőt, ha kalibrációra van szükség. A kezelő beolvassa a kalibrációs együttthatót, amely a reagenskészletekhez mellékelt törzstétel vonalkódos lapján található.

A feldolgozás során a kalibrátor elfogadásának kritériumait a Panther rendszer szoftvere automatikusan ellenőrzi. Ha a kalibrátori ismétlések közül kettőnél kevesebb érvényes, a szoftver automatikusan érvényteleníti a futtatást. Az érvénytelenített futtatásban lévő mintákat frissen készített kalibrátor és frissen készített kontrollok felhasználásával újra kell tesztelni.

Negatív és pozitív kontrollok

Érvényes eredmények előállításához egy sor vizsgálati kontrollt kell tesztelni. A negatív kontroll, az alacsony pozitív kontroll és a magas pozitív kontroll egy-egy példányát kell tesztelni minden alkalommal, amikor egy reagenskészletet betöltenek a Panther rendszerbe. Miután ez megtörtént, a kontrollok legfeljebb 24 óráig érvényesek. A Panther rendszer szoftvere figyelmezteti a kezelőt, ha kontrollokra van szükség.

A feldolgozás során a kontrollok elfogadásának kritériumait a Panther rendszer szoftvere automatikusan ellenőrzi. Az érvényes eredmények előállításához a negatív kontrollnak „Nem észlelt” eredményt, a pozitív kontrolloknak pedig az előre meghatározott paramétereken belüli eredményeket kell adniuk. Ha a kontrollok bármelyike érvénytelen eredményt ad, a szoftver automatikusan érvényteleníti a futtatást. Az érvénytelenített futtatásban lévő mintákat frissen készített kalibrátor és frissen készített kontrollok felhasználásával újra kell tesztelni.

Belső kalibrátor/belső kontroll

Minden minta tartalmaz egy belső kalibrátort/belső kontrollt (IC). A feldolgozás során az IC elfogadási kritériumokat a Panther rendszer szoftver automatikusan ellenőrzi. Ha egy IC-eredmény érvénytelen, a mintaeredmény érvénytelenné válik. Minden érvénytelen IC-eredménnyel járó mintát újra kell vizsgálni, hogy érvényes eredmény szülessen.

A Panther rendszer szoftverét úgy tervezték, hogy pontosan ellenőrizze a folyamatokat, ha az eljárásokat az ebben a használati utasításban és a *Panther System kezelői kézikönyvében* megadott utasítások szerint végzik.

Az eredmények értelmezése

A Panther rendszer automatikusan meghatározza a minták és a kontrollok HCV RNS-koncentrációját az eredmények kalibrációs görbével való összehasonlításával. A HCV RNS-koncentrációk NE/mL-ben és $\log_{10}$ NE/mL-ben vannak megadva. Az eredmények értelmezését az 1. táblázat tartalmazza. Ha a hígított minták esetében az 1:3 vagy 1:100 hígítást használják, a Panther rendszer automatikusan kiszámítja a tiszta minta HCV koncentrációját a hígított koncentráció és a hígítási tényező szorzatával, és a hígított mintákat hígítottként jelöli meg.

Megjegyzés: Hígított minták esetében a „Nem érzékelt” vagy „<10 érzékelt” eredmények a LoD vagy LLoQ (kimutatási határ vagy mennyiségi meghatározás alsó határa) feletti, de ahhoz közeli koncentrációjú minta hígításával keletkezhetnek. Ha nem születik mennyiségi eredmény, ajánlott egy másik tiszta mintát levenni és megvizsgálni.

A Panther rendszer nem ad minőségi eredményt (azaz „reaktív” vagy „nem reaktív”) diagnosztikai célokra. A kezelőnek a bejelentett HCV RNS-koncentrációt kvalitatív eredményként kell értelmeznie (1. táblázat). A „Nem érzékelt” eredményt mutató minták nem reagálnak a HCV RNS-re. A „<10 érzékelt” eredményekkel, a lineáris tartományon belüli eredményekkel és a >100 000 000 (a kvantitatív meghatározás felső határa) értékkel felsorolt minták azt jelzik, hogy HCV RNS-t mutattak ki, és ezek a minták reaktívak a HCV RNS-re.

1: táblázat: Eredmény értelmezése

Az Aptima HCV Quant Dx Assay jelentett eredménye		HCV RNS koncentráció értelmezése	Felhasználói diagnosztikai minőségi értelmezés ^a
IU/mL	Log ₁₀ érték ^b		
Nem érzékelt	Nem érzékelt	HCV-RNS nem érzékelt.	Nem reagál a HCV RNS-re
< 10 érzékelt	< 1,00	A HCV-RNS érzékelhető, de a LLoQ alatti szinten	Reagál a HCV RNS-re
10 és 100 000 000 között	1,00 és 8,00 között	A HCV RNS-koncentráció a 10 és 100 000 000 NE/mL közötti lineáris tartományban van.	Reagál a HCV RNS-re
>100 000 000	>8,00	A HCV RNS-koncentráció az ULoQ felett van	Reagál a HCV RNS-re
Érvénytelen ^c	Érvénytelen ^c	Az eredmény generálásában hiba történt. A mintát újra kell tesztelni.	Érvénytelen

^a A diagnosztikus értelmezés nem hígított szérumból vagy plazmamintákból végezhető el.

^b Az érték két tizedesjegyre van kerekítve.

^c Az érvénytelen eredmények kék színű betűtípussal jelennek meg.

Az Aptima HCV Quant vizsgálat egyes kontrolljaira vonatkozó elfogadási kritériumokat a 2. táblázatban ismertetjük.

Megjegyzés: Az alábbiakban felsorolt visszanyerési tartomány az egyes tételek hozzárendelt értéke alapján változik. Lásd az egyes kontroll dobozokhoz mellékelt Control Barcode Sheet betétlapon felsorolt hozzárendelt koncentrációt.

2: táblázat: Az Aptima HCV Quant Dx Assay kontrollok visszanyerési tartományának elfogadási kritériumai

Összetevő	Visszanyerési tartomány az érvényes futtatásokhoz
Negatív kontroll	N.a.
Alacsony pozitív kontroll	+/- 0,5 $\log_{10}$ NE/mL
Magas pozitív kontroll	+/- 0,5 $\log_{10}$ NE/mL

Korlátozások

- A. Ezt a vizsgálatot csak az eljárásra kiképzett személyzet használhatja. A használati utasításban szereplő utasítások be nem tartása hibás eredményeket eredményezhet.
- B. A megbízható eredmények a megfelelő mintavétel, szállítás, tárolás és feldolgozás függvényei.

Teljesítőképesség

Kimutatási határ (LoD) a WHO 2. nemzetközi szabványának alkalmazásával

A vizsgálat kimutatási határa (LoD) a CLSI EP17-A2.¹⁹ szerint a HCV-RNS azon koncentrációja, amely 95%-os vagy nagyobb valószínűséggel kimutatható.

A LoD meghatározására a WHO 2. nemzetközi hepatitis C-vírus RNS-szabványának (WHO 2nd International Standard for Hepatitis C Virus RNA, NIBSC 96/798 1. genotípus) HCV-negatív humán plazmában és szérumban hígított paneljeinek tesztelésével került sor. Minden hígításból legalább 36 ismétlés került tesztelésre három reagens tétel mindegyikével, így hígításonként legalább 108 ismétlés készült. Probit-analízisre került sor az előre jelzett kimutatási határértékek létrehozásához. A 3. táblázat által feltüntetett LoD-értékek a legmagasabb előre jelzett érzékelési határral rendelkező reagens-tétel eredményei. A 2. WHO nemzetközi szabványt használó Aptima HCV Quant Dx vizsgálat LoD értéke 4,3 NE/mL plazma és 3,9 NE/mL szérumban.

3: táblázat: Kimutatási határ a WHO 2. nemzetközi HCV-szabványának alkalmazásával

Előre jelzett kimutatási határ	Koncentráció (NE/mL)	
	Plazma	Szérumban
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

A kimutatási határ a HCV genotípusok között

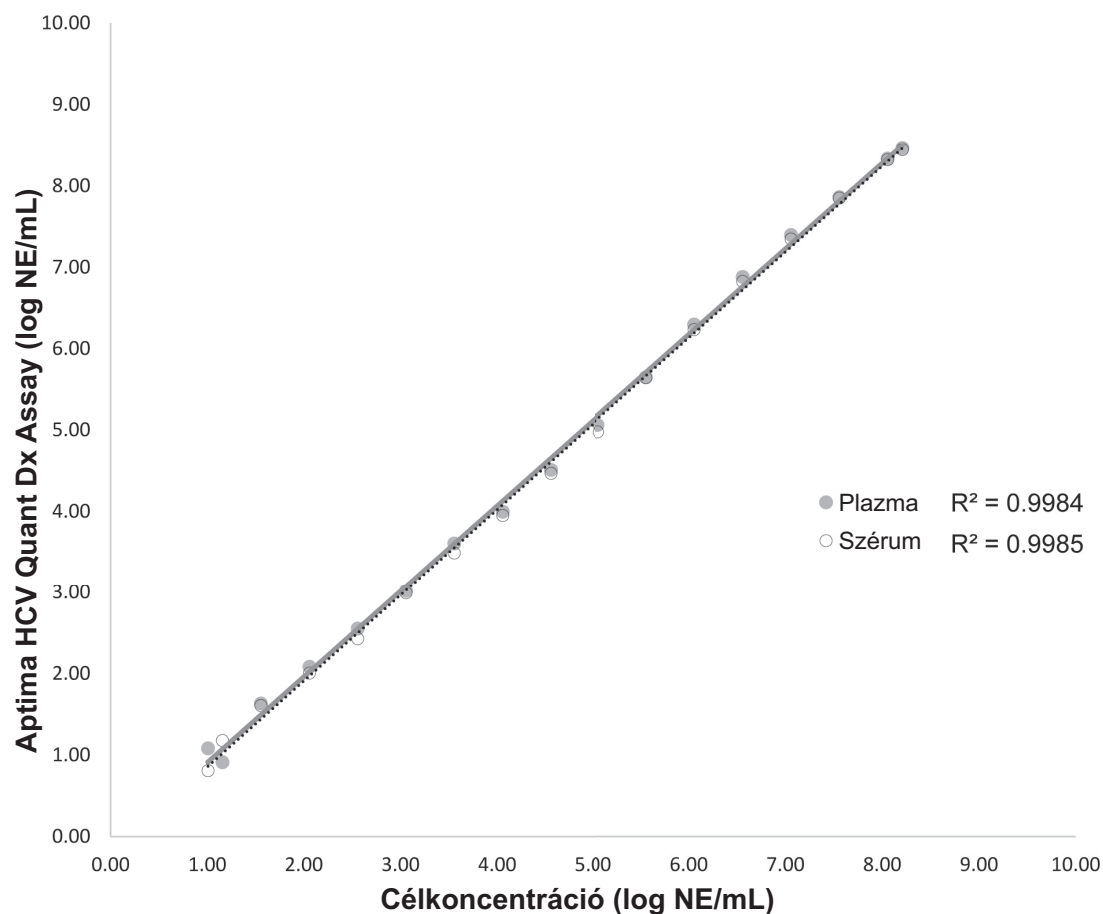
A LoD meghatározása HCV-pozitív klinikai minták 1-es, 2-es, 3-as, 4-es, 5-ös és 6-os genotípusú hígításainak HCV-negatív humán plazmában és szérumban történő tesztelésével történt. A koncentrációk meghatározása CE-jelzéssel ellátott összehasonlító vizsgálat segítségével történt. Minden paneltagból legalább 20 ismétlés került tesztelésre három reagens tétel mindegyikével, így paneltagonként legalább 60 ismétléssel. Probit-analízisre került sor az 50%-os és 95%-os előre jelzett kimutatási határértékek létrehozásához. A 4. táblázat által feltüntetett LoD-értékek a legmagasabb előre jelzett érzékelési határral rendelkező reagens-tétel eredményei.

4: táblázat: A kimutatási határ a HCV genotípusok között klinikai minták felhasználásával

Genotípus	Előre jelzett kimutatási határ	Koncentráció (NE/mL)	
		Plazma	Szérum
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

Lineáris tartomány

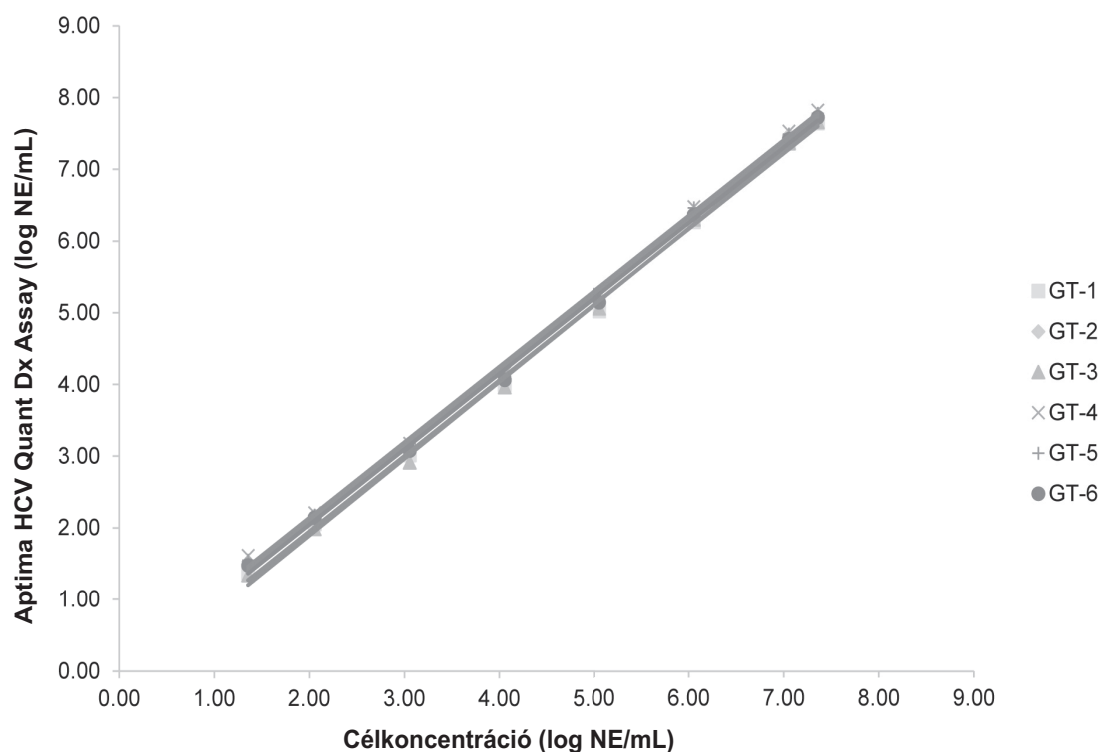
A lineáris tartomány a HCV negatív humán plazmában és szérumban hígított HCV Armored RNS panelek vizsgálatával került meghatározásra a CLSI EP06-A szabvány szerint.²⁰ A panelek koncentrációja 1,0 log NE/mL és 8,2 log NE/mL között változott. Az Aptima HCV Quant Dx vizsgálat linearitást mutatott a tesztelt tartományban, a kvantitatív meghatározás felső határa (ULoQ) 8,0 log IU/mL volt, amint azt a 6. ábra mutatja.



6. táblázat: Linearitás plazmában és szérumban

Linearitás a HCV genotípusok között

Az 1-es, 2-es, 3-as, 4-es, 5-ös és 6-os genotípusra vonatkozó lineáris válasz a pufferben hígított HCV-transzkript panel vizsgálatával igazolódott 1,36 log NE/mL és 7,36 log NE/mL közötti koncentrációban. A tesztelés három Panther rendszeren történt három reagenstétel felhasználásával. A linearitás a vizsgált tartományban minden vizsgált genotípus esetében kimutatható volt, amint azt a 7. ábra mutatja.



7. táblázat: Linearitása HCV 1-6 genotípusok között

A mennyiségi meghatározás alsó határa a 2. WHO nemzetközi szabvány felhasználásával

A mennyiségi meghatározás alsó határa (LLOQ) a CLSI EP17-A2 szerint az a legalacsonyabb koncentráció, amelynél a HCV-RNS megbízhatóan, teljes hibán belül határozható meg.¹⁹ A teljes hiba becslése két módszerrel történt: Teljes analitikai hiba (TAE) = |eltérés| + 2SD és Teljes hiba (TE) = $\sqrt{2}$ x 2SD. A mérések pontosságának és precizitásának biztosítása érdekében az Aptima HCV Quant Dx vizsgálat teljes hibája 1 log NE/mL-ben lett meghatározva (azaz a LLOQ-nál két mérés közötti 1 log NE/mL-nél nagyobb különbség statisztikailag szignifikáns).

A LLoQ meghatározására a WHO 2. nemzetközi hepatitis C-vírus RNS-szabványának (WHO 2nd International Standard for Hepatitis C Virus RNA, NIBSC 96/798 1. genotípus) HCV-negatív humán plazmában és szérumban hígított paneljeinek tesztelésével került sor. Minden hígításból legalább 36 ismétlés került tesztelésre három reagens tétel mindegyikével, így hígításonként legalább 108 ismétlés készült. A TE- és TAE-követelményeknek megfelelő, a LoD értékkel egyenlő vagy annál nagyobb koncentrációjú reagens-tétel eredményeit a 5. táblázat mutatja a plazma és az 6. táblázat a szérum esetében. A WHO 2. nemzetközi szabvány LLoQ értéke 7 NE/mL (0,82 log NE/mL) a plazma és 9 NE/mL (0,93 log NE/mL) a szérum esetében, amint azt a 7. táblázat összefoglalja. A LLoQ meghatározása genotípusonként történt (lásd a következő, „A kvantitatív meghatározás alsó határértékének (LLoQ) megállapítása HCV-genotípusonként” című szakaszt). Ezek a genotípusadatok a vizsgálat általános LLoQ értékét 10 NE/mL-ben határozzák meg.

5: táblázat: LLoQ a WHO 2. nemzetközi HCV-standardjának felhasználásával a plazmában hígított HCV-re vonatkozóan

Reagenstétel	Célkoncentráció (NE/mL)	Célkoncentráció (log NE/mL)	Aptima HCV Quant Dx (log NE/mL)	SD (log NE/mL)	Eltérés (log NE/mL)	Számított TE (log NE/mL)	Számított TAE (log NE/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=standard deviáció

6: táblázat: LLoQ a WHO 2. nemzetközi HCV-szabványának felhasználásával a szérumban hígított HCV-re vonatkozóan

Reagenstétel	Célkoncentráció (NE/mL)	Célkoncentráció (log NE/mL)	Aptima HCV Quant Dx (log NE/mL)	SD (log NE/mL)	Eltérés (log NE/mL)	Számított TE (log NE/mL)	Számított TAE (log NE/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=standard deviáció

7: táblázat: Az LLoQ összegzése a WHO 2. nemzetközi HCV-szabványának alkalmazásával

Reagenstétel	Plazma LLoQ		Szérum LLoQ	
	(log NE/mL)	(NE/mL)	(log NE/mL)	(NE/mL)
1	0,73	5	0,93	9
2	0,82	7	0,89	8
3	0,76	6	0,71	5

A kvantitatív alsó határérték (LLoQ) meghatározása a HCV genotípusok között

A LLoQ meghatározása HCV-pozitív klinikai minták 1-es, 2-es, 3-as, 4-es, 5-ös és 6-os genotípusú hígításainak HCV-negatív humán plazmában és szérumban történő tesztelésével történt. A klinikai minták koncentrációjának hozzárendelése CE-jelzéssel ellátott összehasonlító vizsgálat segítségével történt. Minden paneltagból legalább 36 ismétlés került tesztelésre három reagens tétel mindegyikével, így paneltagonként legalább 108 ismétléssel. A TE- és TAE-követelményeknek megfelelő, a LoD értékkel egyenlő vagy annál nagyobb koncentrációjú reagens-tétel eredményeit a 7. táblázat mutatja a plazma és a 8. táblázat a szérum esetében. Az 1-6. genotípusok LLoQ értékeit a plazmában és a szérumban a 9. táblázat foglalja össze. Ez a vizsgálat általános LLoQ értékét 10 NE/mL-ben határozta meg.

8: táblázat: Az LLoQ meghatározása genotípusok között plazmában

Genotípus	Célkoncentráció	Célkoncentráció	Aptima HCV Quant Dx	SD	Eltérés	Számított TE	Számított TAE
	(NE/mL)	(log NE/mL)	(log NE/mL)	(log NE/mL)	(log NE/mL)	(log NE/mL)	(log NE/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=standard deviáció

9: táblázat: Az LLoQ meghatározása genotípusok között szérumban

Genotípus	Célkoncentráció (NE/mL)	Célkoncentráció (log NE/mL)	Aptima HCV Quant Dx (log NE/mL)	SD (log NE/mL)	Eltérés (log NE/mL)	Számított TE (log NE/mL)	Számított TAE (log NE/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=standard deviáció

10: táblázat: Az LLoQ összefoglalása a plazma és a szérumban genotípusai között

HCV genotípusa	Plazma LLoQ		Szérumban LLoQ	
	(log NE/mL)	(NE/mL)	(log NE/mL)	(NE/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

Pontosság

A pontosság értékeléséhez 10 tagú panelt készítettek HCV-pozitív klinikai minták hígításával vagy armored RNS HCV-negatív plazmába és szérumba történő adalékolásával. A panelt három kezelő három reagenstétel felhasználásával három Panther rendszeren 21 tesztenapon keresztül tesztelte.

A 11. táblázat a vizsgálat eredményeinek pontosságát mutatja (log NE/mL-ben) a műszerek, a kezelők, a tételek, a futások között, a futásokon belül és összességében. A teljes változékonyság $\leq 13,31\%$ volt az összes paneltagra vonatkozóan, ami elsősorban a futáson belüli változékonyságnak (azaz a véletlen hibának) tudható be.

11. táblázat: Az Aptima HCV Quant Dx Assay pontossága

Mátrix	N	Átlagos koncentráció (log NE/mL)	Műszerek között		Kezelők között		Tételek között		Futtatások között		Futáson belül		Összesen	
			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
Szérum	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
Szérum	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
Szérum	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
Szérum	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
Szérum	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 = variációs együttható, SD = standard deviáció

^a A vizsgálat lineáris tartományán belüli érvényes eredmények száma.

Megjegyzés: Az egyes tényezőkből eredő változékonyság számszerűen negatív lehet, ami akkor fordulhat elő, ha az e tényezőkből eredő változékonyság nagyon kicsi. Ilyenkor az SD és a CV feltüntetett értéke 0.

Potenciálisan interferáló anyagok

Értékelésre került az Aptima HCV Quant Dx vizsgálat érzékenysége az endogén anyagok emelkedett szintje és a HCV fertőzöttek számára gyakran felírt gyógyszerek által okozott interferenciával szemben. HCV-negatív plazmaminták és 3,3 log NE/mL HCV-RNS-koncentrációjú HCV-vel adalékolt minták tesztelésére került sor.

A következők jelenléte nem okozott interferenciát a vizsgálat teljesítményében: albumin (90 mg/mL), hemoglobin (5 mg/mL), trigliceridek (30 mg/mL) vagy nem konjugált bilirubin (0,2 mg/mL).

A meghatározott anyagok emelkedett szintjével rendelkező vagy a 12. táblázat szerinti betegségben szenvedő betegektől származó klinikai plazmaminták tesztelése az Aptima HCV Quant Dx vizsgálattal történt. A vizsgálat teljesítményében nem volt megfigyelhető interferencia.

12: táblázat: Tesztelt klinikai mintatípusok

Klinikai mintatípusok	
1	Reumafaktor (RF)
2	Antinukleáris antitest (ANA)
3	Anti-Jo-1 antitest (JO-1)
4	Szisztémás lupus erythematosus (SLE)
5	Reumatoid artritisz (RA)
6	Szklerózis multiplex (MS)
7	Hiperglobulinémia
8	Emelkedett alanin-aminotranszferáz (ALT)
9	Emelkedett aszpartát-aminotranszferáz (AST)
10	Alkoholos cirrózis (AC)
11	Mielóma multiplex (MM)
12	Lipémiás (emelkedett lipid)
13	Ikterikus (emelkedett bilirubin)
14	Hemolizált (emelkedett hemoglobin)
15	Emelkedett fehérje albumin
16	HBV antitestek
17	HIV-1 antitestek
18	HIV-2 antitestek

A 13. táblázat által felsorolt exogén anyagok jelenlétében, a Cmax (humán plazma) legalább háromszorosának megfelelő koncentrációban nem volt megfigyelhető interferencia a vizsgálat teljesítményében.

13: táblázat: Exogén anyagok

Exogén anyagkészlet	Tesztelt exogén anyagok
1	Telaprevir, klaritromicin, interferon alfa-2a, dolutegravir, azitromicin
2	Szimeprevir, szofoszbuvir
3	Efavirenz, boceprevir, pegilált interferon alfa-2b, emtricitabin, raltegravir, amoxicillin
4	Abakavir-szulfát, ribavirin, daszabuvir, rilpivirin, rifampin/rifampicin
5	Lopinavir, tenofovir, lamivudin, valganciklovir
6	Heparin, EDTA, nátrium-citrát

Specifititás

A specifititás meghatározása 198 friss és 538 fagyasztott HCV-negatív klinikai minta felhasználásával történt. Összesen 370 plazma- és 366 szérumminta vizsgálatára került sor. A specifititás kiszámítása a „Nem észlelt” eredményt adó HCV-negatív minták százalékos arányaként történt. Összesen 736 mintában nem mutattak ki HCV-RNS-t. A specifititás 100% volt (736/736, 95%-os KI: 99,6–100%).

14: táblázat: Specifititás plazma és szérum klinikai mintákban

	Friss plazma	Fagyasztott plazma	Plazma Összesen	Friss Szérum	Fagyasztott szérum	Szérum Összesen	Kombinált
Érvényes ismétlések (n)	100	270	370	98	268	366	736
Nem észlelt	100	270	370	98	268	366	736
Specifititás (95%-os KI)	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)

KI = konfidenciaintervallum

Analitikai specificitás

A 15. táblázat által felsorolt kórokozókkal szembeni potenciális keresztreaktivitás értékelése HCV-negatív humán plazmában történt 3,3 log HCV jelenlétében vagy hiányában.

Keresztreaktivitást nem észleltek. A kórokozók jelenlétében nem észleltek interferenciát.

15. táblázat: Az analitikai specificitás szempontjából vizsgált kórokozók

Kórokozó	Koncentráció	
Hepatitis A vírus	100 000	másolat/mL
Hepatitis B vírus (HBV).	100 000	IU/mL ^a
Hepatitis G vírus	1 470	PFU/mL ^b
HIV-1	100 000	másolat/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
Humán herpeszvírus 6B	100 000	másolat/mL
Humán herpeszvírus 8	2 667	TCID50 U/mL ^c
Humán T-sejtes limfotróp 1-es típusú vírus (HTLV-1)	100 000	vp/mL ^d
Humán T-sejtes limfotróp 2-es típusú vírus (HTLV-2)	100 000	vp/mL
Parvovírus B19	100 000	IU/mL
Nyugat-nílusi vírus	100 000	PFU/mL
1-es Dengue-vírus	100 000	PFU/mL
2-es Dengue-vírus	100 000	PFU/mL
3-as Dengue-vírus	100 000	PFU/mL
4-es Dengue-vírus	100 000	PFU/mL
Cytomegalovírus	100 000	PFU/mL
Epstein-Barr vírus	100 000	másolat/mL
Rubeola vírus	100 000	PFU/mL
Humán papillomavírus	100 000	sejt/mL
5. típusú adenovírus	100 000	TCID50 U/mL
Influenza A vírus	100 000	TCID50 U/mL
Japán encefalitisz vírus	NA	NA
St. Louis encefalitisz vírus	NA	NA
Murray-völgyi encefalitisz vírus	2 643	LD/mL ^e
Sárgaláz vírus	100 000	sejt/mL

Kórokozó	Koncentráció	
<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	sejt/mL

^aIU/mL = Nemzetközi egységek mL-enként

^bPFU/mL = Plakk-képző egységek mL-enként.

^cTCID50 U/mL = Szövettenyésztési fertőző dózis egység/mL

^dvp/mL = Vírusrészecskék mL-enként.

^eLD/mL = Letális dózis mL-enként

^fCFU/mL = Kolóniaképző egységek mL-enként.

^gIFU/mL = Zárványképző egységek mL-enként

HCV-től eltérő vírusokat tartalmazó klinikai minták

A 16. táblázat által felsorolt kórokozókat egyedi, természetes úton fertőzött klinikai minták gyűjtésével értékelték. Ezeket 3,3 log NE/mL HCV RNS jelenlétében vagy hiányában vizsgálták. Keresztreaktivitást nem észleltek. Interferenciát nem észleltek.

16. táblázat: Az analitikai specifitás szempontjából vizsgált klinikai minták

Mikroorganizmus	Mátrix	N (donorok)
HBV	szérum	5
HBV	plazma	5
Dengue vírus	plazma	10
Hepatitis A vírus	plazma	10
HTLV-1	plazma	10
HTLV-2	plazma	10
HIV-1	plazma	10
Nyugat-nílusi vírus	plazma	10

Klinikai minták ismételhetősége

Az ismételhetőség értékelése természetes módon fertőzött HCV-pozitív plazma- és szérum klinikai minták három ismétlésének tesztelésével történt. A vizsgált plazma- és szérumminták átlagos koncentrációját és standard deviációját lásd: 17. táblázat és 18.

17. táblázat: Klinikai plazmaminták ismételhetősége

Plazmaminta azonosítója	Átlagos koncentráció (log NE/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

18. táblázat: Klinikai szérumminták ismételhetősége

Szérumminta azonosítója	Átlagos koncentráció (log NE/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

^aA tesztelt három ismétlésből kettő eredménye. Egy kiugró ismétlés eltávolítva.

Minta hígítása mintahígítóval

A HCV-RNS visszanyerésének értékeléséhez az Aptima mintahígító segítségével hígított mintákban a lineáris tartományt átfogó plazma- és szérumbinták 1:3 arányban lettek hígítva az Aptima mintahígító segítségével. Ezenkívül a magas titerű, természetesen fertőzött klinikai minták és az ULoQ feletti koncentrációjú Armored RNS-tartalmú minták hígítása 1:100 arányban történt az Aptima mintahígítóval. Minden minta tesztelése tisztán és hígítva (1:3 vagy 1:100) három példányban történt. A jelentett átlagos koncentráció (a hígított minta eredményére alkalmazott hígítási tényező) és az átlagos tiszta koncentráció közötti különbségeket a 19. táblázat mutatja a plazma és a 20. táblázat a szérum esetében. A mintakonzentrációk pontosan visszanyerhetőek voltak a hígított mintákban.

19. táblázat: Minta hígítása Aptima mintahígítóval – plazma

Hígítás	Átlagos tiszta koncentráció (log NE/mL)	Átlagos jelentett koncentráció ^a (log NE/mL)	Különbség
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

^aA jelentett koncentráció a hígítási tényező alkalmazása után számított érték.

^bAdalékolt minta

Megjegyzés: Minden 8,00 log-NE/mL feletti eredmény további elemzéssel került becslésre.

20: táblázat: Minta hígítása Aptima mintahígítóval – szérum

Hígítási tényező	Átlagos tiszta Koncentráció (log NE/mL)	Átlagos jelentett koncentráció ^a (log NE/mL)	Különbség
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
	7,15	6,65	0,50
1:100	>8,00 (8,44) ^b	8,46	-0,02

^aA jelentett koncentráció a hígítási tényező alkalmazása után számított érték.

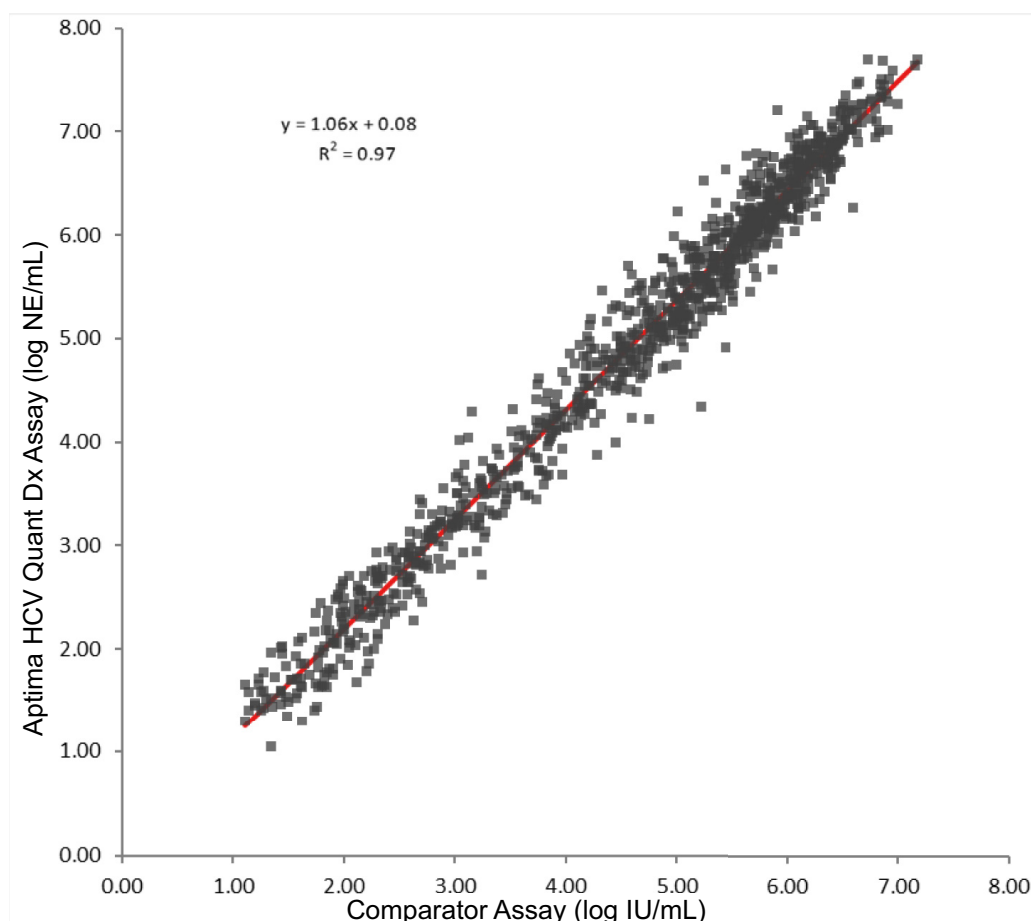
^bAdalékolt minta

^cA tesztelt három ismétlésből kettő eredménye. Egy kiugró ismétlés eltávolítva.

Megjegyzés: Minden 8,00 log NE/mL feletti eredmény további elemzéssel került becslésre.

Módszerkorreláció

Az Aptima HCV Quant Dx vizsgálat teljesítménye egy CE-jelzéssel ellátott összehasonlító vizsgálattal szemben került értékelésre HCV-fertőzött betegekből származó hígítatlan klinikai minták tesztelésével három Panther rendszerrel, négy reagenstétel felhasználásával. A lineáris regresszióhoz összesen 1058 plazma- és szérumminta (872 plazma, 186 szérum) került felhasználásra a két vizsgálat közös lineáris tartományában lévő összes HCV-genotípusból, amint azt a 8.ábra mutatja.



8. táblázat: Az Aptima HCV Quant Dx Assay és a Comparator Assay közötti korreláció

Diagnosztikai egyezés

A diagnosztikai egyezés értékeléséhez 227 HCV-pozitív személytől származó plazma- és szérumminta vizsgálata történt az Aptima HCV Quant Dx vizsgálattal és egy összehasonlító CE-jelzéssel ellátott kvalitatív vizsgálattal. Minden olyan eredményt, amely számszerűsíthető vagy kimutatható eredményt adott, az „Érzékelt” kategóriába soroltak. A nem észlelt célpontok eredményét a „Nem érzékelt cél” kategóriába sorolták. A 21. táblázat szerint a vizsgálatok közötti diagnosztikai egyezés 100%-os volt.

21: táblázat: Az Aptima HCV Quant Dx Assay és a Comparator Assay közötti diagnosztikai egyezés

		Aptima HCV Quant Dx Assay	
		Érzékelt	Nem érzékelt cél
Comparator Assay	Érzékelt	99	0
	Nem érzékelt cél	0	128

Átvitel

Annak megállapítása érdekében, hogy a Panther rendszer minimalizálja az átvitelből eredő hamis pozitív eredmények kockázatát, egy analitikai vizsgálatra került sor három Panther rendszerrel, adalékolt panelek felhasználásával. Az átvitel értékelése magas titerű Armored RNS-sel adalékolt plazmaminták (7 log IU/mL) felhasználásával történt, amelyeket sakktáblás mintázatban HCV-negatív minták közé helyeztek. A tesztelés tizenöt futtatáson keresztül zajlott. A teljes átviteli arány 0,14% volt (1/704).

Szerokonverziós panel

Tizenegy HCV-szerokonverziós panelkészletet, összesen 72 mintát vizsgáltak. Az Aptima HCV Quant Dx vizsgálat eredményeit összehasonlították a HCV-antitest-teszt eredményeivel. Az első reaktív eredményig eltelt napok számát a 22. táblázat tartalmazza. Az Aptima HCV Quant Dx vizsgálat átlagosan 20 nappal korábban mutatta ki a HCV jelenlétét, mint az antitest-tesztek.

22: táblázat: A szerokonverziós panel adatainak összefoglalása

Panel azonosító	A vizsgált paneltagok száma	A reaktív paneltagok száma			Az első reaktív eredményig eltelt napok			Az első reaktív eredményig eltelt napok különbsége (a vérvétel időpontja alapján)	
		Aptima HCV Quant Dx	HCV antitest teszt1	HCV antitest teszt2	Aptima HCV Quant Dx	HCV antitest teszt1	HCV antitest teszt2	A HCV antitest teszt1 előtti napok száma	A HCV antitest teszt2 előtti napok száma
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
Összesen	72	66	35	32			Átlag	19,36	20,73
							Medián	14	18

A HCV antitest teszt1 az Abbot Prism HCV vizsgálatlall készült.

A HCV antitest teszt2 az Ortho Enhanced SAVE vizsgálatlall készült, a következő kivételekkel:

6227-es és 6229-es panelek, amelyeket az Ortho ELISA Anti-HCV 3.0 vizsgálatlall teszteltek.

^aAz első vértesztet nem végezték el, mivel a szállító nem tudott mintát biztosítani.

^bEbben a panelben egyik vérteszt sem reagált a HCV-antitestre. Az utolsó vérteszt napját használták az „első reaktív eredményig eltelt napok” értékeként.

^cAz második vértesztet nem végezték el, mivel a szállító nem tudott mintát biztosítani.

Irodalomjegyzék

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-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); 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

Ügyféltámogatás: +1 800 442 9892
customersupport@hologic.com
Műszaki támogatás: +1 888 484 4747
molecularsupport@hologic.com

További elérhetőségekért látogasson el www.hologic.com oldalra.



Hologic BV
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

A Hologic, Aptima és Panther, valamint a kapcsolódó logók a Hologic, Inc. vállalatnak és/vagy leányvállalatainak a védjegyei és/vagy bejegyzett védjegyei az Amerikai Egyesült Államokban és/vagy más országokban.

Az Armored RNA az Asuragen, Inc. védjegye.

A jelen használati utasításban esetlegesen megjelenő minden további védjegy a mindenkori tulajdonosok tulajdonát képezi.

Ezt a terméket egy vagy több, a www.hologic.com/patents címen felsorolt egyesült államokbeli szabadalom védheti.

© 2015-2025 Hologic, Inc. Minden jog fenntartva.

AW-13249-2801 Rev. 006
2025-03