Анализ Aptima® HCV Quant Dx

Инструкция по применению
Для использования при диагностике *in vitro*
Только для экспорта за пределы США

Общие сведения 2
Предусмотренное применение 2
Резюме и характеристика тест-системы 2
Принципы метода 3
Краткая информация о безопасности и эксплуатационных характеристиках 4
Предупреждения и меры предосторожности 4
Требования к хранению и обращению с реактивами 8
Отбор и хранение образцов 8
Образцы, оставленные в системе Panther 12
Транспортировка образцов 12
Система Panther 13
Предоставляемые реактивы и материалы 13
Необходимые материалы, доступные отдельно 14
Дополнительные материалы 16
Методика испытания системы Panther 16
Заметки относительно методики 20
Контроль качества 22
Калибровка анализа 22
Отрицательный и положительный контроли 22
Внутренний калибратор / внутренний контроль 22
Интерпретация результатов 23
Ограничения 24
Аналитическая производительность 25
Предел детекции (LoD) с использованием 2-го международного стандарта ВОЗ 25
Предел детекции по генотипам ВГС 25
Линейный диапазон 26
Линейность по генотипам ВГС 27
Нижний предел количественного определения с использованием 2-го международного стандарта ВОЗ 28
Определение нижнего предела количественного определения (LLoQ) по генотипам ВГС 29
Прослеживаемость до международного стандарта ВОЗ 31
Прецизионность 32
Потенциальные интерференты 32
Характеристики при использовании ВГС-отрицательных образцов 34
Аналитическая специфичность 34
Клинические образцы, содержащие вирусы, отличные от ВГС 36
Матрица эквивалентности 36
Разбавление образца с помощью разбавителя образцов Aptima (1 : 3) 37
Разбавление образца с помощью разбавителя образцов Aptima (1 : 100) 38
Подтверждение LLoQ в клинических образцах, разбавленных в разбавителе образцов . . . 39
Прецизионность разбавленных образцов 40
Перенос 40
Сероконверсионная панель 40
Исследование воспроизводимости 41
Клинические характеристики 43
Корреляция методов 43
Конечные точки клинической полезности 44
Ответ на противовирусную терапию 48
Исследование диагностической значимости 51
Перекрестная реактивность у испытуемых с заболеваниями печени, не связанными с ВГС 53
Список используемой литературы 55
Контактная информация и история редакций 56

Общие сведения

Предусмотренное применение

Анализ Aptima® HCV Quant Dx представляет собой тест на транскрипционно-опосредованную амплификацию в режиме реального времени. Этот анализ используется как для детекции, так и для количественного определения РНК вируса гепатита С (ВГС) в свежей и замороженной сыворотке и плазме людей, инфицированных ВГС.

Плазма может быть приготовлена в этилендиаминтетрауксусной кислоте (ЭДТА), антикоагулянте цитрат-декстроза (АЦД) и вакуумных пробирках для приготовления плазмы крови (PPT). Сыворотка может быть приготовлена в вакуумных пробирках для приготовления сыворотки крови и пробирках для отделения сыворотки (serum separator tube, SST). Образцы тестируют с помощью полностью автоматизированной системы Panther™ для обработки, амплификации, детекции и количественного определения образцов. Образцы, содержащие генотипы ВГС 1—6, валидируют на предмет детекции и количественного определения в анализе.

Анализ Aptima HCV Quant Dx предназначен использования в качестве вспомогательного средства при диагностике инфекции ВГС. Анализ можно использовать для подтверждения активной инфекции ВГС у пациентов с положительными антителами к ВГС. Детекция РНК ВГС указывает на то, что вирус размножается и, следовательно, является свидетельством активной инфекции.

Анализ Aptima HCV Quant Dx предназначен для использования в ведении пациентов, инфицированных ВГС, получающих противовирусную лекарственную терапию против ВГС. Анализ измеряет уровни РНК ВГС до, во время и после лечения, чтобы определить устойчивый вирусологический ответ (SVR). Результаты применения анализа Aptima HCV Quant Dx следует интерпретировать в контексте всех соответствующих клинических и лабораторных данных.

Анализ Aptima HCV Quant Dx не предназначен для использования в качестве скринингового теста на наличие ВГС в крови или препаратах крови.

Резюме и характеристика тест-системы

ВГС является переносимым кровью патогеном и представляет большую проблему для общественного здравоохранения во всем мире: до 170 млн человек инфицированы во всем мире и 350 000 человек ежегодно умирают из-за связанных с ВГС состояний, включая цирроз и рак печени. [1,2] Передача ВГС происходит через кровь, продукты крови или при контакте с кожей. [3,4] Генетически ВГС содержит РНК-геном положительной полярности приблизительно из 9 500 нуклеотидов, кодирующих структурные белки (белки ядра, гликопротеины E1 и E2, белок ионного канала p7) и неструктурные белки (NS2, NS3, NS4A/B, NS5A/B), причем последние являются ключевыми вирусными репликативными белками и мишенями противовирусных препаратов прямого действия.[4,5] Два нетранслируемых участка (UTR) генома, 5'UTR и 3'UTR, выполняют роль трансляции генома и репликации/упаковки генома соответственно.[5] 5'-UTR является наиболее высоко консервативным геномным участком среди шести основных генотипов ВГС.[6]

В клинической практике отмечается высокая распространенность бессимптомной ВГС-инфекции, а хроническая ВГС-инфекция развивается приблизительно у 75 % пациентов.[2] Для обеспечения своевременного приема на диспансерное наблюдение необходимы алгоритмы лабораторного тестирования на ВГС, требующие диагностики активной ВГС-инфекции у лиц с положительными антителами путем выявления РНК ВГС в плазме или сыворотке крови.[7,8,9]

Количественное определение РНК ВГС (вирусная нагрузка) сыграло ключевую роль в определении и мониторинге успешного лечения ВГС. Устойчивый вирусологический ответ (SVR — Sustained virological response), определяемый как необнаружение РНК ВГС после успешной терапии, является ключевым маркером для лечения ВГС[10,11]. В терапии на основе интерферона ранний вирусологический ответ (EVR — early virological response), определяемый как снижение вирусной нагрузки ВГС на 2 log или больше после 12 недель терапии и быстрый вирусологический ответ (RVR — rapid virological response), определяемый как неопределяемые уровни РНК ВГС после 4 недель терапии, являются положительными предикторами SVR[10,12,13]. Эти маркеры вирусной кинетики используются в подходах, основанных на ответе на терапию, с учетом вариантов лечения с прекращением или продлением терапии для достижения SVR[14]. Кроме того, последующие долгосрочные исследования продемонстрировали длительное сохранение SVR после успешного лечения, а эрадикация вируса предотвращает прогрессирование заболевания печени[10].

В эпоху применения антивирусных препаратов прямого действия (DAA — АППД) количественное определение РНК ВГС (вирусная нагрузка) сыграло ключевую роль в определении и мониторинге успешного лечения ВГС. Устойчивый вирусологический ответ (SVR) определяется как необнаружение РНК ВГС (с помощью анализа с пределом детекции < 25 МЕ/мл) после терапии[10,11]. Согласно последним рекомендациям AASLD (Американской ассоциации исследований заболеваний печени), тестирование на РНК ВГС должно проводиться не только до начала лечения, но и периодически во время терапии (например, через 4 недели) и через 12 недель после ее завершения[10, 12, 13].

Принципы метода

Анализ Aptima HCV Quant Dx представляет собой тест-систему для амплификации нуклеиновых кислот, в которой используется технология транскрипционно-опосредованной амплификации в режиме реального времени (TMA — transcription-mediated amplification) для детекции и количественного определения РНК ВГС с целью подтверждения диагноза и установления исходной вирусной нагрузки, а также для оценки ответа на терапию во время и после лечения. Анализ направлен на консервативную область генома ВГС, обнаруживая и количественно определяя генотипы 1, 2, 3, 4, 5 и 6. Анализ стандартизирован в соответствии со 2-м международным стандартом ВОЗ для вируса гепатита С (код NIBSC: 96/798)[12].

Анализ Aptima HCV Quant Dx включает в себя три основных этапа, выполняемых в одной пробирке в системе Panther System: захват мишени, амплификация мишени с помощью TMA и детекция продуктов амплификации (ампликон) с помощью флуоресцентных зондов (факелов).

Во время захвата мишени вирусная РНК выделяется из образцов. Образец обрабатывают детергентом для растворения вирусной оболочки, денатурирующих белков и высвобождения вирусной геномной РНК. Захваченные олигонуклеотиды гибридизуются с высококонсервативными участками РНК ВГС, если они присутствуют в тестируемом образце. Затем гибридизированная мишень захватывается магнитными микрочастицами, которые отделяются от образца в магнитном поле. На этапе очистки посторонние компоненты удаляются из реакционной пробирки.

Амплификация мишени происходит с помощью TMA, который является методом амплификации нуклеиновой кислоты, опосредованный транскрипцией, где используются два фермента: обратная транскриптаза вируса мышиного лейкоза Молони (MMLV- es, Moloney murine leukemia virus) и РНК-полимераза T7. Обратная транскриптаза используется для генерации ДНК-копии (содержащей промоторную последовательность для РНК-полимеразы T7) геномной последовательности мишени. РНК-полимераза T7 продуцирует несколько копий РНК-ампликона из матрицы ДНК-копии. Анализ Aptima

HCV Quant Dx используется метод TMA для амплификации части 5'-UTR генома ВГС. Амплификация этого участка достигается с помощью специфических праймеров, которые предназначены для амплификации генотипов ВГС 1, 2, 3, 4, 5 и 6.

Детекция происходит с помощью одноцепочечных факелов нуклеиновых кислот, которые присутствуют во время амплификации мишени и специфически гибридизуются с ампликоном в режиме реального времени. Каждый факел содержит флуорофор и гаситель люминесценции. Когда факел не гибридизуется с ампликоном, гаситель находится в непосредственной близости от флуорофора и подавляет флуоресценцию. Когда факел соединяется с ампликоном, гаситель удаляется от флуорофора, который излучает сигнал на определенной длине волны при возбуждении источником света. По мере того как все больше факелов гибридизируются с ампликоном, генерируется более интенсивный флуоресцентный сигнал. Время, необходимое флуоресцентному сигналу для достижения установленного порога, пропорционально исходной концентрации ВГС. Каждая реакция имеет внутренний калибратор, или внутренний контроль, который контролирует отклонения в процессе обработки, амплификации и детекции образца. Концентрация образца определяется системным программным обеспечением Panther System, используя сигналы от ВГС и внутреннего контроля для каждой реакции и сравнивая их с калибровочной информацией.

Краткая информация о безопасности и эксплуатационных характеристиках

Краткую информацию о безопасности и эксплуатационных характеристиках (Summary of Safety and Performance, SSP) см. в Европейской базе данных о медицинских изделиях (Eudamed), где она приведена с привязкой к идентификаторам изделий (базовым UDI-DI). Чтобы найти SSP для анализа Aptima HCV Quant Dx, см. базовый уникальный идентификатор изделия (Basic Unique Device Identifier, BUDI): 54200455DIAGAPTHCVAJ.

Предупреждения и меры предосторожности

A. Для использования при диагностике *in vitro*.

B. Для профессионального использования.

C. Чтобы снизить риск получения недействительных результатов, перед проведением анализа на *Panther system* внимательно ознакомьтесь с листком-вкладышем и руководством оператора системы Panther/*Panther Fusion™.*

D. Дополнительные сведения о предупреждениях, мерах предосторожности и процедурах по предотвращению загрязнения см. в руководстве оператора *Panther/Panther Fusion System Operator's Manual*.

Относится к лаборатории

E. ВНИМАНИЕ! Контроли для этого анализа содержат плазму крови человека. Плазма не реагирует на поверхностный антиген вируса гепатита B (HBsAg), антитела к вирусу гепатита C (ВГС), антитела к ВИЧ-1 и ВИЧ-2 и антиген ВИЧ при тестировании с использованием лицензированных процедур Управления по контролю за качеством пищевых продуктов и лекарственных средств США. Кроме того, плазма не реагирует на РНК ВГС и РНК ВИЧ-1 при тестировании с помощью лицензированных тест-систем для нуклеиновых кислот с использованием объединенных образцов. Все материалы, полученные из крови человека, следует считать потенциально заразными и обращаться с ними с использованием общепринятых мер предосторожности[14, 15, 16].

F. Эту методику должен применять только персонал, прошедший соответствующую подготовку по обращению с анализом Aptima HCV Quant Dx и потенциально

инфицированными материалами. В случае разлива немедленно продезинфицируйте место разлива, следуя соответствующим процедурам лаборатории.

G. Используйте только поставляемую или рекомендованную одноразовую лабораторную посуду.

H. Используйте стандартные лабораторные меры предосторожности. Не пипетируйте ртом. Не ешьте, не пейте и не курите в рабочей зоне. При работе с образцами и набором реактивов используйте одноразовые неопудренные перчатки, защитные очки и лабораторные халаты. Тщательно мойте руки после работы с образцами и реактивами из комплекта.

I. Рабочие поверхности, пипетки и другое оборудование необходимо регулярно дезактивировать раствором гипохлорита натрия с концентрацией 2,5—3,5 % (0,35—0,5 М).

J. Утилизируйте все материалы, соприкасающиеся с образцами и реактивами, в соответствии с локальными, региональными и федеральными регуляторными требованиями[14, 15, 16, 17]. Тщательно очищайте и дезинфицируйте все рабочие поверхности.

K. Контроли содержат азид натрия в качестве консерванта. Не используйте металлические трубки/трубопроводы для переноса реагента. Если растворы, содержащие соединения азида натрия, утилизируются в водопроводную систему, их следует разбавить и смыть большим количеством проточной воды. Эти меры предосторожности рекомендуются во избежание накопления отложений в металлических трубопроводах с возникновением взрывоопасных условий.

L. Надлежащая стандартная практика для молекулярных лабораторий включает мониторинг окружающей среды. Для мониторинга среды лаборатории предлагается следующая методика:

1. Возьмите ватный тампон и введите в аликвотную пробирку Aptima (SAT — Specimen Aliquot Tube).
2. Промаркируйте каждую аликвотную пробирку (SAT) соответственно.
3. Заполните каждую аликвотную пробирку (SAT) 1 мл разбавителя проб Aptima.
4. Для отбора образцов с поверхности слегка смочите тампон деионизированной водой, не содержащей нуклеаз.
5. Протрите испытуемую поверхность, выполняя вертикальное движение сверху вниз. Поверните тампон примерно на половину оборота во время протирания.
6. Немедленно поместите тампон, содержащий пробу, в пробирку и осторожно прокручивайте тампон в разбавителе, чтобы извлечь потенциальный образец. Прижмите тампон к стенке транспортной пробирки, чтобы извлечь как можно больше жидкости. Утилизируйте тампон и закройте пробирку.
7. Повторите шаги для оставшихся тампонов, содержащих образцы.
8. Испытайте образец с помощью методики молекулярного анализа.

Относится к образцу

M. Образцы могут быть инфицированы. При выполнении этого анализа применяйте общепринятые меры предосторожности [14, 15, 16]. Надлежащие методы обращения и утилизации должны устанавливаться в соответствии с местными нормативными актами.[17] Эту процедуру должен выполнять только персонал, прошедший соответствующую подготовку по использованию анализа Aptima HCV Quant Dx и обращению с заразными материалами.

N. При транспортировке образцов соблюдайте надлежащие условия хранения, чтобы обеспечить их целостность. Стабильность образцов в условиях, отличных от рекомендованных, не оценивали.

O. Избегайте перекрестного загрязнения на этапах обработки образцов. Будьте особенно осторожны, чтобы избежать загрязнения аэрозолями при раскрытии или распечатывании образцов. Образцы могут содержать чрезвычайно высокие уровни микроорганизмов. Убедитесь, что контейнеры для образцов не соприкасаются друг с другом, и утилизируйте использованные материалы так, чтобы при этом не проносить их над открытыми контейнерами. Поменяйте перчатки при соприкосновении с образцом.

Относится к анализу

P. Не используйте набор реагентов, калибратор или контроли после истечения срока годности.

Q. Не меняйте, не смешивайте и не комбинируйте аналитические реагенты из наборов с разными номерами основных серий. Жидкости анализа могут быть из лотов с разными номерами. Контроли и калибратор могут быть из лотов с разными номерами.

R. Не допускайте загрязнения реагентов микроорганизмами и нуклеазами.

S. Закрывайте и храните все аналитические реагенты при установленной температуре. На эффективность анализа может повлиять использование неправильно хранящихся аналитических реагентов. См. *Требования к хранению и обращению с реактивами* и *Методика испытания системы Panther* для получения дополнительной информации.

T. Не комбинируйте аналитические реагенты или жидкости без специальных инструкций. Не доливайте в емкости реагенты и жидкости. Система Panther верифицирует уровни реагентов.

U. Некоторые реактивы в этом наборе маркированы символами риска и безопасности.

Примечание. *Информирование об опасности соответствует классификации паспортов безопасности ЕС (Safety Data Sheet, SDS). Информирование об опасности, относящееся к вашему региону, см. в SDS для конкретного региона в Библиотеке SDS на www.hologicsds.com. Подробнее о символах см. в разделе условных обозначений на веб-странице www.hologic.com/package-inserts.*

Информация об опасности — ЕС	
	Реагент амплификации *МАГНИЯ ХЛОРИД 60—65 %*
—	— H412 – Вредно для водных организмов с долгосрочными последствиями. P273 – Избегать попадания в окружающую среду. P501 – Упаковку/содержимое следует утилизировать на сертифицированном предприятии по переработке отходов.
	Реагент промотирования *МАГНИЯ ХЛОРИД 60—65 %*
—	— H412 – Вредно для водных организмов с долгосрочными последствиями. P273 – Избегать попадания в окружающую среду. P501 – Упаковку/содержимое следует утилизировать на сертифицированном предприятии по переработке отходов.

—	**Ферментный реагент** *Triton X-100 1—5 %* *HEPES 1—5 %* — H412 – Вредно для водных организмов с долгосрочными последствиями. P273 – Избегать попадания в окружающую среду. P501 – Упаковку/содержимое следует утилизировать на сертифицированном предприятии по переработке отходов.
	**Набор контролей HCV VL** *АЗИД НАТРИЯ < 1 %* — **ОПАСНО** H300 – Смертельно опасно при проглатывании. H410 – Высокотоксично для водных организмов с долгосрочными последствиями. P264 – После работы тщательно вымыть лицо, руки и все открытые участки кожи. P273 – Избегать попадания в окружающую среду. P301 + P310 – ПРИ ПРОГЛАТЫВАНИИ: Немедленно обратиться в ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР или к врачу. P321 – Специфическое лечение (дополнительные инструкции по оказанию первой помощи см. на этикетке). P330 – Прополоскать рот. P391 – Убрать пролитую жидкость.
—	**Набор калибраторов HCV VL** *HEPES 15—20 %* *Лаурилсульфат, литиевая соль 5—10 %* *Лития гидроксид, моногидрат 1—5 %* *Янтарная кислота 1—5 %* — H412 – Вредно для водных организмов с долгосрочными последствиями. P273 – Избегать попадания в окружающую среду. P501 – Упаковку/содержимое утилизировать на сертифицированном предприятии по переработке отходов.
—	**Ферментный восстанавливающий раствор** *Глицерол 20—25 %* *Triton X-100 5-10%* *HEPES 1—5 %* — H412 – Вредно для водных организмов с долгосрочными последствиями. P273 – Избегать попадания в окружающую среду. P501 – Упаковку/содержимое утилизировать на сертифицированном предприятии по переработке отходов.
—	**Реагент захвата мишени** *HEPES 15—20 %* *Лаурилсульфат, литиевая соль 5—10 %* *Лития гидроксид, моногидрат 1—5 %* *Янтарная кислота 1—5 %* — H412 – Вредно для водных организмов с долгосрочными последствиями. P273 – Избегать попадания в окружающую среду. P501 – Упаковку/содержимое утилизировать на сертифицированном предприятии по переработке отходов.

Требования к хранению и обращению с реактивами

A. В следующей таблице приведены условия хранения и стабильность реагентов, контролей и калибратора.

Реагент	Хранение в закрытом состоянии	Открытый комплект (разведенный)	
		Хранение	Стабильность
Реагент амплификации qHCV	От 2 °C до 8 °C		
Восстанавливающий раствор амплификации qHCV	От 2 °C до 8 °C	От 2 °C до 8 °C	30 дней[a]
Ферментный реагент qHCV	От 2 °C до 8 °C		
Ферментный восстанавливающий раствор qHCV	От 2 °C до 8 °C	От 2 °C до 8 °C	30 дней[a]
Реагент промотирования qHCV	От 2 °C до 8 °C		
Восстанавливающий раствор промотирования qHCV	От 2 °C до 8 °C	От 2 °C до 8 °C	30 дней[a]
Реагент захвата мишени qHCV	От 2 °C до 8 °C	От 2 °C до 8 °C	30 дней[a]
qHCV NC CONTROL — (отрицательный контроль)	От −15 °C до −35 °C	От 15 °C до 30 °C	Одноразовый флакон Использовать в течение 24 часов
qHCV LPC CONTROL + (слабый положительный контроль)	От −15 °C до −35 °C	От 15 °C до 30 °C	Одноразовый флакон Использовать в течение 24 часов
Сильный положительный контроль qHCV	От −15 °C до −35 °C	От 15 °C до 30 °C	Одноразовый флакон Использовать в течение 24 часов
qHCV PCAL (положительный калибратор)	От −15 °C до −35 °C	От 15 °C до 30 °C	Одноразовый флакон Использовать в течение 24 часов

[a] Когда реагенты удаляются из системы Panther, их следует немедленно поместить в условия с надлежащей температурой хранения.

B. Утилизируйте любые неиспользованные разбавленные реактивы и реагенты захвата мишени (TCR) через 30 дней или после истечения срока действия основной серии в зависимости от того, что наступит раньше.

C. Реагенты, хранящиеся в системе Panther, стабильны в течение 72 часов. Реагенты можно загружать в систему Panther до 8 раз. Система Panther регистрирует каждую загрузку реагента.

D. После размораживания калибратора раствор должен быть прозрачным, то есть не мутным и без осадка.

E. Реагент промотирования и разведенный реагент промотирования являются светочувствительными. Защищайте эти реагенты от света во время хранения и подготовки к применению.

Отбор и хранение образцов

Примечание. *Обращайтесь со всеми образцами так, как будто они содержат потенциально инфицирующих возбудителей. Соблюдайте общепринятые меры предосторожности.*

Примечание. *Будьте осторожны, чтобы не допустить перекрестного загрязнения при обработке образцов. Например, утилизируйте использованный материал, не пронося его над открытыми пробирками.*

Примечание. *Для хранения рекомендуются только пластиковые вторичные пробирки.*

Можно использовать образцы цельной крови, собранные в следующих стеклянных или пластиковых пробирках:

- пробирки, содержащие этилендиаминтетрауксусную кислоту (ЭДТА) или антикоагулянт цитрат-декстроза (АЦД), или
- вакуумные пробирки для подготовки плазмы (PPT — plasma preparation tubes);
- пробирки с сывороткой крови;
- пробирки для отделения сыворотки (SST — serum separator tubes)

Дождитесь, пока в сыворотке крови сформируется сгусток, прежде чем приступать к дальнейшей обработке.

A. Отбор образцов

Цельная кровь может храниться при температуре от 2 до 30 °C и должна быть центрифугирована в течение 6 часов после отбора образцов. Отделяют плазму или сыворотку крови от сгустка эритроцитов, следуя инструкциям производителя для используемой пробирки. Плазму или сыворотку можно тестировать в системе Panther в первичной пробирке или переносить во вторичную пробирку, такую как аликвотная пробирка Aptima. Чтобы получить реакционный объем 500 мкл, минимальный объем плазмы или сыворотки крови для пробирок первичного отбора составляет до 1 200 мкл, а для вторичных пробирок минимальный объем составляет 700 мкл. В следующей таблице указаны требования к мертвому объему для каждого типа первичной и вторичной пробирки.

Пробирка (размер и тип)	Мертвый объем в системе Panther
Аликвотная пробирка (SAT) Aptima	0,2 мл
12 × 75 мм	0,5 мл
13 × 100 мм	0,5 мл
13 × 100 мм с гелем	0,3 мл
16 × 100 мм с гелем	0,7 мл

Если не выполнять тестирование сразу, плазму и сыворотку можно хранить в соответствии с приведенными ниже спецификациями. При переносе во вторичную пробирку плазма или сыворотка могут быть заморожены при −20 °C. Не превышайте 3 цикла заморозки-разморозки. Не замораживайте образцы в пробирках с ЭДТА, АЦД или сывороткой крови.

B. Условия хранения образцов

1. Образцы в плазме с ЭДТА или АЦД

Цельная кровь может храниться при температуре от 2 до 30 °C и должна быть центрифугирована в течение 6 часов после отбора образцов. Плазма затем может храниться в условиях, соответствующих одному из следующих вариантов:

- в пробирках первичного отбора или вторичных пробирках при температуре от 2 °C до 25 °C до 24 часов,
- в пробирках первичного отбора или вторичных пробирках при температуре от 2 °C до 8 °C до 5 дней, или

- во вторичных пробирках при температуре −20 °C до 60 дней.

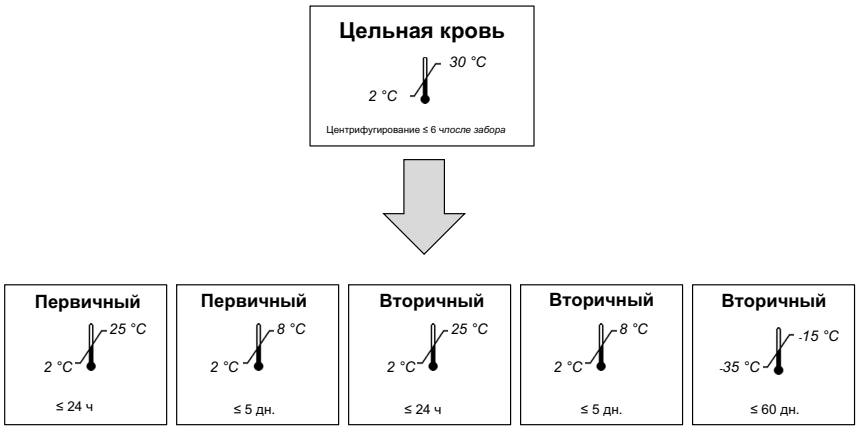


Рис. 1. Условия хранения пробирок с ЭДТА/АЦД

2. Образцы в пробирках PPT

   Цельная кровь может храниться при температуре от 2 до 30 °C и должна быть центрифугирована в течение 6 часов после отбора образцов. Плазма затем может храниться в условиях, соответствующих одному из следующих вариантов:

   - в пробирках первичного отбора или вторичных пробирках при температуре от 2 °C до 25 °C до 24 часов,
   - в пробирках первичного отбора или вторичных пробирках при температуре от 2 °C до 8 °C до 5 дней, или
   - в пробирках первичного отбора или вторичных пробирках при температуре −20 °C до 60 дней.

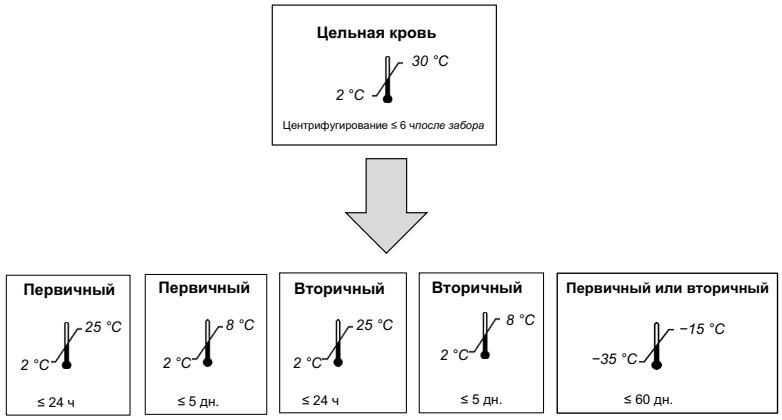


Рис. 2. Условия хранения пробирок PPT

3. Пробирки с образцами сыворотки крови

   Цельная кровь может храниться при температуре от 2 до 30 °C и должна быть центрифугирована в течение 6 часов после отбора образцов. Сыворотка затем может храниться в одном из следующих вариантов условий:

   - в пробирках первичного отбора или вторичных пробирках при температуре от 2 °C до 30 °C до 24 часов,
   - в пробирках первичного отбора или вторичных пробирках при температуре от 2 °C до 8 °C до 5 дней, или
   - во вторичных пробирках при температуре −20 °C до 60 дней.

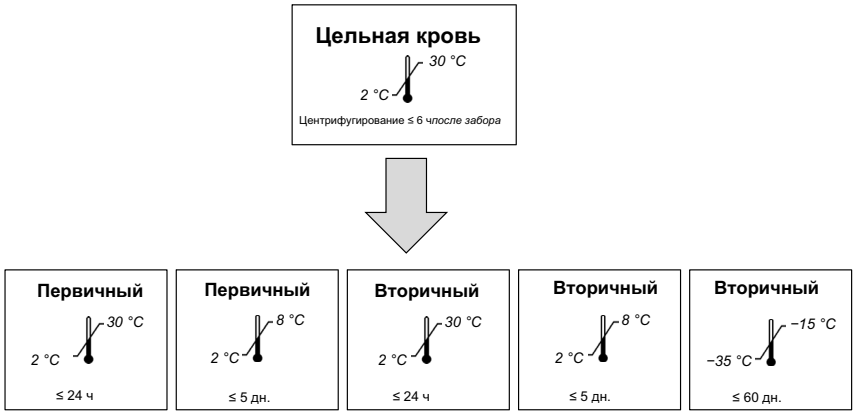


Рис. 3. Условия хранения пробирок с сывороткой крови

4. Образцы в пробирках для отделения сыворотки (SST)

   Цельная кровь может храниться при температуре от 2 до 30 °C и должна быть центрифугирована в течение 6 часов после отбора образцов. Сыворотка затем может храниться в одном из следующих вариантов условий:

   - в пробирках первичного отбора или вторичных пробирках при температуре от 2 °C до 30 °C до 24 часов,
   - в пробирках первичного отбора или вторичных пробирках при температуре от 2 °C до 8 °C до 5 дней, или
   - в пробирках первичного отбора или вторичных пробирках при температуре −20 °C до 60 дней.

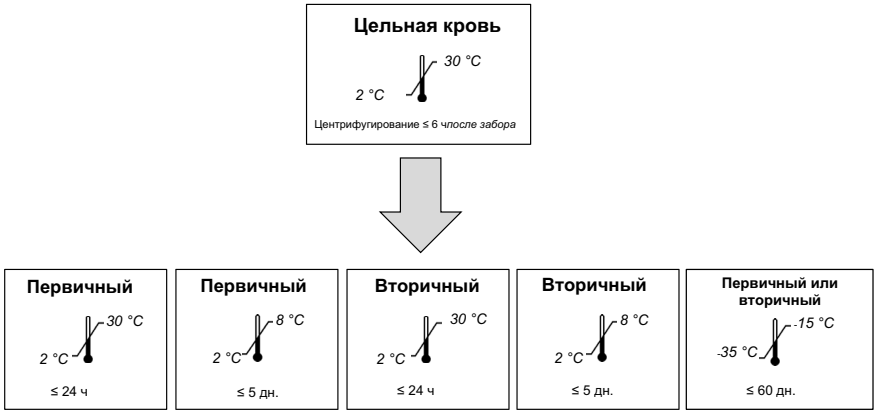


Рис. 4. Условия хранения пробирок SST

C. Длительное хранение в замороженном состоянии

Пробы плазмы или сыворотки крови могут храниться при температуре от −65 °C до −70 °C в течение 60 дней в аликвотных пробирках (SAT).

D. Образцы разбавленной плазмы или сыворотки крови

Образцы плазмы и сыворотки могут быть разбавлены в аликвотных пробирках (SAT) или вторичных пробирках для тестирования в системе Panther System. Для получения дополнительной информации см. *Методика испытания системы Panther*, этап E.5 ниже.

⚠ *Не следует проводить диагностическую интерпретацию, если результатом анализа разбавленного образца сыворотки или плазмы является «Не обнаружено». Необходимо подготовить новый неразбавленный образец и выполнить анализ повторно.*

Примечание. *Если образец разбавлен, его следует тестировать сразу же после разбавления. Не замораживайте разбавленный образец.*

Образцы, оставленные в системе Panther

Образцы можно оставить в системе Panther без крышки на срок до 8 часов. Образцы можно удалить из системы Panther и протестировать, если общее время нахождения в системе не превышало 8 часов до пипетирования образца системой Panther.

Транспортировка образцов

Поддерживайте условия хранения образцов, как описано в *Отбор и хранение образцов*.

Примечание. *Образцы должны поставляться в соответствии с применимыми национальными, международными и региональными транспортными нормативными и правовыми требованиями.*

Система Panther

Ниже перечислены реагенты анализа Aptima HCV Quant Dx для системы Panther System. Кроме того, рядом с названием реактива указаны символы идентификации реактива.

Предоставляемые реактивы и материалы

Набор анализа Aptima HCV Quant Dx, 100 тестов, номер по каталогу PRD-03506 (1 коробка с анализом, 1 набор калибраторов, 1 набор контролей)
Дополнительные калибраторы и контроли можно заказать отдельно. Смотрите соответствующие номера по каталогу ниже.

Коробка с анализом Aptima HCV Quant Dx
(по получении хранить при температуре от 2 °C до 8 °C)

Символ	Компонент	Количество
A	**Реагент амплификации qHCV** *Неинфекционные нуклеиновые кислоты, высушенные в буферном растворе.*	1 флакон
E	**Ферментный реагент qHCV** *Обратная транскриптаза и РНК-полимераза, высушенные в буферном растворе HEPES.*	1 флакон
PRO	**Реагент промотирования qHCV** *Неинфекционные нуклеиновые кислоты, высушенные в буферном растворе.*	1 флакон
AR	**Восстанавливающий раствор амплификации qHCV** *Водный раствор, содержащий глицерин и консерванты.*	1 × 7,2 мл
ER	**Ферментный восстанавливающий раствор qHCV** *Буферный раствор HEPES, содержащий поверхностно-активное вещество и глицерин.*	1 × 5,8 мл
PROR	**Восстанавливающий раствор промотирования qHCV** *Водный раствор, содержащий глицерин и консерванты.*	1 × 4,5 мл
TCR	**Реагент захвата мишени qHCV** *Нуклеиновые кислоты в забуференном солевом растворе, содержащем твердую фазу, неинфекционные нуклеиновые кислоты и внутренний калибратор.*	1 × 72,0 мл
	Манжеты для восстановления	3
	Лист штрихкодов основной серии	1 лист

Набор калибраторов Aptima HCV Quant Dx Calibrator Kit (Номер по каталогу PRD-03507)
(по получении хранить при температуре от −15 °C до −35 °C)

Символ	Компонент	Количество
PCAL	**Положительный калибратор qHCV** *Транскрипт в буферном растворе.*	5 × 2,5 мл
	Этикетка штрихкода калибратора	—

Aptima HCV Quant Dx Controls Kit (Номер по каталогу PRD-03508)
(по получении хранить при температуре от −15 °C до −35 °C)

Символ	Компонент	Количество
NC	**Отрицательный контроль qHCV** *ВГС-отрицательная дефибринированная плазма человека, содержащая гентамицин и 0,2 % азида натрия в качестве консервантов.*	5 × 0,8 мл
LPC	**Слабый положительный контроль qHCV** *Неинфекционная армированная РНК ВГС в дефибринированной плазме человека, содержащая гентамицин и 0,2 % азида натрия в качестве консервантов.*	5 × 0,8 мл
HPC	**Высокий положительный контроль qHCV** *Неинфекционная армированная РНК ВГС в дефибринированной плазме человека, содержащая гентамицин и 0,2 % азида натрия в качестве консервантов.*	5 × 0,8 мл
	Этикетка штрихкода контроля	—

Необходимые материалы, доступные отдельно

Примечание. *Материалы, поставляемые компанией Hologic, имеют указанные номера по каталогу, если не указано иное.*

Материал	Каталожный №
Система Panther™	303095
Система Panther Fusion™	PRD-04172
Непрерывный поток жидкости и отходов для системы Panther™ (Panther Plus)	PRD-06067
Комплект контролей для Aptima® HCV Quant Dx	PRD-03508
Комплект калибраторов для Aptima® HCV Quant Dx	PRD-03507
Комплект Panther Run для анализов в режиме реального времени (только для анализов в режиме реального времени)	PRD-03455 (5 000 тестов)
Комплект жидкостей для анализа Aptima® (также известный как комплект универсальных жидкостей) *содержит промывающий раствор Aptima®, буфер для приготовления жидкости для деактивации Aptima® и масло-реактив Aptima®*	303014 (1 000 тестов)
Многопробирочные блоки (MTU)	104772-02
Набор пакетов для утилизации Panther™	902731

Материал	Каталожный №
Чехол емкости для утилизации Panther™	504405
Или комплект Panther™ Run *(при проведении анализов TMA не в режиме реального времени параллельно с анализами TMA в режиме реального времени) содержит MTU, пакеты для утилизации, емкости для утилизации, автодетектор и жидкости для анализа.*	303096 (5 000 тестов)
Наконечники (1 000 мкл) с фильтром, чувствительные к жидкости, проводящие, одноразовые *Ассортимент изделий может варьироваться в зависимости от региона. Для получения информации о наличии определенных изделий свяжитесь с местным представителем.*	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Отбеливатель, 5—8,25 % (0,7—1,16 М) раствора гипохлорита натрия	—
Перчатки одноразовые неопудренные	—
Сменные непроницаемые колпачки	103036A
Крышки для замены реагентов *Флаконы с восстанавливающими растворами реагентов амплификации, промотирования и ферментного реагента* *Флакон TCR*	 CL0041 (100 крышек) CL0040 (100 крышек)
Пластиковые покрытия для лабораторного стола	—
Безворсовые салфетки	—
Дозатор	—
Наконечники	—
Параметры пробирок первичного отбора: *13 мм × 100 мм* *13 мм × 75 мм* *16 мм × 100 мм*	 — — —
Центрифуга	—
Вихревой смеситель	—

Дополнительные материалы

Материал	Каталожный №
Варианты вторичных пробирок:	
12 мм × 75 мм	—
13 мм × 100 мм	—
16 мм × 100 мм	—
Аликвотные пробирки (SATs) Aptima (100 штук)	FAB-18184
Крышка транспортной пробирки (100 штук) *крышка для пробирки SAT*	504415
Разбавитель образцов Aptima®	PRD-03003
Комплект разбавителей образцов Aptima® *содержит разбавитель образцов, 100 SAT и 100 крышек*	PRD-03478
Пипетки для переноса	—
Доступные на рынке панели	—
Ватные тампоны на палочке	—
Встряхиватель для пробирок	PRD-03488

Методика испытания системы Panther

Примечание. *Подробнее о порядке работы с системой Panther см. в Panther/Panther Fusion System Operator's Manual (Руководстве по эксплуатации систем Panther/ Panther Fusion).*

A. Подготовка рабочей зоны

1. Очистите рабочие поверхности, где будут готовиться реагенты. Протрите рабочие поверхности раствором гипохлорита натрия с концентрацией 2,5—3,5 % (0,35—0,5 М). Оставьте раствор гипохлорита натрия на поверхностях на время не менее 1 минуты, а затем промойте их деионизированной водой. Не допускайте высыхания раствора гипохлорита натрия. Накройте лабораторный стол чистым гигроскопическим пластиковым покрытием.
2. Очистите отдельную рабочую поверхность, где будут подготовлены образцы. Используется методика, описанная выше (шаг A.1).
3. Очистите все пипетки. Используется методика, описанная выше (шаг A.1).

B. Калибратор и приготовление контролей

Нагрейте калибратор и контроли от 15 °C до 30 °C перед обработкой следующим образом:

1. Извлеките калибратор и контроли из хранилища (от −15 °C до −35 °C) и держите при температуре от 15 °C до 30 °C. На протяжении всего процесса размораживания аккуратно переворачивайте каждую пробирку для тщательного перемешивания. Перед использованием проверьте, полностью ли разморозилось содержимое пробирки.

   Вариант. Пробирки с калибратором и контролями можно поместить на встряхиватель для пробирок для тщательного перемешивания. Перед использованием проверьте, полностью ли разморозилось содержимое пробирки.

   Примечание. *Избегайте чрезмерного образования пены при переворачивании калибратора и контролей. Пена нарушает восприятие уровня системой Panther.*

2. Когда содержимое пробирки разморозится, высушите наружную поверхность пробирки чистой сухой одноразовой салфеткой.
3. Чтобы избежать контаминации, не открывайте пробирку в это время.

C. Разведение реактивов / подготовка нового набора

Примечание. *Разведение реагентов должно быть выполнено до начала любых работ в системе Panther.*

1. Для приготовления реагента захвата мишени (TCR) выполняют следующие действия:
   a. Извлеките TCR из хранилища (от 2 °C до 8 °C). Проверьте номер лота на флаконе TCR, чтобы убедиться, что он совпадает с номером лота на листе штрихкода основной серии.
   b. Немедленно энергично встряхните флакон TCR 10 раз. Оставьте флакон TCR при температуре от 15 °C до 30 °C, чтобы он нагревался не менее 45 минут. В течение этого периода вращайте и переворачивайте флакон TCR не реже одного раза в 10 минут.

      Вариант. Флакон TCR можно приготовить на встряхивателе для пробирок, следуя этим инструкциям: извлеките TCR из хранилища (от 2 °C до 8 °C) и немедленно энергично встряхните 10 раз. Поместите флакон TCR на встряхиватель для пробирок и оставьте при температуре от 15 °C до 30 °C, чтобы он нагревался не менее 45 минут.
   c. Проверьте, что весь осадок находится в растворе и магнитные частицы взвешены перед использованием.
2. Для разбавления реагентов амплификации и промотирования, и ферментных реагентов, выполните следующие действия:
   a. Получите лиофилизированные реагенты и соответствующие восстанавливающие растворы со склада (от 2 до 8 °C). Подберите для каждого восстанавливающего раствора соответствующий лиофилизированный реагент.
   b. Проследите за тем, чтобы восстанавливающий раствор и лиофилизированный реагент имели совпадающие цвета этикеток. Проверьте номера лотов на листе штрихкода основной серии, чтобы убедиться, что сопоставлены надлежащие реактивы.
      i. Откройте лиофилизированный флакон с реагентом, сняв металлическую крышку и резиновую пробку.
      ii. Плотно оденьте зазубренный конец манжеты для восстановления (черного цвета) на флакон с реагентом (Рис. 5, шаг 1).
      iii. Откройте соответствующий флакон с восстанавливающим раствором и установите крышку на чистую, покрытую рабочую поверхность.
      iv. Поместите флакон с восстанавливающим раствором на устойчивую поверхность (например, стол). Затем переверните флакон с лиофилизированным реагентом над флаконом с восстанавливающим раствором и плотно прикрепите манжету к флакону с восстанавливающим раствором (Рис. 5, шаг 2).
      v. Медленно переверните собранные флаконы (флакон с реагентом, прикрепленный к флакону с раствором), чтобы дать раствору стечь в стеклянный флакон (Рис. 5 шаг 3).
      vi. Переверните собранные флаконы несколько раз в течение не менее 10 секунд (Рис. 5 шаг 4).
      vii. Подождите не менее 30 минут, пока лиофилизированный реагент растворится.

viii. После растворения лиофилизированного реагента переворачивайте собранные флаконы не менее 10 секунд, а затем слегка покачивайте раствор в стеклянном флаконе вперед-назад для тщательного перемешивания.

c. Медленно наклоните собранные вместе флаконы снова, чтобы весь раствор стек обратно во флакон с восстанавливающим раствором (Рис. 5, шаг 5).

d. Осторожно удалите манжету для восстановления и стеклянный флакон (Рис. 5, шаг 6).

e. Закройте флакон. Запишите инициалы оператора и дату разведения на этикетке (Рис. 5 шаг 7).

f. Утилизируйте манжету для восстановления и стеклянный флакон (Рис. 5, шаг 8).

Предупреждение! *Избегайте образования чрезмерной пены при разбавлении реагентов. Пена нарушает восприятие уровня системой Panther.*

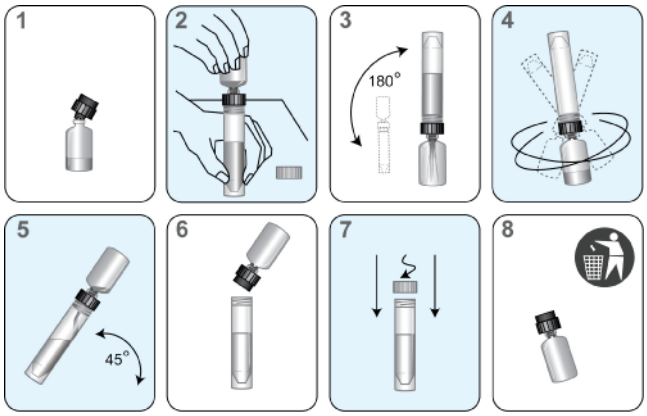


Рис. 5. Процесс разбавления реагентов

D. Приготовление реагентов для предварительно приготовленных реагентов

1. Извлеките предварительно приготовленные реагенты из хранилища (от 2 °C до 8 °C).
2. Предварительно подготовленные реагенты амплификации, ферментные реагенты, реагенты промотирования и TCR должны нагреться до температуры от 15 до 30 °C перед анализом.
3. Для предварительно подготовленного TCR выполните шаг C.1, описанный выше, до загрузки в систему.
4. Перемешивайте и переворачивайте реагенты для амплификации, промотирования и ферментные реагенты, чтобы тщательно перемешать их перед загрузкой в систему. Избегайте образования чрезмерной пены при переворачивании реагентов.

   Вариант: Приготовленные ранее реактивы можно приготовить на встряхивателе для пробирок, следуя этим инструкциям: Извлеките реактивы из хранилища (от 2°C до 8°C). Поместите реактивы на встряхиватель для пробирок и оставьте при температуре от 15°C до 30°C нагреваться не менее 30 минут.

5. Не доливайте реактивы во флаконы. Флаконы с долитыми реагентами будут опознаны и отклонены системой Panther.

E. Обработка образцов

1. Убедитесь, что обработанные образцы в первичных пробирках или неразбавленные образцы во вторичных пробирках хранились надлежащим образом в соответствии с *Отбор и хранение образцов*.

2. Убедитесь, что замороженные образцы окончательно разморозились. Перемешивайте размороженные образцы в течение 3 —5 секунд, чтобы тщательно перемешать.
3. Подождите, пока образцы нагреются до температуры 15—30 °C, прежде чем приступать к последующей обработке. См. более детальную информацию в *Образцы, оставленные в системе Panther*.
4. Убедитесь, что каждая пробирка первичного отбора содержит до 1 200 мкл образца или каждая пробирка SAT содержит не менее 700 мкл образца. См. таблицу, приведенную в *Отбор образцов*, чтобы определить требования к мертвому объему для каждого типа первичной и вторичной пробирки. Если необходимо разбавление образца, см. шаг E.5 ниже для получения дополнительной информации.
5. Разведите образец плазмы или сыворотки 1:3 в пробирке SAT или 1:100 во вторичной пробирке.

   Образец плазмы можно разводить во вторичных пробирках для тестирования в системе Panther.

⚠ *Не следует проводить диагностическую интерпретацию, если результатом анализа разбавленного образца сыворотки или плазмы является «Не обнаружено». Необходимо подготовить новый неразбавленный образец и выполнить анализ повторно.*

Примечание. *Если образец разбавлен, его следует тестировать сразу же после разбавления.*

a. Разбавление образцов малого объема

   Объем образцов может быть увеличен до минимально необходимого объема (700 мкл) с помощью разбавителя образцов Aptima. Образцы, содержащие не менее 240 мкл, могут быть разбавлены двумя частями разбавителя образцов (1 : 3) следующим образом:

   i. Поместите 240 мкл образца в пробирку SAT.

   ii. Добавьте 480 мкл разбавителя образцов Aptima.

   iii. Закройте пробирку.

   iv. Аккуратно переверните 5 раз для перемешивания.

   Образцы, разбавленные в соотношении 1 : 3, могут быть протестированы с использованием варианта 1 : 3 в системе Panther (дополнительную информацию см. в *Panther/Panther Fusion* System Operator's Manual (Руководстве оператора Panther/Panther Fusion System)). Программное обеспечение автоматически сообщит точный результат, применив коэффициент разбавления. Эти образцы будут помечены как разбавленные.

b. Разбавление образцов с высоким титром

   Если результат образца превышает верхний предел количественного определения (ULoQ), его можно разбавить 99 частями разбавителя образцов Aptima (1:100) следующим образом:

   i. Поместите 30 мкл образца в пробирку SAT или вторичную пробирку.

   ii. Добавьте 2 970 мкл разбавителя образцов Aptima.

   iii. Закройте пробирку.

   iv. Аккуратно переверните 5 раз для перемешивания.

   Образцы, разбавленные в соотношении 1 : 100, могут быть протестированы с использованием варианта 1 : 100 в системе Panther (дополнительную информацию см. в *Panther/Panther Fusion* System Operator's Manual (Руководстве оператора Panther/Panther Fusion System)). Программное обеспечение автоматически сообщит точный результат, применив коэффициент разбавления. Эти образцы будут помечены как разбавленные.

Примечание. *Для разбавленных образцов с концентрациями в чистом виде, превышающими ULoQ, результаты будут указываться с использованием научных обозначений.*

6. Непосредственно перед загрузкой образцов в штатив для проб центрифугируют каждый образец при 1000—3 000 *g* в течение 10 минут. Крышки не снимают. Пузырьки в пробирке нарушают восприятие уровня системой Panther.

   См. раздел *Подготовка системы*, шаг F.2 ниже, для получения информации о загрузке стойки и снятии крышек.

F. Подготовка системы

1. Настройте систему в соответствии с инструкциями в *руководстве оператора системы Panther/Panther Fusion* и *Заметки относительно методики.* Убедитесь, что используются штативы для реактивов соответствующего размера и адаптеры TCR.
2. Загрузите образцы в штатив для проб. Выполняют следующие шаги для каждой пробирки (образец и при необходимости калибратор и контроли):
   a. Ослабьте крышку пробирки, но пока не снимайте ее.

      Примечание. *Следует быть особенно осторожными, чтобы избежать загрязнения аэрозолями при раскрытии или распечатывании образцов. Аккуратно ослабьте крышки на образцах.*

   b. Загрузите пробирку с пробой в штатив для проб.
   c. Повторите шаги 2.a и 2.b для каждой оставшейся пробы.
   d. После загрузки проб в штатив для проб снимите и утилизируйте каждую крышку пробирок для проб. Чтобы не допустить загрязнения, не проносите крышку над другими штативами для проб или пробирками.
   e. При необходимости используйте новую одноразовую пипетку для переноса, чтобы удалить пузырьки или пену.
   f. Когда последняя крышка снята, загружают штатив для проб в отделение проб.

      Примечание. *Если одновременно проводятся другие анализы и используются другие типы образцов, защищают фиксатор образца до загрузки штатива для проб в отделение проб.*

   g. Повторите шаги с 2.a по 2.f для следующего штатива для проб.

Заметки относительно методики

A. Калибратор и контроли

1. Пробирки с положительным калибратором qHCV, слабым положительным контролем qHCV, сильным положительным контролем qHCV и отрицательным контролем qHCV можно загружать в любую позицию в штативе для проб и в любой полосе отделения проб в системе Panther. Образцы будут пипетированы в случае выполнения одного из следующих двух условий:
   a. Калибратор и контроли в данный момент обрабатываются системой.
   b. В системе зарегистрированы достоверные результаты для калибраторов и контролей.
2. После того как калибратор и контрольные пробирки будут пипетированы и обработаны с помощью набора реагентов анализа Aptima HCV Quant Dx, образцы могут быть испытаны с помощью соответствующего разбавленного набора в течение не более 24 часов, **за исключением следующих случаев**:
   a. Результат калибровки или результаты контролей недействительны.
   b. Связанный набор аналитических реагентов удален из системы.
   c. Превышен предел стабильности связанного набора аналитических реагентов.

3. Калибратор и каждую пробирку контролей можно использовать один раз. Попытки использовать пробирку более одного раза могут привести к ошибкам обработки.

B. Пудра для перчаток

Как и в любой системе реактивов, избыток пудры на некоторых перчатках может вызвать загрязнение открытых пробирок. Рекомендуется использовать неопудренные перчатки.

Контроль качества

Результат цикла или тестирования образца может быть признан оператором недействительным, если обнаружатся задокументированные технические, операторские или приборные проблемы во время проведения анализа. В этом случае образцы должны быть протестированы повторно.

Калибровка анализа

Для получения достоверных результатов необходимо выполнить калибровку анализа. Единый положительный калибратор запускается в трех экземплярах каждый раз, когда в систему Panther загружается набор реагентов. После установки калибровка действительна до 24 часов. Программное обеспечение в системе Panther предупреждает оператора, когда требуется калибровка. Оператор сканирует калибровочный коэффициент, найденный на листе штрихкода основной серии, поставляемом с каждым набором реагентов.

Во время обработки критерии приемлемости калибратора автоматически проверяются программным обеспечением в системе Panther. Если достоверны менее двух реплик калибратора, программа автоматически обозначает цикл недействительным. Образцы в недействительном цикле должны быть повторно протестированы с использованием свежеприготовленного калибратора и свежеприготовленных контролей.

Отрицательный и положительный контроли

Для получения достоверных результатов необходимо протестировать набор контролей анализа. Одна реплика отрицательного контроля, слабого положительного контроля и сильного положительного контроля должны тестироваться каждый раз, когда в систему Panther загружается набор реагентов. После установки контроли действительны до 24 часов. Программное обеспечение в системе Panther предупреждает оператора, когда требуются контроли.

Во время обработки критерии приемлемости контролей автоматически проверяются программным обеспечением в системе Panther. Чтобы получить достоверные результаты, отрицательный контроль должен давать результат «Не обнаружено», а положительный контроль должен давать результаты в рамках предварительно определенных параметров. (Слабый положительный контроль: 2,36 $\log_{10}$ МЕ/мл, сильный положительный контроль: 5,36 $\log_{10}$ МЕ/мл). Если какой-либо из контролей показывает недействительный результат, программа автоматически указывает, что цикл недействительный. Образцы в недействительном цикле должны быть повторно протестированы с использованием свежеприготовленного калибратора и свежеприготовленных контролей.

Внутренний калибратор / внутренний контроль

Каждый образец содержит внутренний калибратор / внутренний контроль (IC). Во время обработки критерии приемлемости внутреннего контроля автоматически проверяются программным обеспечением системы Panther. Если результат внутреннего контроля является недействительным, результат тестирования образца считается недействительным. Каждый образец с недействительным результатом внутреннего контроля должен быть повторно протестирован, чтобы получить достоверный результат.

Программное обеспечение системы Panther предназначено для точной верификации процессов, когда процедуры выполняются в соответствии с инструкциями, содержащимися в данном листке-вкладыше и в *руководстве оператора системы Panther/Panther Fusion*.

Интерпретация результатов

Система Panther автоматически определяет концентрацию РНК ВГС для образцов и контролей, сравнивая результаты с калибровочной кривой. Концентрации РНК ВГС указаны в МЕ/мл и $\log_{10}$ МЕ/мл. Интерпретация результатов приведена в Табл. 1. Если для разбавленных образцов используется разбавление 1 : 3 или 1 : 100, система Panther автоматически рассчитывает концентрацию ВГС для образца в чистом виде путем умножения разбавленной концентрации на коэффициент разбавления, и разбавленные образцы помечаются как разбавленные.

Примечание. *Для разбавленных образцов результаты, перечисленные как «Не обнаружено» или «Обнаружено < 10», могут быть получены путем разбавления образца концентрацией выше, но близко к LoD или LLoQ (предел детекции или нижний предел количественного определения). Рекомендуется отобрать и протестировать другую чистую пробу, если количественный результат не получен.*

Система Panther не дает качественного результата (т. е. «есть реакция» или «нет реакции») для диагностического использования. Оператор должен интерпретировать сообщенную концентрацию РНК ВГС, чтобы получить качественный результат (Табл. 1). Образцы с результатами, указанными как «Не обнаружены», не реагируют на РНК ВГС. Образцы с результатами, указанными как «Обнаружено < 10», с результатами, перечисленными в линейном диапазоне, и > 100 000 000 (верхний предел количественного определения) указывают на то, что РНК ВГС была обнаружена и эти образцы реагируют на РНК ВГС.

Табл. 1. Интерпретация результатов

Полученные результаты применения анализа Aptima HCV Quant Dx		Интерпретация концентрации РНК ВГС	Диагностическая качественная интерпретация пользователя[a]
МЕ/мл	$\log_{10}$ Значение[b]		
Не обнаружено	Не обнаружено	РНК ВГС не обнаружена.	Нет реакции с РНК ВГС
Обнаружено < 10	< 1,00	РНК ВГС обнаружена, но на уровне ниже LLoQ	Есть реакция с РНК ВГС
От 10 до 100 000 000	От 1,00 до 8,00	Концентрация РНК ВГС находится в линейном диапазоне от 10 до 100 000 000 МЕ/мл.	Есть реакция с РНК ВГС
> 100 000 000	> 8,00	Концентрация РНК ВГС выше ULoQ	Есть реакция с РНК ВГС
Недействительный[c]	Недействительный[c]	Произошла ошибка при генерации результата. Образец должен быть исследован повторно.	Недействительный

[a] Диагностическая интерпретация может быть сделана из образцов сыворотки или плазмы, которые не были разбавлены.
[b] Значение округляется до двух десятичных знаков.
[c] Недействительные результаты отображаются синим цветом.

Критерии приемлемости для каждого из контролей анализа Aptima HCV Quant Dx изложены ниже в Табл. 2.

Примечание. *Изменения в диапазоне восстановления, как указано ниже, основаны на присвоенном значении каждого конкретного лота. См. присвоенную концентрацию, указанную на вкладыше со штрихкодом контроля в каждой коробке контроля.*

Табл. 2. Критерии приемлемости диапазона восстановления для контролей тест-системы Aptima HCV Quant Dx

Компонент	Диапазон восстановления для валидных циклов
Отрицательный контроль	Н/П
Слабый положительный контроль	±0,5 $\log_{10}$ IU/mL
Сильный положительный контроль	±0,5 $\log_{10}$ IU/mL

Ограничения

A. Использование этого анализа ограничено персоналом, который обучен этой методике. Невыполнение инструкций, приведенных в данном листке-вкладыше, может привести к ошибочным результатам.

B. Надежность результата зависит от правильности отбора, транспортировки, хранения и обработки образцов.

C. Несмотря на редкость, мутации в высоко консервативных участках вирусного генома, охватываемых праймерами и/или зондами в анализе Aptima HCV Quant Dx, могут привести к невозможности детекции вируса.

Аналитическая производительность

Предел детекции (LoD) с использованием 2-го международного стандарта ВОЗ

Предел детекции (LoD) анализа определяется как концентрация РНК ВГС, которая определяется с вероятностью 95 % или более в соответствии с CLSI EP17-A2.[18]

LoD определяли путем тестирования панелей 2-го Международного стандарта ВОЗ на РНК вируса гепатита С (NIBSC 96/798 генотип 1), разбавленного в ВГС-отрицательной ЭДТА-плазме и сыворотке человека. Минимум 36 реплик каждого разбавления тестировали с каждым из трех лотов реагентов для получения как минимум 108 реплик на разбавление. Пробит-анализ был выполнен, чтобы сформировать предсказанные пределы детекции. Значения LoD являются результатами лота реагентов с самым высоким прогнозируемым пределом детекции. 95 % LoD для анализа Aptima HCV Quant Dx с использованием 2-го международного стандарта ВОЗ составляет 4,3 МЕ/мл для плазмы и 3,9 МЕ/мл для сыворотки.

Предел детекции по генотипам ВГС

LoD определяли путем тестирования разбавлений ВГС-положительных клинических образцов для генотипов 1, 2, 3, 4, 5 и 6 в ВГС-отрицательной плазме и сыворотке человека. Концентрации определяли с помощью одобренной аналитической методики. Минимум 20 реплик каждого члена панели тестировали с каждым из трех лотов реагентов для получения как минимум 60 реплик на члена панели. Пробит-анализ был выполнен, чтобы сформировать 95%-ные прогнозированные пределы детекции. Значения LoD, показанные в Табл. 3, являются результатами лота реагентов с самым высоким прогнозируемым пределом детекции.

Табл. 3. Предел детекции по генотипам ВГС с использованием клинических образцов

Генотип	Прогнозируемый предел детекции	Концентрация (МЕ/мл)	
		Плазма	Сыворотка
1	95 %	4,0	5,2
2	95 %	2,8	4,0
3	95 %	4,3	3,4
4	95 %	4,8	2,3
5	95 %	2,1	3,3
6	95 %	4,1	3,9

Линейный диапазон

Линейный диапазон был установлен путем тестирования панелей армированной РНК (aRNA — аРНК) ВГС 1a, разбавленной в ВГС-отрицательной плазме и сыворотке крови человека в соответствии с CLSI EP06-A.[19] Панели варьировали в концентрации от 1,0 $\log_{10}$ МЕ/мл до 8,2 $\log_{10}$ МЕ/мл. Анализ Aptima HCV Quant Dx продемонстрировал линейность по всему тестируемому диапазону с верхним пределом количественного определения (ULoQ) 8,0 $\log_{10}$ МЕ/мл, как показано на Рис. 6.

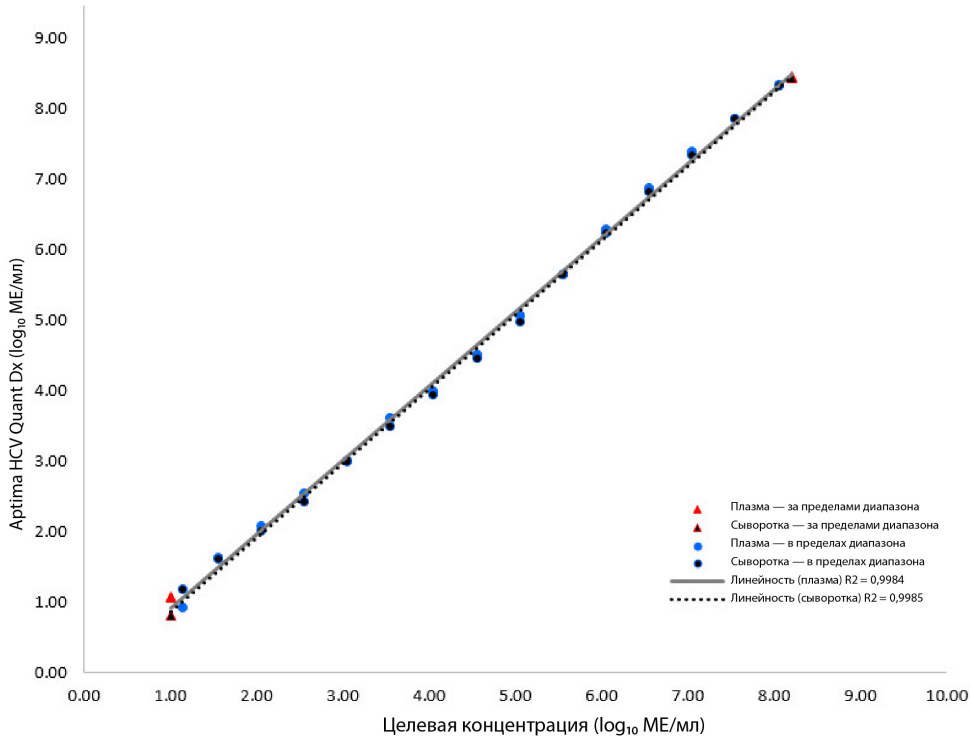


Рис. 6. Линейность в плазме и сыворотке

Линейность по генотипам ВГС

Линейность и линейный диапазон генотипов ВГС от 1 (1a для плазмы и 1b для сыворотки) до 6 устанавливались путем тестирования разбавленных отдельных клинических положительных образцов, по одному для каждого генотипа ВГС в нижнем диапазоне анализа в сочетании с аРНК (ВГС 1a) в верхнем диапазоне анализа (свыше 100 000 МЕ/мл). Разбавления в отрицательной плазме и сыворотке крови человека тестировали на все генотипы. Линейность была продемонстрирована в отношении всех шести генотипов в пределах исследуемого диапазона, как показано на Рис. 7 для плазмы и на Рис. 8 для сыворотки.

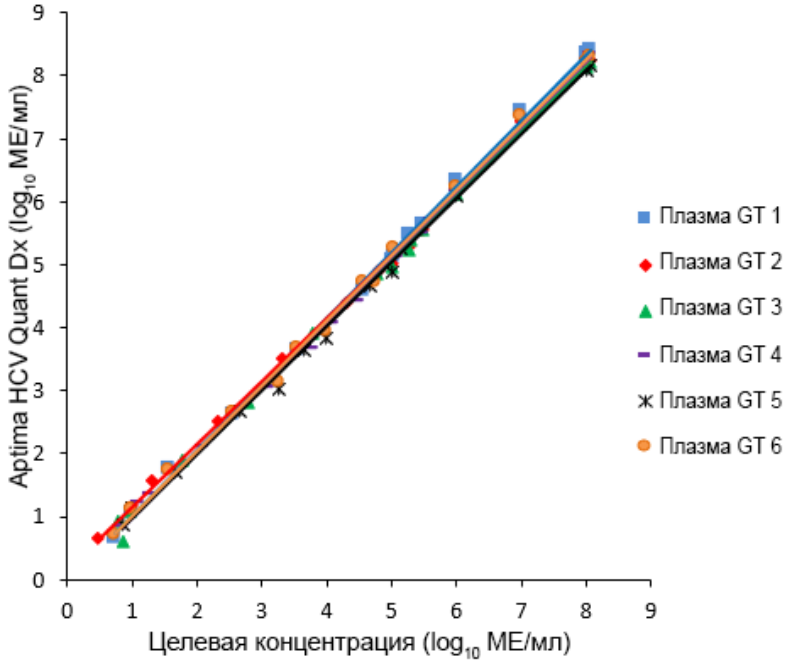


Рис. 7. Линейный диапазон и линейность (плазма)

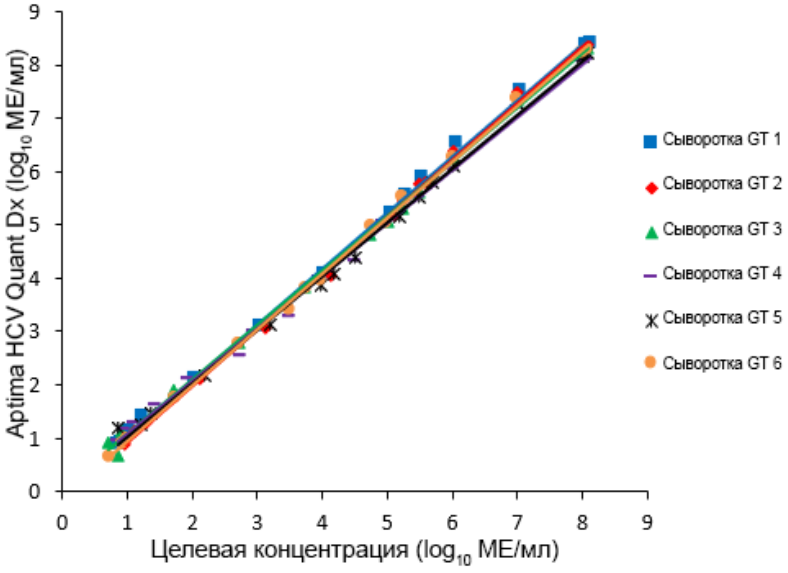


Рис. 8. Линейный диапазон и линейность (сыворотка)

Нижний предел количественного определения с использованием 2-го международного стандарта ВОЗ

Согласно CLSI EP17-A2, нижним пределом количественного определения (LLoQ) считают минимальную концентрацию, при которой РНК ВГС надежным образом количественно определяется в пределах общей ошибки[18]. Общая ошибка оценивалась двумя методами: Общая аналитическая ошибка (ОАО) = |смещение| + 2СО и общая ошибка (ОО) = SQRT (2) × 2СО. Для обеспечения точности и прецизионности измерений общая ошибка анализа Aptima HCV Quant Dx была установлена на уровне 1 $\log_{10}$ МЕ/мл (т. е. при LLoQ разница между двумя измерениями более 1 $\log_{10}$ МЕ/мл является статистически значимой).

LLoQ определяли путем тестирования панелей 2-го международного стандарта ВОЗ для РНК вируса гепатита С (NIBSC 96/798, генотип 1), разбавленного в ВГС-отрицательной плазме и сыворотке человека. 36 (тридцать шесть) реплик каждого разбавления тестировали с каждым из трех лотов реактивов для получения как минимум 108 реплик на разбавление. Результаты лота реагентов с наивысшей концентрацией, равной или превышающей LoD, и отвечающей требованиям ОО и ОАО, показаны на Табл. 4 для плазмы и Табл. 5 для сыворотки. LLoQ для 2-го международного стандарта ВОЗ составляет 7 МЕ/мл (0,82 $\log_{10}$ МЕ/мл) для плазмы и 9 МЕ/мл (0,93 $\log_{10}$ МЕ/мл) для сыворотки, как представлено в Табл. 6. LLoQ был установлен для всех генотипов (см. *Определение нижнего предела количественного определения (LLoQ) по генотипам ВГС*). Эти данные генотипа определяют общий LLoQ для анализа как 10 МЕ/мл.

Табл. 4. LLoQ с использованием второго международного стандарта ВОЗ для ВГС, разбавленного в плазме

Лот реактивов	Aptima HCV Quant Dx (МЕ/мл)	Aptima HCV Quant Dx ($\log_{10}$ МЕ/мл)	СО ($\log_{10}$ МЕ/мл)	Смещение ($\log_{10}$ МЕ/мл)	Расчетное значение TE ($\log_{10}$ МЕ/мл)	Расчетное значение TAE ($\log_{10}$ МЕ/мл)
1	3	0,53	0,30	0,05	0,85	0,65
	5	0,73	0,31	−0,04	0,88	0,67
	12	1,08	0,23	0,18	0,65	0,64
2	2	0,37	0,32	−0,11	0,92	0,75
	7	0,82	0,27	0,04	0,78	0,59
	9	0,96	0,26	0,06	0,74	0,58
3	3	0,46	0,25	−0,01	0,71	0,52
	6	0,76	0,34	−0,02	0,95	0,69
	8	0,89	0,26	−0,01	0,73	0,53

СО = стандартное отклонение

Табл. 5. LLoQ с использованием 2-го международного стандарта ВОЗ для ВГС, разбавленного в сыворотке

Лот реактивов	Aptima HCV Quant Dx (МЕ/мл)	Aptima HCV Quant Dx ($\log_{10}$ МЕ/мл)	СО ($\log_{10}$ МЕ/мл)	Смещение ($\log_{10}$ МЕ/мл)	Расчетное значение TE ($\log_{10}$ МЕ/мл)	Расчетное значение TAE ($\log_{10}$ МЕ/мл)
1	4	0,65	0,33	0,17	0,94	0,84
	8	0,93	0,32	0,15	0,90	0,79
	12	1,08	0,28	0,18	0,80	0,74
2	3	0,52	0,36	0,04	1,02	0,76
	8	0,89	0,32	0,11	0,90	0,75
	10	1,01	0,21	0,11	0,60	0,53
3	3	0,47	0,39	−0,01	1,11	0,79
	5	0,71	0,30	−0,06	0,86	0,67
	9	0,95	0,29	0,05	0,83	0,63

СО = стандартное отклонение

Табл. 6. Краткое изложение LLoQ с использованием второго международного стандарта ВОЗ для ВГС

Лот реактивов	LLoQ в плазме		LLoQ в сыворотке	
	МЕ/мл	log_{10} МЕ/мл	МЕ/мл	log_{10} МЕ/мл
1	5	0,73	8	0,93
2	7	0,82	8	0,89
3	6	0,76	5	0,71

Определение нижнего предела количественного определения (LLoQ) по генотипам ВГС

LLoQ определяли путем тестирования разбавлений ВГС-положительных клинических образцов для генотипов 1, 2, 3, 4, 5 и 6 в ВГС-отрицательной плазме и сыворотке человека. Назначение концентрации для клинических образцов определяли с использованием сравнительного анализа. 36 (тридцать шесть) реплик каждого члена панели тестировали с каждым из трех лотов реактивов для получения как минимум 108 реплик на члена панели. Результаты лота реактивов с наивысшей концентрацией, равной или превышающей LoD и отвечающей требованиям ОО и ОАО, рассчитанным в соответствии с требованиями CLSI EP 17-A2[18], представлены в Табл. 7 для плазмы и в Табл. 8 для сыворотки. В Табл. 7 и Табл. 8 ниже приводится только по одному результату, который превышает LLoQ и не достигает LLoQ для каждого генотипа, так как именно эти результаты в наибольшей степени отражают ожидаемый LLoQ. LLoQ для генотипов 1—6 в плазме и сыворотке суммированы в Табл. 9. Генотип 6 имел наиболее высокий LLoQ в сыворотке крови — 10 МЕ/мл. Эти данные определяют общий LLoQ для анализа как 10 МЕ/мл.

Табл. 7. Определение LLoQ по генотипам в плазме

Генотип	Aptima HCV Quant Dx[a] (МЕ/мл)	Aptima HCV Quant Dx[a] (log_{10} МЕ/мл)	СО (log_{10} МЕ/мл)	Смещение (log_{10} МЕ/мл)	Расчетная ОО (log_{10} МЕ/мл)	Расчетная ОАО (log_{10} МЕ/мл)
1	4	0,65	0,38	0,17	1,08	0,94
	8	0,88	0,35	0,11	1,00	0,82
	10	0,99	0,24	0,09	0,68	0,56
2	4	0,63	0,40	0,16	1,13	0,95
	6	0,76	0,29	0,15	0,81	0,73
	13	1,12	0,30	0,34	0,86	0,94
3	3	0,52	0,30	−0,26	0,85	0,86
	6	0,80	0,21	−0,20	0,59	0,62
	8	0,89	0,26	−0,19	0,74	0,71
4	4	0,61	0,39	−0,29	1,11	1,07
	7	0,82	0,31	−0,18	0,87	0,80
	10	1,01	0,29	−0,07	0,83	0,65
5	4	0,57	0,37	0,10	1,06	0,85
	7	0,87	0,31	0,09	0,89	0,72
	14	1,15	0,16	0,15	0,44	0,46
6	5	0,66	0,36	0,36	1,02	1,08
	6	0,79	0,28	0,31	0,80	0,87
	14	1,14	0,26	0,36	0,74	0,89

СО = стандартное отклонение

[a] Были запущены дополнительные уровни, но эти данные не указаны в таблице.

Табл. 8. Определение LLoQ по генотипам в сыворотке

Генотип	Aptima HCV Quant Dx[a] (МЕ/мл)	Aptima HCV Quant Dx[a] (log_{10} МЕ/мл)	CO (log_{10} МЕ/мл)	Смещение (log_{10} МЕ/мл)	Расчетная ОО (log_{10} МЕ/мл)	Расчетная ОАО (log_{10} МЕ/мл)
1	6	0,75	0,36	−0,03	1,02	0,75
	8	0,88	0,32	−0,02	0,89	0,65
	11	1,04	0,29	0,04	0,81	0,61
2	3	0,48	0,35	0,00	0,99	0,70
	6	0,80	0,31	0,02	0,86	0,63
	11	1,04	0,25	0,04	0,72	0,54
3	3	0,45	0,25	−0,33	0,72	0,84
	5	0,67	0,22	−0,33	0,63	0,78
	8	0,92	0,19	−0,16	0,54	0,54
4	2	0,19	0,27	0,19	0,77	0,73
	4	0,65	0,32	0,35	0,91	0,99
	4	0,65	0,34	0,17	0,96	0,85
5	3	0,48	0,37	0,02	1,04	0,76
	5	0,72	0,29	−0,04	0,81	0,61
	11	1,04	0,27	0,10	0,77	0,65
6	4	0,58	0,37	0,11	1,04	0,84
	10	0,99	0,22	0,21	0,61	0,64
	18	1,25	0,22	0,25	0,63	0,70

CO = стандартное отклонение

[a] Были запущены дополнительные уровни, но эти данные не указаны в таблице.

Табл. 9. Краткое изложение LLoQ по генотипам в плазме и сыворотке

Генотип ВГС	LLoQ в плазме		LLoQ в сыворотке	
	МЕ/мл	log_{10} МЕ/мл	МЕ/мл	log_{10} МЕ/мл
1	8	0,88	8	0,88
2	6	0,76	6	0,80
3	6	0,80	5	0,67
4	7	0,82	4	0,65
5	7	0,87	5	0,72
6	6	0,79	10	0,99

Прослеживаемость до международного стандарта ВОЗ

Ряд вторичных стандартов с известными концентрациями использовался во время разработки и производства продукта, чтобы обеспечить прослеживаемость до стандарта ВОЗ. Концентрации, проверенные для стандарта ВОЗ ВГС, составляли от 4,00 до 2,30 $\log_{10}$ МЕ/мл, вторичные стандарты варьировались в диапазоне концентраций от 1,50 до 8,46 $\log_{10}$ МЕ/мл. Контроли и калибраторы анализа Aptima HCV Quant Dx также были протестированы вместе со вторичными стандартами и стандартом ВОЗ. Все панели имели схожие результаты, и они были линейно распределены по линейному диапазону анализа, как показано на Рис. 9.

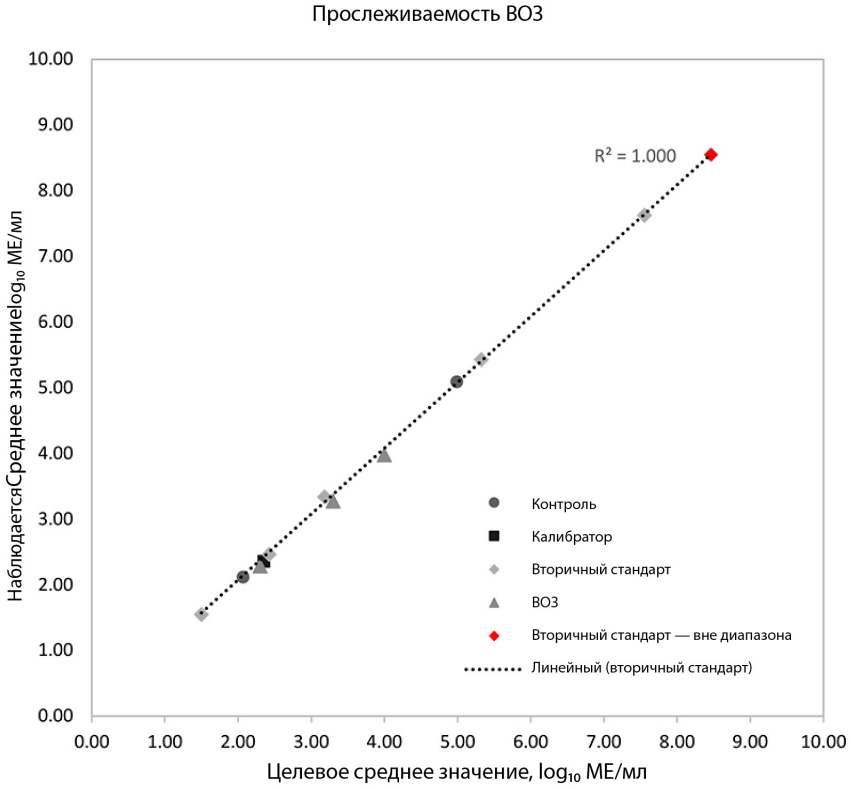


Рис. 9. Прослеживаемость между 2-й стандартной целевой концентрацией ВГС ВОЗ и наблюдаемой концентрацией по результатам количественного анализа Aptima HCV Quant Dx

Прецизионность

Прецизионная панель Aptima HCV Quant Dx была создана путем разбавления ВГС-положительной клинической плазмы и аРНК ВГС 1a в ВГС-отрицательной клинической плазме (два наиболее высоких показателя панели были аРНК). Семь положительных членов панели охватывали диапазон анализа (от 1,86 log_{10} МЕ/мл до 7,68 log_{10} МЕ/мл) и тестировались в трех репликах за цикл одним оператором с использованием одного опытного лота реактивов на одной системе Panther в течение 21 дня тестирования, по два цикла в день.

В Табл. 10 показана прецизионность результатов анализа (в log_{10} МЕ/мл) между циклами, внутри циклов и в целом. Общая вариабельность составила ≤ 0,14 среди всех членов панели, в основном из-за вариабельности внутри цикла (то есть, случайная ошибка).

Табл. 10. Прецизионность анализа Aptima HCV Quant Dx

N	Средняя концентрация (МЕ/мл)	Средняя концентрация (log_{10} МЕ/мл)	Между сутками СО	Между циклами СО	Внутри цикла СО	Всего СО
126	72	1,86	0,02	0,06	0,12	0,14
126	182	2,26	0,00	0,07	0,07	0,10
126	617	2,79	0,00	0,06	0,08	0,10
126	1 950	3,29	0,00	0,07	0,05	0,08
126	8 128	3,91	0,00	0,06	0,07	0,10
126	616 595	5,79	0,03	0,04	0,06	0,08
125[a]	47 863 009	7,68	0,05	0,05	0,06	0,09

СО = стандартное отклонение

[a] Число достоверных результатов в линейном диапазоне анализа.

Примечание. Вариабельность в связи с некоторыми факторами может быть численно отрицательной, что может иметь место, если вариабельность из-за этих факторов очень мала. Когда это происходит, СО отображается как 0,00.

Потенциальные интерференты

Была оценена восприимчивость анализа Aptima HCV Quant Dx к интерференции повышенных уровней эндогенных веществ или лекарственных средств, обычно назначаемых людям, инфицированным ВГС. Были протестированы ВГС-отрицательные образцы плазмы и образцы, содержащие ВГС в концентрациях приблизительно 15 МЕ/мл (1,2 log_{10} МЕ/мл) и 1 995 МЕ/мл (3,3 log_{10} МЕ/мл) РНК ВГС.

Никакого постороннего влияния на результаты анализа не наблюдалось в присутствии альбумина (90 мг/мл), гемоглобина (5 мг/мл), триглицеридов (30 мг/мл) или неконъюгированного билирубина (0,2 мг/мл).

Клинические образцы плазмы от пациентов с повышенными уровнями определенных веществ или от пациентов с заболеваниями, десять образцов для каждого вещества, перечисленными в Табл. 11, были протестированы с помощью анализа Aptima HCV Quant Dx. Не наблюдалось мешающих влияний в процессе анализа.

Табл. 11. Типы протестированных клинических образцов

	Типы клинических образцов
1	Ревматоидный фактор (РФ)
2	Антиядерное антитело (АНА)
3	Антитело к антигену Jo-1 (JO-1)
4	Системная красная волчанка (СКВ)
5	Ревматоидный артрит (РА)
6	Рассеянный склероз (РС)
7	Гиперглобулинемия
8	Повышенный уровень аланинаминотрансферазы (АЛТ)
9	Повышенный уровень аспартатаминотрансферазы (АСТ)
10	Алкогольный цирроз (АЦ)
11	Множественная миелома (ММ)
12	Липемический (повышенный уровень липидов)
13	Иктерический (повышенный уровень билирубина)
14	Гемолизированный (повышенный уровень гемоглобина)
15	Повышенный уровень белка альбумина
16	Антитела к ВГВ
17	Антитела к ВИЧ-1
18	Антитела к ВИЧ-2

При проведении анализа в присутствии экзогенных веществ, перечисленных в Табл. 12, в концентрациях, по крайней мере, в три раза превышающих C_{max} (плазма крови человека), мешающего влияния не наблюдалось.

Табл. 12. Экзогенные вещества

Пул экзогенных веществ	Испытанные экзогенные вещества
1	Телапревир, кларитромицин, интерферон альфа-2a, долутегравир, азитромицин
2	Симепревир, софосбувир
3	Эфавиренц, боцепревир, пегилированный интерферон альфа-2b, эмтрицитабин, ралтегравир, амоксициллин
4	Абакавир сульфат, рибавирин, дасабувир, рилпивирин, рифампин/рифампицин
5	Лопинавир, тенофовир, ламивудин, валганцикловир
6	Гепарин, ЭДТА, натрий цитрат

Характеристики при использовании ВГС-отрицательных образцов

Специфичность определяли с использованием 198 свежих и 538 замороженных клинических образцов с отрицательным результатом на ВГС. 370 образцов плазмы и 366 образцов сыворотки крови были подтверждены как ВГС-отрицательные с использованием одобренной аналитической методики. Специфичность рассчитывали как процент ВГС-отрицательных образцов с результатами «Не обнаружено». РНК ВГС не была обнаружена во всех 736 образцах. Специфичность составила 100 % (736/736, 95 % ДИ: 99,6—100 %).

Табл. 13. Характеристики ВГС-отрицательных клинических образцов плазмы и сыворотки крови

	Свежая плазма	**Замороженная плазма**	**Плазма Всего**	**Свежая Сыворотка**	**Замороженная сыворотка**	**Сыворотка Всего**	**Смешанная**
Достоверные реплики (n)	100	270	370	98	268	366	736
Не обнаружено	100	270	370	98	268	366	736
Специфичность (95 % ДИ)	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)

ДИ = доверительный интервал

Аналитическая специфичность

Потенциальную перекрестную реактивность к патогенам, перечисленным в Табл. 14 оценивали в ВГС-отрицательной плазме крови человека в присутствии или в отсутствие приблизительно 15 МЕ/мл (1,2 $\log_{10}$ МЕ/мл) или 1 995 МЕ/мл (3,3 $\log_{10}$ МЕ/мл) ВГС. Перекрестная реактивность не наблюдалась. В присутствии патогенных микроорганизмов интерференция не наблюдалась.

Табл. 14. Патогенные микроорганизмы, проверенные на аналитическую специфичность

Патогенный микроорганизм	Концентрация	
Вирус гепатита A	100 000	копий/мл
Вирус гепатита B (ВГВ)	100 000	МЕ/мл[a]
Вирус гепатита G	1 470	геном/мл
ВИЧ-1	100 000	копий/мл
ВИЧ-2	100 000	БОЕ/мл[b]
Вирус простого герпеса типа 1 (ВПГ-1)	100 000	БОЕ/мл
Вирус простого герпеса типа 2 (ВПГ-2)	100 000	БОЕ/мл
Вирус герпеса человека типа 6B	100 000	копий/мл
Вирус герпеса человека типа 8	2 667	TCID50 Ед/мл[c]
Т-лимфотропный вирус человека первого типа (HTLV-1)	100 000	вирусных частиц/мл[d]
Т-лимфотропный вирус человека второго типа (HTLV-2)	100 000	вирусных частиц/мл
Парвовирус B19	100 000	МЕ/мл
Вирус Западного Нила	100 000	БОЕ/мл
Вирус денге 1-го типа	100 000	БОЕ/мл
Вирус денге 2-го типа	100 000	БОЕ/мл
Вирус денге 3-го типа	100 000	БОЕ/мл
Вирус денге 4-го типа	100 000	БОЕ/мл
Цитомегаловирус	100 000	БОЕ/мл
Вирус Эпштейна — Барр	100 000	копий/мл
Вирус краснухи	100 000	БОЕ/мл
Папилломавирус человека	100 000	клеток/мл
Аденовирус типа 5	100 000	TCID50 Ед/мл
Вирус гриппа A	100 000	TCID50 Ед/мл
Вирус японского энцефалита	Н/Д	Н/Д
Вирус сент-луисского энцефалита	Н/Д	Н/Д
Вирус энцефалита долины Мюррея	2 643	LD50/мл[e]
Вирус желтой лихорадки	100 000	клеток/мл

Патогенный микроорганизм	Концентрация	
Corynebacterium diphtheriae	1 000 000	КОЕ/мл[f]
Streptococcus pneumoniae	1 000 000	КОЕ/мл
Staphylococcus aureus	1 000 000	КОЕ/мл
Propionibacterium acnes	1 000 000	КОЕ/мл
Staphylococcus epidermidis	1 000 000	КОЕ/мл
Candida albicans	1 000 000	КОЕ/мл
Neisseria gonorrhoeae	1 000 000	КОЕ/мл
Chlamydia trachomatis	1 000 000	ВОЕ/мл[g]
Trichomonas vaginalis	1 000 000	клеток/мл

[a] МЕ/мл = международные единицы на мл

[b] БОЕ/мл = бляшкообразующие единицы на мл

[c] TCID50 Ед/мл = единицы инфицирующей дозы для культур клеток на мл

[d] вирусные частицы/мл = вирусные частицы на мл

[e] LD50/мл = смертельная доза на мл

[f] КОЕ/мл = колониеобразующие единицы на мл

[g] ВОЕ/мл = включениеобразующие единицы на мл

Клинические образцы, содержащие вирусы, отличные от ВГС

Патогенные микроорганизмы, перечисленные в Табл. 15, были оценены путем получения отдельных естественно инфицированных клинических образцов. Их тестировали в присутствии или в отсутствие приблизительно 15 МЕ/мл (1,2 $\log_{10}$ МЕ/мл) или 1 995 МЕ/мл (3,3 $\log_{10}$ МЕ/мл) вируса ВГС. Перекрестная реактивность не наблюдалась. Интерференция не наблюдалась.

Табл. 15. Клинические образцы, протестированные на аналитическую специфичность

Микроорганизм	Матрица	N (доноры)
ВГВ	Сыворотка	5
ВГВ	Плазма	5
Вирус денге	Плазма	10
Вирус гепатита А	Плазма	10
HTLV-1	Плазма	10
HTLV-2	Плазма	10
ВИЧ-1	Плазма	10
Вирус Западного Нила	Плазма	10

Матрица эквивалентности

Сто семьдесят шесть наборов образцов соответствующих пробирок для сбора крови (пробирки для сыворотки, SST, PPT, ACD, K2 EDTA, K3 EDTA) оценивали на матрицу эквивалентности. Из их числа 68 наборов были естественным образом инфицированы и ВГС-положительными, а 108 — ВГС-отрицательными. Двадцать шесть из 68 положительных образцов дополнительно разводили 13 отрицательными образцами из соответствующих пробирок для сбора крови в концентрациях 1 : 10, 1 : 100 и 1 : 1 000 или 1 : 100, 1 : 10 000 и 1 : 100 000, при этом концентрации находились в динамическом диапазоне анализа (146 положительных реплик на пробирку для сбора). Корреляцию измеряли с использованием пробирки для сбора сыворотки в качестве препарата сравнения.

Табл. 16. Исследование матрицы эквивалентности

Пробирка для сбора крови	Регрессия Деминга	95 % ДИ наклона		95 % ДИ перехвата		R^2	Среднее расхождение ($\log_{10}$)
		Нижний предел	Верхний предел	Нижний предел	Верхний предел		
SST	y = 1,00x − 0,01	0,99	1,01	−0,05	0,07	0,998	0,00
K2 ЭДТА	y = 1,01x − 0,03	0,99	1,02	−0,12	−0,07	0,995	0,00
K3 ЭДТА	y = 1,00x − 0,01	0,98	1,01	−0,10	0,07	0,996	−0,02
ACD	y = 1,00x − 0,14	0,99	1,01	−0,20	−0,08	0,997	−0,13
PPT	y = 1,00x − 0,01	0,98	1,01	−0,10	0,08	0,996	−0,01

Разбавление образца с помощью разбавителя образцов Aptima (1 : 3)

Для оценки точности детекции РНК ВГС в образцах плазмы или сыворотки крови, разбавленных разбавителем образцов Aptima, образцы от 1,67 log_{10} МЕ/мл до 6,34 log_{10} МЕ/мл были разбавлены разбавителем образцов Aptima в соотношении 1 : 3 (например, 240 мкл образца с 480 мкл разбавителя образцов Aptima). Каждый образец тестировался в чистом виде и разводился (в соотношении 1 : 3) в трех экземплярах. Тестирование проводилось с использованием одного лота аналитических реагентов на одной системе Panther с двумя лотами разбавителя образцов Aptima. Разница между результатами анализа в чистом и разбавленном виде рассчитывалась для каждого набора образцов, как показано в Табл. 17 для плазмы и в Табл. 18 для сыворотки.

Табл. 17. Образец плазмы 1 : 3. Резюме сравнения матриц разбавления log_{10} МЕ/мл

Матрица плазмы Средняя зарегистрированная концентрация (log_{10} МЕ/мл) n = 3	Разбавитель Средняя зарегистрированная концентрация (log_{10} МЕ/мл) n = 6	Разница Разбавитель из матрицы плазмы (log_{10} МЕ/мл)
1,74[a]	1,57[b]	−0,18
4,56	4,36	−0,20
5,62	5,46	−0,17
3,69	3,56	−0,13
2,65	2,60	−0,05
4,18	4,09	−0,09
3,25	3,28	0,03
4,12	4,06	−0,07
3,54	3,48	−0,06
6,20	5,91	−0,30

[a] Результат двух реплик. Один из результатов — «Обнаружено», но количественно не определено.
[b] Результат четырех реплик. Два результата — «Обнаружено», но количественно не определено.

Табл. 18. Образец сыворотки 1 : 3. Резюме сравнения матриц разбавления log_{10} МЕ/мл

Матрица сыворотки Средняя зарегистрированная концентрация (log_{10} МЕ/мл) n = 3	Разбавитель Средняя зарегистрированная концентрация (log_{10} МЕ/мл) n = 6	Разница Разбавитель из матрицы сыворотки (log_{10} МЕ/мл)
1,50[a]	1,80	0,30
5,32	5,14	−0,18
3,65	3,59	−0,06
4,91	4,71	−0,20
3,66	3,72	0,06
3,81	3,74	−0,07
2,42	2,60	0,18
2,65	2,88	0,23
4,90	4,70	−0,21
6,17	6,00	−0,17

[a] Результат двух реплик. Один из результатов — «Обнаружено», но количественно не определено.

Разбавление образца с помощью разбавителя образцов Aptima (1 : 100)

Для оценки точности детекции РНК ВГС в образцах плазмы или сыворотки крови, разбавленных разбавителем образцов Aptima, пять естественным образом инфицированных образцов плазмы и пять естественным образом инфицированных образцов сыворотки, а также по десять образцов ВГС-отрицательной плазмы и сыворотки с добавлением аРНК ВГС для превышения ULoQ, 8 log_{10} МЕ/мл при 8,30 log_{10} МЕ/мл, тестировались в трех экземплярах. Разбавление в соотношении 1 : 100 выполняли с одной частью образца и 99 частями разбавителя образцов Aptima непосредственно перед тестированием. Тестирование проводилось с использованием одного лота аналитических реагентов на одной системе Panther с двумя лотами разбавителя образцов Aptima. Разница между результатами анализа в чистом и разбавленном виде рассчитывалась для каждого набора образцов, как показано в Табл. 19 для плазмы и в Табл. 20 для сыворотки.

Табл. 19. Образец плазмы 1 : 100. Резюме сравнения матриц разбавления log_{10} МЕ/мл

Матрица	Разбавление	Матрица плазмы Средняя зарегистрированная концентрация (log_{10} МЕ/мл) n = 3	Разбавитель Средняя зарегистрированная концентрация (log_{10} МЕ/мл) n = 6	Разница
Плазма	1 : 100	8,03[a]	7,95	−0,08
		8,07[a]	7,93	−0,15
		8,14[a]	7,97	−0,17
		8,16[a]	7,94	−0,22
		8,09[a]	7,96	−0,13
		8,38[a]	7,97	−0,42
		7,98[a]	7,89	−0,09
		8,08[a]	7,89	−0,19
		8,14[a]	7,92	−0,22
		8,08[a]	7,97	−0,11
		6,41	6,22	−0,19
		6,73	6,58	−0,15
		6,88	6,75	−0,14
		6,54	6,51	−0,03
		6,55	6,29	−0,27

[a] Образец с добавкой

Табл. 20. Образец сыворотки 1 : 100. Резюме сравнения матриц разбавления log_{10} МЕ/мл

Матрица	Разбавление	Матрица сыворотки Средняя зарегистрированная концентрация (log_{10} МЕ/мл) n = 3	Разбавитель Средняя зарегистрированная концентрация (log_{10} МЕ/мл) n = 6	Разница
Сыворотка	1 : 100	8,04[a]	7,94	−0,09
		8,07[a]	7,91	−0,16
		7,99[a]	7,91	−0,08
		8,03[a]	7,92	−0,11
		7,99[a]	7,89	−0,09
		8,05[a]	7,85	−0,20
		8,16[a]	7,93	−0,23
		8,16[a]	7,90	−0,26
		8,06[a]	7,89	−0,17
		8,26[a]	7,92	−0,34
		7,34	7,09	−0,25
		7,07	6,83	−0,24
		7,18	6,80	−0,38
		7,35[b]	7,12	−0,23
		7,07	6,68	−0,39

[a] Образец с добавкой

[b] Результат двух из трех протестированных реплик. Одно выпадающее значение реплики удалено.

Подтверждение LLoQ в клинических образцах, разбавленных в разбавителе образцов

LLoQ анализа Aptima HCV Quant был подтвержден клиническими образцами ВГС генотипа 1, разбавленными в разбавителе образцов Aptima. Образцы готовили из ВГС-отрицательной плазмы и сыворотки крови человека в концентрациях 21, 30 и 45 МЕ/мл. Каждую панель разводили в соотношении 1 : 3 в разбавителе образцов Aptima непосредственно перед тестированием, чтобы получить конечные концентрации примерно 7, 10 и 15 МЕ/мл. 36 (тридцать шесть) реплик каждого члена панели с одним лотом реагентов было протестировано в течение трех дней. LLoQ ≤ 10 МЕ/мл для плазмы и сыворотки ВГС, разбавленных в разбавителе образцов Aptima, было подтверждено, как показано в Табл. 21.

Табл. 21. Подтверждение LLoQ — образцы, разбавленные в разбавителе образцов Aptima

Матрица	Целевая концентрация (МЕ/мл)	Целевая концентрация (log_{10} МЕ/мл)	% Обнаружено	Aptima HCV Quant Dx (МЕ/мл)	Aptima HCV Quant Dx (log_{10} МЕ/мл)	СО (log_{10} МЕ/мл)	Смещение (log_{10} МЕ/мл)	Расчетная ОО (log_{10} МЕ/мл)	Расчетная ОАО (log_{10} МЕ/мл)
Плазма	7	0,85	100 %	9	0,94	0,25	0,10	0,71	0,60
Сыворотка	7	0,85	100 %	9	0,96	0,21	0,12	0,60	0,54

Прецизионность разбавленных образцов

Прецизионная панель Aptima HCV Quant Dx была создана путем разбавления ВГС-положительной клинической плазмы и аРНК ВГС в ВГС-отрицательной клинической плазме. Затем они были разбавлены в разбавителе образцов Aptima. Положительные панели разбавляли в разбавителе образцов Aptima. Они были протестированы в трех репликах за цикл одним оператором с использованием одного опытного лота реактивов на одной системе Panther в течение 21 дня испытаний по два цикла в день.

В Табл. 22 показана прецизионность результатов анализа (в $\log_{10}$ МЕ/мл) между циклами, внутри циклов, между днями и в целом. Общая вариабельность составила ≤ 0,15 среди всех членов панели, в основном из-за вариабельности внутри цикла (то есть, случайная ошибка).

Табл. 22. Прецизионность панелей, разбавленных в разбавителе образцов Aptima

Разбавление	N	Средняя концентрация ($\log_{10}$ МЕ/мл)	Стандартное отклонение			
			Между сутками	Между циклами	Внутри цикла	Всего
1 : 3	126	2,24	0,00	0,05	0,13	0,14
1 : 100	126	3,86	0,06	0,05	0,12	0,15
1 : 100	126	7,31	0,03	0,10	0,05	0,12

[a] Число достоверных результатов в линейном диапазоне анализа

Примечание. *Вариабельность в связи с некоторыми факторами может быть численно отрицательной, что может иметь место, если вариабельность из-за этих факторов очень мала. Когда это происходит, СО и КВ отображаются как 0.*

Перенос

Чтобы установить, минимизирует ли система Panther риск ложноположительных результатов, связанных с загрязнением при переносе, было проведено исследование с использованием усиленных панелей в трех системах Panther. Перенос оценивали с помощью усиленных образцов аРНК ВГС высокого титра (7 $\log_{10}$ МЕ/мл), распределенных между отрицательными образцами ВГС в шахматном порядке. Тестирование проводилось в течение пятнадцати циклов. Общий коэффициент переноса составил 0,14 % (1/704)

Сероконверсионная панель

Были протестированы одиннадцать наборов сероконверсионных панелей ВГС, всего 72 образца. Результаты применения анализа Aptima HCV Quant Dx сравнивали с результатами теста на антитела к ВГС. Число дней до первого реактивного результата указано в Табл. 23. Анализ Aptima HCV Quant Dx обнаруживала ВГС в среднем на 20 дней раньше, чем тесты на антитела.

Табл. 23. Сводка данных сероконверсионной панели

ID панели	Количество протести-рованных членов панели	Количество реактивных членов панели			Количество дней до первого реактивного результата			Разница в днях до первого реактивного результата (на основе даты кровотечения)	
		Aptima HCV Quant Dx	Тест № 1 на антитела к ВГС	Тест № 2 на антитела к ВГС	Aptima HCV Quant Dx	Тест № 1 на антитела к ВГС	Тест № 2 на антитела к ВГС	Число дней до проведения Теста № 1 на антитела к ВГС	Число дней до проведения Теста № 2 на антитела к ВГС
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
Всего	72	66	35	32			Среднее значение	19,36	20,73
							Медиана	14	18

Тест № 1 на антитела к ВГС был завершен с помощью анализа Abbott Prism HCV

Тест № 2 на антитела к ВГС был завершен с помощью анализа Ortho Enhanced SAVE со следующими исключениями:

Панели 6227 и 6229, которые были протестированы с помощью анализа Ortho ELISA Anti-HCV 3.0

[a] Первый образец крови не был протестирован из-за отсутствия образца от поставщика.

[b] Все образцы крови в этой панели не были реактивными в отношении антитела к ВГС. Последний день взятия образца крови использовался как «Число дней до первого реактивного результата».

[c] Второй образец крови не был протестирован из-за отсутствия образца от поставщика

Исследование воспроизводимости

Воспроизводимость оценивалась на системе Panther в трех внешних центрах в США. Два оператора проводили тестирование в каждом центре. Каждый оператор выполнял два цикла в день в течение трех дней, используя 3 лота реактивов в ходе тестирования. При каждом цикле было по 3 реплики каждого члена панели. Всего было протестировано 108 реплик каждого члена панели.

Воспроизводимость была протестирована с использованием членов панели, приготовленной с использованием ВГС-отрицательной плазмы. Положительные члены панели показали положительный результат на ВГС генотипа 1, генотипа 2 или генотипа 3. Концентрация РНК ВГС находилась в линейном диапазоне анализа.

В Табл. 24 представлены воспроизводимость и прецизионность результатов анализа по каждому положительному члену панели между площадками, между операторами, между лотами, между сутками, между циклами, внутри циклов и в целом, а также пропорция реплик с результатами, выходящими за пределы регистрируемого диапазона анализа Aptima HCV Quant Dx.

Коэффициент вариации рассчитывался с использованием следующего уравнения, где σ^2 — дисперсия выборки данных после преобразования $\log_{10}$.

$$\%CV = 100 \times \sqrt{(10^{\sigma_2^{\ln(10)}} - 1)}$$

Что касается ВГС-отрицательного члена панели, то было протестировано 108 реплик, при этом во всех 108 репликах РНК ВГС не обнаруживалась (совпадение отрицательных результатов = 100 %, 95 % ДИ: 96,6—100 %). Для всех ВГС-положительных членов группы согласованность составила 100 %.

Табл. 24. Воспроизводимость уровней РНК ВГС при анализе Aptima HCV Quant Dx на системе Panther у положительных членов панели

ГТ	N	Наблюдаемое среднее МЕ/мл	Наблюдаемое среднее Log_{10} МЕ/мл	Между лабораториями СО (%КВ)	Между партиями СО (%КВ)	Между операторами/днями[a] СО (%КВ)	Между запусками СО (%КВ)	Внутри запусков СО (%КВ)	Всего СО (%КВ)	Ниже LLoQ n (%)	Свыше ULoQ n (%)
1	108	10,6	1,0	0,070 (16,22)	0,048 (10,98)	0,000 (0,00)	0,040 (9,20)	0,258 (64,93)	0,274 (69,94)	59 (54,6)	0 (0,0)
	107	19,5	1,3	0,034 (7,77)	0,035 (7,97)	0,009 (2,10)	0,064 (14,91)	0,169 (40,31)	0,187 (45,12)	9 (8,4)	0 (0,0)
	108	43,6	1,6	0,000 (0,00)	0,070 (16,11)	0,000 (0,00)	0,061 (14,13)	0,155 (36,82)	0,180 (43,39)	0 (0,0)	0 (0,0)
	108	602,7	2,8	0,042 (9,58)	0,035 (8,02)	0,022 (5,05)	0,023 (5,30)	0,075 (17,40)	0,098 (22,81)	0 (0,0)	0 (0,0)
	108	22710,9	4,3	0,075 (17,42)	0,045 (10,49)	0,044 (10,08)	0,058 (13,46)	0,071 (16,57)	0,135 (31,74)	0 (0,0)	0 (0,0)
	108	4195539,0	6,6	0,007 (1,65)	0,026 (6,08)	0,045 (10,43)	0,000 (0,00)	0,131 (30,97)	0,142 (33,50)	0 (0,0)	0 (0,0)
	108	58549271,2	7,8	0,010 (2,26)	0,000 (0,00)	0,022 (5,10)	0,035 (8,08)	0,105 (24,42)	0,113 (26,43)	0 (0,0)	1 (0,9)
2	108	11,3	1,0	0,062 (14,29)	0,075 (17,28)	0,112 (26,28)	0,000 (0,00)	0,290 (75,02)	0,326 (86,94)	53 (49,1)	0 (0,0)
	108	13,9	1,1	0,000 (0,00)	0,125 (29,36)	0,128 (30,18)	0,068 (15,83)	0,211 (51,69)	0,285 (73,45)	46 (42,6)	0 (0,0)
	108	62,6	1,8	0,000 (0,00)	0,044 (10,18)	0,101 (23,48)	0,069 (16,00)	0,124 (29,25)	0,180 (43,24)	0 (0,0)	0 (0,0)
	108	351,0	2,5	0,022 (5,18)	0,062 (14,38)	0,004 (1,01)	0,045 (10,31)	0,081 (18,70)	0,113 (26,56)	0 (0,0)	0 (0,0)
	108	14519,2	4,1	0,000 (0,00)	0,051 (11,78)	0,048 (11,01)	0,011 (2,42)	0,092 (21,50)	0,116 (27,25)	0 (0,0)	0 (0,0)
	108	5810012,3	6,8	0,000 (0,00)	0,017 (4,00)	0,041 (9,54)	0,015 (3,53)	0,104 (24,25)	0,114 (26,73)	0 (0,0)	0 (0,0)
	108	77499195,7	7,9	0,000 (0,00)	0,018 (4,24)	0,028 (6,56)	0,000 (0,00)	0,077 (17,77)	0,084 (19,46)	0 (0,0)	10 (9,3)

ГТ	N	Наблюдаемое среднее МЕ/мл	Наблюдаемое среднее Log_{10} МЕ/мл	Между лабораториями СО (%КВ)	Между партиями СО (%КВ)	Между операторами/днями[a] СО (%КВ)	Между запусками СО (%КВ)	Внутри запусков СО (%КВ)	Всего СО (%КВ)	Ниже LLoQ n (%)	Свыше ULoQ n (%)
3	107	8,6	0,9	0,049 (11,32)	0,103 (24,05)	0,056 (12,95)	0,000 (0,00)	0,225 (55,47)	0,258 (65,16)	71 (66,4)	0 (0,0)
	108	14,3	1,1	0,157 (37,31)	0,000 (0,00)	0,090 (21,04)	0,000 (0,00)	0,178 (42,88)	0,254 (63,90)	36 (33,3)	0 (0,0)
	107	49,9	1,7	0,119 (27,96)	0,065 (15,08)	0,047 (10,80)	0,034 (7,81)	0,109 (25,42)	0,183 (44,15)	0 (0,0)	0 (0,0)
	108	218,3	2,2	0,324 (86,23)	0,043 (10,01)	0,139 (32,83)	0,063 (14,64)	0,082 (19,09)	0,370 (103,21)	0 (0,0)	0 (0,0)
	107	8541,1	3,9	0,248 (61,97)	0,056 (12,90)	0,151 (35,77)	0,048 (10,99)	0,078 (18,19)	0,309 (81,20)	0 (0,0)	0 (0,0)
	107	4128761,4	6,6	0,044 (10,17)	0,000 (0,00)	0,000 (0,00)	0,042 (9,61)	0,126 (29,65)	0,140 (33,06)	0 (0,0)	0 (0,0)
	108	63813728,0	7,8	0,012 (2,84)	0,000 (0,00)	0,000 (0,00)	0,059 (13,76)	0,092 (21,32)	0,110 (25,71)	0 (0,0)	3 (2,8)

%КВ = логарифмически нормальный коэффициент вариации, ГТ = генотип, СО = стандартное отклонение (log_{10} МЕ/мл)
Примечание. Вариабельность от некоторых факторов может быть численно отрицательной. Это может произойти, если вариабельность из-за этих факторов очень мала. В этих случаях СО и КВ отображаются как 0.
[a] «Между операторами» можно спутать с «Между днями»; поэтому оценки категории «Между операторами» и «Между днями» объединяются в категорию «Между операторами/днями».

Клинические характеристики

Корреляция методов

Эффективность анализа Aptima HCV Quant Dx оценивали по сравнению с CE-маркированным сравнительным анализом путем тестирования неразбавленных клинических образцов плазмы от ВГС-инфицированных пациентов в трех системах Panther System с четырьмя лотами реагентов. Всего 1 058 образцов плазмы и сыворотки (872 плазмы, 186 сыворотки) по всем генотипам ВГС в линейном диапазоне, общем для обоих анализов, были использованы для линейной регрессии, как показано на Рис. 10.

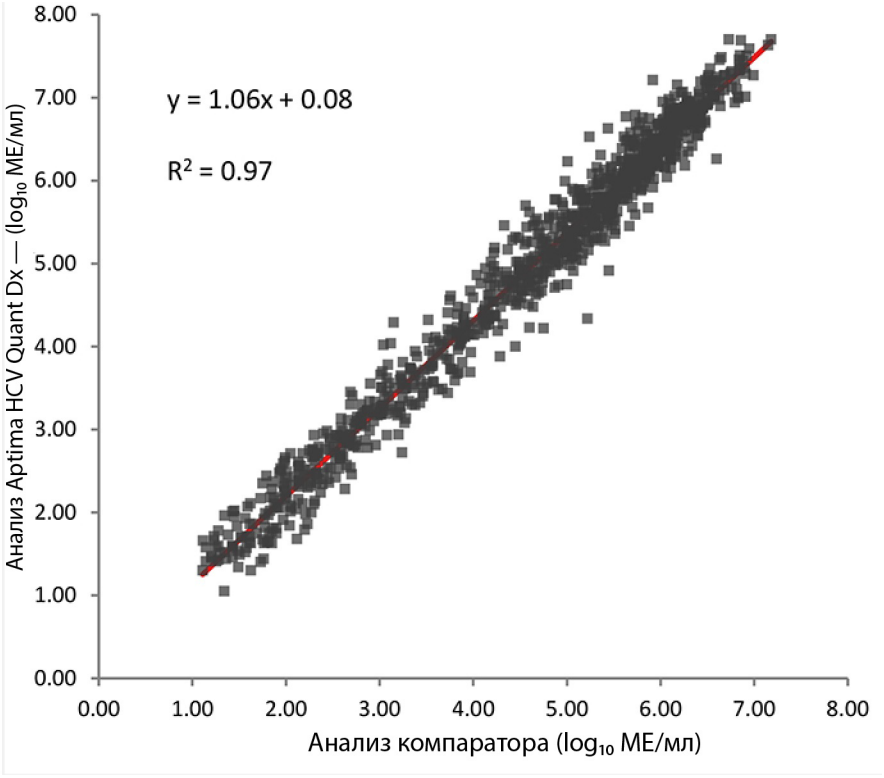


Рис. 10. Корреляция между анализом Aptima HCV Quant Dx и анализом сравнения

Конечные точки клинической полезности

Исследование было призвано продемонстрировать клиническую полезность путем оценки характеристик достижения устойчивого вирусологического ответа (SVR) или неустойчивого вирусологического ответа (NSVR) в установленных клинически значимых временных точках в течение 8-, 12- или 24-недельного курса противовирусной терапии. В рамках исследования также оценивали роль ковариаций (возраст, пол, расовая принадлежность, уровень РНК ВГС до лечения, наличие или отсутствие цирроза печени) на ответ SVR.

Сбор образцов производился перспективно у лиц с хронической инфекцией ВГС генотипа 1, 2 и 3, которые начали проходить 8-, 12- или 24-недельный курс лечения софосбувиром с использованием препаратов, разрешенных к применению в США и назначенных в соответствии с маркировкой, отвечающей требованиям FDA и/или рекомендациям AASLD/IDSA по лечению ВГС[20, 21]. В исследование включались лица, не получавшие лечение от ВГС, получавшие лечение от ВГС, а также лица без цирроза или с компенсированным циррозом, в зависимости от схемы лечения.

Определение вирусной нагрузки РНК ВГС проводили до лечения, на 1-й неделе, 2-й неделе, 4-й неделе, 8-й неделе, 12-й неделе и 24-й неделе с помощью анализа Aptima HCV Quant Dx. Результаты последующего наблюдения, полученные по окончании лечения (EOT — ОЛ), а также через 4 и 12 недель после лечения, определяли с помощью анализа Aptima HCV Quant Dx и двух утвержденных количественных анализов на РНК вируса гепатита С. SVR определяли как уровень РНК ВГС < LLoQ, полученный с использованием утвержденного количественного анализа через 12 недель после окончания лечения.

Из 352 пациентов, включенных в исследование в 35 клинических центрах в США, 274 испытуемых имели однозначный статус SVR и могли быть включены в анализ. 56 испытуемых имели не поддающийся оценке статус SVR и не были включены в анализ. Еще 22 испытуемых имели однозначный статус SVR, но не были включены в анализ по причине отсутствия результатов до лечения/на этапе включения, всех результатов лечения < LLoQ или «Не обнаружено», или же невозможности установить генотип с помощью утвержденного анализа. В ходе данного исследования 90,5 % (248/274) испытуемых достигли SVR и 9,5 % (26/274) — NSVR (см. данные по генотипам и DRA в Табл. 31—Табл. 33). Наибольшая вирусная нагрузка до начала лечения, определенная с помощью анализа Aptima HCV Quant Dx, составила 7,58 $\log_{10}$ МЕ/мл. Все учитываемые испытуемые завершили терапию, при этом ни одного случая неэффективности лечения (например, отсутствия реакции) не наблюдалось. Всего в трех центрах тестирования в США протестировали 2 449 образцов, забор которых производился у каждого испытуемого в разные временные точки.

В Табл. 25 представлены демографические данные и клинические характеристики 274 учитываемых испытуемых.

Табл. 25. Демографические данные и клинические характеристики

Характеристики		
Всего	N	274
Пол	Женский, n (%)	112 (40,9)
	Мужской, n (%)	162 (59,1)
Возраст (лет)	n	274
	Среднее значение	55,1
	Медиана	56,0
	СО	10,40
	Минимальное значение	23
	Максимальное значение	83
	21—49, n (%)	61 (22,3)
	50—70, n (%)	203 (74,1)
	> 70, n (%)	10 (3,6)
Этническая принадлежность	n	274
	Испанская или латиноамериканская, n (%)	65 (23,7)
	Не испанская и не латиноамериканская, n (%)	202 (73,7)
	Неизвестно, n (%)	6 (2,2)
	Отказались сообщить, n (%)	1 (0,4)
Раса[a]	n	274
	Белая, n (%)	223 (81,4)
	Черная или афроамериканская, n (%)	43 (15,7)
	Азиатская, n (%)	1 (0,4)
	Американские индейцы/аборигены Аляски, n (%)	3 (1,1)
	Аборигены Гавайев/тихоокеанских островов, n (%)	0 (0,0)
	Другая, n (%)	3 (1,1)
	Неизвестно, n (%)	1 (0,4)
	Отказались сообщить, n (%)	0 (0,0)
Генотип	n	274
	Генотип 1, n (%)	158 (57,7)
	Генотип 2, n (%)	66 (24,1)
	Генотип 3, n (%)	50 (18,2)
Статус лечения ВГС	n	274
	Не получали лечения, n (%)	232 (84,7)
	Получали лечение, n (%)	42 (15,3)
	Перенесли рецидив, n (%)	32 (76,2)
	Не дали ответа на терапию, n (%)	1 (2,4)
	Не дали объективного ответа, n (%)	2 (4,8)
	Дали частичный ответ на терапию, n (%)	3 (7,1)
	Перенесли рецидив на фоне лечения, n (%)	1 (2,4)
	Произошло возобновление симптомов после отмены лечения, n (%)	0 (0,0)
	Ответ на лечение неизвестен, n (%)	3 (7,1)
	Отсутствует, n (%)	0 (0,0)
Статус цирроза	n	274
	Цирроз есть, n (%)	98 (35,8)
	Цирроза нет, n (%)	176 (64,2)

[a] Испытуемые могли заявлять несколько рас

В Табл. 26 представлены итоговые схемы медикаментозного лечения для 274 оцениваемых испытуемых.

Табл. 26. Резюме назначения итоговых схем медикаментозного лечения испытуемых в зависимости от генотипа

Назначение схемы медикаментозного лечения	Генотип ВГС n (%)		
	1	2	3
Софосбувир и пегинтерферон и рибавирин в течение 12 недель	25 (15,8)	-	3 (6,0)
Софосбувир и симепревир и/или рибавирин в течение 12 недель	63 (39,9)	-	-
Софосбувир и симепревир и/или рибавирин в течение 24 недель	4 (2,5)	-	-
Софосбувир и рибавирин в течение 12 недель	-	66 (100)	-
Софосбувир и рибавирин в течение 24 недель	6 (3,8)	-	47 (94,0)
Ледипасвир и софосбувир в течение 8 недель	14 (8,9)	-	-
Ледипасвир и софосбувир в течение 12 недель	39 (24,7)	-	-
Ледипасвир и софосбувир в течение 24 недель	7 (4,4)	-	-
Всего испытуемых, соответствующих критериям участия	158	66	50

В Табл. 27 оценивается связь исходных ковариаций (возраст, раса, пол, вирусная нагрузка до лечения [бинарная переменная] и статус цирроза) и SVR с применением отношения шансов (OR) с помощью одномерного (нескорректированного) логистического регрессионного анализа. Результаты 274 учитываемых испытуемых оценивались в зависимости от генотипа ВГС. Для генотипов 1 и 2 вероятность достижения SVR у пациентов с циррозом была ниже, чем у пациентов без цирроза (OR = 0,16 [95 % ДИ Вальда: 0,04—0,63], P = 0,009 и OR = 0,13 [95 % ДИ Вальда: 0,02—0,70], P = 0,017 соответственно). Значения 95 % ДИ для других ковариаций генотипов 1 и 2, а также всех ковариаций генотипа 3 включали значение 1 и не являлись статистически значимыми.

Табл. 27. Оценка исходных предикторов SVR до лечения

ГТ	Категория	N	Группа	N(%)	Процент Достижение SVR	Отношение шансов (ДИ Вальда 95 %) С использованием одномерного ЛР анализа	Р-величина
1	Возраст	158	≥ 40 лет	146 (92,4)	91,8	0 [0 — ∞)	Не вычисляемый
			< 40 лет	12 (7,6)	100		
	Пол	158	Мужской	92 (58,2)	90,2	0,44 (0,11—1,69)	0,231
			Женский	66 (41,8)	95,5		
	Раса	158	Белая	116 (73,4)	94,0	2,10 (0,63—7,03)	0,227
			Не белая	42 (26,6)	88,1		
	Вирусная нагрузка РНК ВГС до лечения[a]	156	> 740 000 МЕ/мл	111 (71,2)	92,8	1,26 (0,36—4,40)	0,721
			≤ 740 000 МЕ/мл	45 (28,8)	91,1		
	Статус цирроза	158	Цирроз есть	57 (36,1)	84,2	0,16 (0,04—0,63)	0,009
			Цирроза нет	101 (63,9)	97,0		
2	Возраст	66	≥ 40 лет	60 (90,9)	88,3	1,51 (0,15—14,91)	0,722
			< 40 лет	6 (9,1)	83,3		
	Пол	66	Мужской	36 (54,5)	86,1	0,69 (0,15—3,15)	0,631
			Женский	30 (45,5)	90,0		
	Раса	66	Белая	61 (92,4)	86,9	0 [0 — ∞)	Не вычисляемый
			Не белая	5 (7,6)	100		
	Вирусная нагрузка РНК ВГС до лечения	66	> 740 000 МЕ/мл	44 (66,7)	84,1	0,25 (0,03—2,19)	0,211
			≤ 740 000 МЕ/мл	22 (33,3)	95,5		
	Статус цирроза	66	Цирроз есть	22 (33,3)	72,7	0,13 (0,02—0,70)	0,017
			Цирроза нет	44 (66,7)	95,5		
3	Возраст	50	≥ 40 лет	44 (88,0)	86,4	0 [0 — ∞)	NC
			< 40 лет	6 (12,0)	100		
	Пол	50	Мужской	34 (68,0)	85,3	0,39 (0,04—3,62)	0,405
			Женский	16 (32,0)	93,8		
	Раса	50	Белая	46 (92,0)	87,0	0 [0 — ∞)	Не вычисляемый
			Не белая	4 (8,0)	100		
	Вирусная нагрузка РНК ВГС до лечения[a]	49	> 740 000 МЕ/мл	30 (61,2)	83,3	0,28 (0,03—2,59)	0,261
			≤ 740 000 МЕ/мл	19 (38,8)	94,7		
	Статус цирроза	50	Цирроз есть	19 (38,0)	78,9	0,26 (0,04—1,58)	0,143
			Цирроза нет	31 (62,0)	93,5		

ДИ = доверительный интервал, ГТ = генотип, ЛР = логистическая регрессия

[a] К ковариации вирусной нагрузки РНК ВГС до лечения не относятся испытуемые, у которых до начала терапии не была установлена количественная вирусная нагрузка РНК ВГС.

Ответ на противовирусную терапию

Характеристики анализа были установлены для лиц, проходивших лечение с использованием определенных схем приема АППД. Информация о прогностической ценности анализа при использовании других комбинаций АППД отсутствует.

Определения:

Вирусная нагрузка (VL — ВН) на 1-й неделе = РНК ВГС < LLoQ = 10 МЕ/мл на 1-й неделе противовирусной терапии

ВЛ на 2-й неделе = РНК ВГС < LLoQ = 10 МЕ/мл на 2-й неделе противовирусной терапии

ВЛ на 4-й неделе = РНК ВГС < LLoQ = 10 МЕ/мл на 4-й неделе противовирусной терапии

ВЛ на 8-й неделе = РНК ВГС < LLoQ = 10 МЕ/мл на 8-й неделе противовирусной терапии

ВЛ на 8-й неделе (EOT — окончание лечения, ОЛ) РНК ВГС < LLoQ на 8-й неделе противовирусной терапии

ВЛ на 12-й неделе = РНК ВГС < LLoQ = 10 МЕ/мл на 12-й неделе противовирусной терапии

ВЛ на 12-й неделе (EOT — окончание лечения, ОЛ) РНК ВГС < LLoQ на 12-й неделе противовирусной терапии

ВЛ на 24-й неделе (EOT — окончание лечения, ОЛ) РНК ВГС < LLoQ на 24-й неделе противовирусной терапии

Устойчивый вирусологический ответ (SVR)12: РНК ВГС < LLoQ на 12-й неделе после завершения противовирусной терапии, определенная с помощью независимого анализа РНК ВГС.

В Табл. 28 и Табл. 29 представлены данные о частоте ответа и отсутствия ответа на SVR соответственно в зависимости от генотипа и схемы медикаментозного лечения в целом, а также для испытуемых с циррозом, без цирроза, не получавших и получавших лечение ранее. Большинство испытуемых достигло SVR по генотипам: 92,4 % — генотип 1, 87,9 % — генотип 2 и 88,0 % — генотип 3. В зависимости от генотипа показатели SVR в целом были выше у испытуемых без цирроза, чем у испытуемых с циррозом, и мало различались у испытуемых, как получавших, так и не получавших лечение.

Табл. 28. Частота ответа SVR в зависимости от генотипа и схемы медикаментозного лечения

ГТ	DRA	Испытуемые с ответной реакцией SVR n (%)				
		Всего	**Цирроз есть**	**Цирроза нет**	**Не получали лечения**	**Получали лечение**
1	Ледипасвир и софосбувир в течение 8 недель	13/14 (92,9)	Н/П	13/14 (92,9)	13/14 (92,9)	Н/П
	Ледипасвир и софосбувир в течение 12 недель	39/39 (100)	9/9 (100)	30/30 (100)	34/34 (100)	5/5 (100)
	Ледипасвир и софосбувир в течение 24 недель	6/7 (85,7)	6/7 (85,7)	Н/П	Н/П	6/7 (85,7)
	Софосбувир и пегинтерферон и рибавирин в течение 12 недель	24/25 (96,0)	7/7 (100)	17/18 (94,4)	22/23 (95,7)	2/2 (100)
	Софосбувир и рибавирин в течение 24 недель	6/6 (100)	1/1 (100)	5/5 (100)	5/5 (100)	1/1 (100)
	Софосбувир и симепревир и/или рибавирин в течение 12 недель	54/63 (85,7)	21/29 (72,4)	33/34 (97,1)	45/54 (83,3)	9/9 (100)
	Софосбувир и симепревир и/или рибавирин в течение 24 недель	4/4 (100)	4/4 (100)	Н/П	2/2 (100)	2/2 (100)
2	Софосбувир и рибавирин в течение 12 недель	58/66 (87,9)	16/22 (72,7)	42/44 (95,5)	53/60 (88,3)	5/6 (83,3)
3	Софосбувир и пегинтерферон и рибавирин в течение 12 недель	3/3 (100)	3/3 (100)	Н/П	1/1 (100)	2/2 (100)
	Софосбувир и рибавирин в течение 24 недель	41/47 (87,2)	12/16 (75,0)	29/31 (93,5)	35/39 (89,7)	6/8 (75,0)

DRA = назначение схемы медикаментозного лечения, ГТ = генотип, Н/П = схема медикаментозного лечения не применима для данной группы пациентов

Табл. 29. Частота отсутствия ответа SVR в зависимости от генотипа и схемы медикаментозного лечения

ГТ	DRA	Испытуемые без ответной реакции SVR n (%)				
		Всего	**Цирроз есть**	**Цирроза нет**	**Не получали лечения**	**Получали лечение**
1	Ледипасвир и софосбувир в течение 8 недель	1/14 (7,1)	Н/П	1/14 (7,1)	1/14 (7,1)	Н/П
	Ледипасвир и софосбувир в течение 12 недель	0/39 (0,0)	0/9 (0,0)	0/30 (0,0)	0/34 (0,0)	0/5 (0,0)
	Ледипасвир и софосбувир в течение 24 недель	1/7 (14,3)	1/7 (14,3)	Н/П	Н/П	1/7 (14,3)
	Софосбувир и пегинтерферон и рибавирин в течение 12 недель	1/25 (4,0)	0/7 (0,0)	1/18 (5,6)	1/23 (4,3)	0/2 (0,0)
	Софосбувир и рибавирин в течение 24 недель	0/6 (0,0)	0/1 (0,0)	0/5 (0,0)	0/5 (0,0)	0/1 (0,0)
	Софосбувир и симепревир и/или рибавирин в течение 12 недель	9/63 (14,3)	8/29 (27,6)	1/34 (2,9)	9/54 (16,7)	0/9 (0,0)
	Софосбувир и симепревир и/или рибавирин в течение 24 недель	0/4 (0,0)	0/4 (0,0)	Н/П	0/2 (0,0)	0/2 (0,0)
2	Софосбувир и рибавирин в течение 12 недель	8/66 (12,1)	6/22 (27,3)	2/44 (4,5)	7/60 (11,7)	1/6 (16,7)
3	Софосбувир и пегинтерферон и рибавирин в течение 12 недель	0/3 (0,0)	0/3 (0,0)	Н/П	0/1 (0,0)	0/2 (0,0)
	Софосбувир и рибавирин в течение 24 недель	6/47 (12,8)	4/16 (25,0)	2/31 (6,5)	4/39 (10,3)	2/8 (25,0)

DRA = назначение схемы медикаментозного лечения, ГТ = генотип, Н/П = схема медикаментозного лечения не применима для данной группы пациентов

В Табл. 30 представлен процент испытуемых с вирусологическим ответом (определенным как результат анализа Aptima HCV Quant Dx < LLoQ) для каждого генотипа и схемы медикаментозного лечения на каждой неделе терапии и после ее окончания. Большинство испытуемых достигло SVR к 4-й неделе лечения по всем генотипам, а к 8-й неделе SVR достигли все испытуемые.

Табл. 30. Вероятность достижения SVR по неделям лечения и после лечения

ГТ	DRA	N	SVR С ответной реакцией % (n)	Без ответной реакции SVR % (n)	Процент испытуемых с вирусологическим ответом по визиту[a] n (%)						
					Количество недель					ОЛ	РТ04
					1	2	4	8	12		
1	LDV + SOF (8 недель)	14	92,9 (13/14)	7,1 (1/14)	42,9 (6/14)	76,9 (10/13)	100 (14/14)	Н/П	Н/П	100 (14/14)	90 (9/10)
	LDV + SOF (12 недель)	39	100 (39/39)	0,0 (0/39)	11,1 (4/36)	52,6 % (20/38)	92,1 (35/38)	100 (36/36)	Н/П	100 (39/39)	100 (33/33)
	LDV + SOF (24 недели)	7	85,7 (6/7)	14,3 (1/7)	0,0 (0/6)	42,9 (3/7)	71,4 (5/7)	100 (7/7)	100 (7/7)	100 (6/6)	80 (4/5)
	SOF + PEG + RBV (12 недель)	25	96,0 (24/25)	4,0 (1/25)	40,0 (10/25)	80,0 (20/25)	100 (25/25)	100 (25/25)	Н/П	100 (25/25)	100 (25/25)
	SOF + RBV (24 недели)	6	100 (6/6)	0,0 (0/6)	16,7 (1/6)	66,7 (4/6)	83,3 (5/6)	100 (5/5)	100 (6/6)	100 (5/5)	100 (6/6)
	SOF + SIM + RBV (12 недель)	63	85,7 (54/63)	14,3 (9/63)	20,7 (12/58)	67,9 (38/56)	98,4 (62/63)	100 (57/57)	Н/П	96,6 (57/59)	90,0 (54/60)
	SOF + SIM + RBV (24 недели)	4	100 (4/4)	0,0 (0/4)	66,7 (2/3)	66,7 (2/3)	100 (4/4)	100 (3/3)	100 (3/3)	100 (4/4)	100 (4/4)
2	SOF + RBV (12 недель)	66	87,9 (58/66)	12,1 (8/66)	22,2 (12/54)	69,4 (43/62)	95,4 (62/65)	100 (64/64)	Н/П	98,5 (64/65)	93,5 (58/62)
3	SOF + PEG + RBV (12 недель)	3	100 (3/3)	0,0 (0/3)	33,3 (1/3)	100 (2/2)	100 (3/3)	100 (2/2)	Н/П	100 (3/3)	100 (3/3)
	SOF + RBV (24 недели)	47	87,2 (41/47)	12,8 (6/47)	20,9 (9/43)	70,5 (31/44)	100 (46/46)	100 (46/46)	100 (47/47)	100 (42/42)	89,1 (41/46)

DRA = схема медикаментозного лечения, ОЛ = окончание лечения, Н/П = не применимо, так как визит соответствует EOT для данного лечения или выходит за пределы терапевтического окна, РТ04 = 4-я неделя после лечения

[a] Вирусный ответ во время и после лечения определялся как < 10 МЕ/мл.

Примечание. ОЛ не входит в неделю лечения

Среди испытуемых с генотипом 1 95,5 % (150/157) испытуемых продемонстрировали вирусный ответ к 4-й неделе лечения. У 7 испытуемых с генотипом 1, не давших ответа на лечение к 4-й неделе (3 испытуемых, получавших LDV + SOF [12 недель], 2 испытуемых, получавших LDV + SOF [24 недели], по 1 испытуемому, получавшему SOF + RBV [24 недели] или SOF + SIM ± RBV [12 недель]), вирусный ответ на лечение был достигнут к 8-й неделе. У 2 (двух) испытуемых, получавших SOF + SIM ± RBV (12 недель), к окончанию лечения произошел рецидив, а у 6 (1 испытуемый, получавший LDF + SOF [8 недель], 1 испытуемый, получавший LDF + SOF [24 недели], и 4 испытуемых, получавших SOF + SIM ± RBV [12 недель]) рецидив развился к 4-й неделе после лечения.

Среди испытуемых с генотипом 2 95,4 % (62/65) испытуемых продемонстрировали вирусный ответ к 4-й неделе лечения. У 3 испытуемых с генотипом 2, не давших ответа на лечение к 4-й неделе, вирусный ответ был достигнут к 8-й неделе лечения. У 1 (одного) испытуемого, получавшего SOF + RBV (12 недель), к окончанию лечения развился рецидив, а у 4 испытуемых, получавших аналогичную схему медикаментозного лечения, рецидив развился к 4-й неделе после окончания лечения.

Среди испытуемых с генотипом 3 100 % (49/49) испытуемых продемонстрировали вирусный ответ к 4-й неделе лечения. К окончанию лечения рецидивы не наблюдались ни у одного (0) испытуемого, при этом у 5 испытуемых, получавших SOF + RBV (24 недели), рецидив развился к 4-й неделе после лечения.

По результатам данного исследования установлено, что анализ Aptima HCV Quant Dx может использоваться в качестве вспомогательного средства при ведении ВГС-инфицированных больных, получающих противовирусную терапию софосбувиром,

и может применяться для определения ответа SVR или его отсутствия. Результаты анализа могут использоваться для количественного определения уровня РНК вируса гепатита С в плазме крови человека до и в процессе лечения.

Исследование диагностической значимости

Оценка чувствительности проводилась с участием 338 испытуемых с положительными антителами к вирусу гепатита С из популяции высокого риска. В Табл. 31 представлены демографические данные и клинические характеристики испытуемых.

Табл. 31. Демографические данные и клинические характеристики испытуемых с положительными антителами к вирусу гепатита С

Характеристики		
Всего	*N*	338
Пол	Женский, n (%)	80 (23,7)
	Мужской, n (%)	258 (76,3)
Возраст (лет)	Среднее значение	48,2
	Медиана	51,0
	СО	11,01
	< 21, n (%)	2 (0,6)
	21—49, n (%)	152 (45,0)
	50—70, n (%)	182 (53,8)
	> 70, n (%)	2 (0,6)
Раса/этническая принадлежность[a]	Белая, n (%)	86 (25,4)
	Черная, n (%)	118 (34,9)
	Азиатская, n (%)	1 (0,3)
	Испанская, n (%)	123 (36,4)
	Смешанная этническая принадлежность, n (%)	4 (1,2)
	Другая, n (%)	10 (3,0)
	Неизвестно, n (%)	0 (0,0)
Факторы риска[b]	Употребление инъекционных наркотиков, n (%)	294 (87,0)
	Реципиенты факторов свертывания крови, произведенных до 1990 г., n (%)	0 (0,0)
	Диагноз «гепатит»/лечение, n (%)	172 (50,9)
	Диагноз «ВИЧ»/лечение, n (%)	13 (3,8)
	Инкарцерация в анамнезе, n (%)	311 (92,0)
	Проводилось переливание крови или ее компонентов, n (%)	39 (11,5)
	Трансплантация органа, n (%)	0 (0,0)
	Гемодиализ, n (%)	3 (0,9)
	Устойчиво повышенный уровень АЛТ, n (%)	2 (0,6)
	Рожденные в 1945—1965 гг., n (%)	192 (56,8)
Статус инфекции ВГС	Положительный анализ на РНК вируса гепатита С, n (%)	259 (76,6)
	Отрицательный анализ на РНК вируса гепатита С, n (%)	79 (23,4)

АЛТ = аланиновая аминотрансфераза, ВИЧ = вирус иммунодефицита человека

[a] Испытуемые могут заявлять несколько рас.

[b] Испытуемые заявлять несколько факторов риска.

Образцы тестировали с использованием утвержденного качественного теста на РНК ВГС, утвержденного теста на антитела к ВГС и анализа Aptima HCV Quant Dx. В исследование было включено 338 испытуемых, реактивных в отношении антител к ВГС. В соответствии с действующими рекомендациями AASLD для подтверждения положительного статуса инфицирования ВГС после получения реактивного результата теста на антитела к ВГС следует использовать одобренный FDA NAAT (МАНК — метод амплификации нуклеиновых кислот) с уровнем детекции 25 МЕ/мл или менее[20]. Соответствие между статусом инфицирования пациента и результатами анализа Aptima HCV Quant Dx определялось с использованием порога, составляющего 25 МЕ/мл. Образцы < 25 МЕ/мл расценивались как «Не обнаружено», а образцы с результатами ≥ 25 МЕ/мл — как «Обнаружено». См. Табл. 32.

Результаты анализа Aptima HCV Quant Dx сравнивали со статусом инфицированности пациента на основании результатов утвержденных тестов на антитела к ВГС и результатов утвержденных качественных тестов на РНК. Статус инфицирования пациента считался положительным, если и утвержденный тест на антитела к ВГС, и утвержденный качественный тест давали реактивный результат. Статус инфицирования пациента считался ВГС-отрицательным, если утвержденный тест на антитела к ВГС давал нереактивный результат.

Из 338 испытуемых с реактивными результатами на антитела к ВГС 256 были идентифицированы с помощью анализа Aptima HCV Quant Dx (% совпадения положительных результатов = 98,8 %). Из трех испытуемых, уровень РНК ВГС которых составил менее 25 МЕ/мл или не был обнаружен, у двух результат был обнаружен, но не определен количественно (РНК ВГС < 10 МЕ/мл), а у одного количественный результат РНК ВГС составил 12 МЕ/мл.

Табл. 32. Соответствие между результатами анализа Aptima HCV Quant Dx и статусом инфицирования пациента с использованием порога 25 МЕ/мл

Aptima HCV Quant Dx Результат анализа	**Статус инфицирования пациента**		**Всего**
	ВГС-положительный	**ВГС-отрицательный**	
Количественное определение РНК ВГС на уровне 25 МЕ/мл или выше	256	0	256
Количественное определение РНК ВГС или обнаружено на уровне ниже 25 МЕ/мл или не обнаружено	3[a]	79	82
Всего	259	79	338
% совпадения положительных результатов (ДИ 95 %)	98,8 (96,7—99,6)	Н/П	Н/П
Совпадения отрицательных результатов % (ДИ 95 %)	Н/П	100 (95,4—100)	Н/П

ДИ = доверительный интервал, Н/П = не применимо

[a] Анализ Aptima HCV Quant Dx обнаружил, но не определил количественно РНК ВГС (< 10 МЕ/мл) у двух испытуемых, а у третьего испытуемого РНК ВГС была количественно определена в концентрации 12 МЕ/мл.

В данном исследовании продемонстрирована клиническая полезность анализа Aptima HCV Quant Dx для корректной диагностики лиц с продолжающейся активной инфекцией РНК ВГС и их дифференциации от лиц с неактивной инфекцией в популяции с предшествующим контактом с ВГС (положительные результаты серологического анализа на антитела к ВГС).

Перекрестная реактивность у испытуемых с заболеваниями печени, не связанными с ВГС

Отбор образцов сыворотки и плазмы (n = 214) проводился у лиц с иными заболеваниями печени (когда активная ВГС-инфекция не указывалась в качестве основной причины). Образцы тестировались с помощью утвержденного теста на антитела к ВГС и утвержденного качественного теста на РНК ВГС для подтверждения отрицательного результата. Из исследования были исключены 17 (семнадцать) ВГС-положительных образцов (с положительными результатами анализа на антитела к ВГС и/или реактивными результатами качественного анализа на РНК ВГС) и три неподходящих образца. Тестирование с использованием анализа Aptima HCV Quant Dx проводилось собственными силами с использованием трех лотов наборов реактивов. В Табл. 33 представлены демографические данные и статус заболевания печени для 194 оцениваемых испытуемых.

Табл. 33. Демографические данные и статус заболевания печени испытуемых

Характеристики		Все
Всего	N	194
Пол	n	193
	Женский, n (%)	116 (60,1)
	Мужской, n (%)	77 (39,9)
Возраст (лет)	n	194
	Среднее значение	55,2
	Медиана	56,0
	СО	12,19
	Минимальное значение	25
	Максимальное значение	82
	21—49, n (%)	60 (30,9)
	50—70, n (%)	114 (58,8)
	> 70, n (%)	20 (10,3)
Этническая принадлежность	n	194
	Испанская или латиноамериканская, n (%)	9 (4,6)
	Не испанская и не латиноамериканская, n (%)	147 (75,8)
	Неизвестно, n (%)	38 (19,6)
	Отказались сообщить, n (%)	0 (0,0)
Раса[a]	n	194
	Белая, n (%)	122 (62,9)
	Черная или афроамериканская, n (%)	20 (10,3)
	Азиатская, n (%)	17 (8,8)
	Американские индейцы/аборигены Аляски, n (%)	0 (0,0)
	Аборигены Гавайев/тихоокеанских островов, n (%)	1 (0,5)
	Другая, n (%)	34 (17,5)
	Неизвестно, n (%)	2 (1,0)
	Отказались сообщить, n (%)	0 (0,0)
Болезнь печени[b]	n	194
	Аутоиммунный гепатит, n (%)	31 (16,0)
	Алкогольная болезнь печени, n (%)	51 (26,3)
	Хронический гепатит B, n (%)	34 (17,5)
	Первичный билиарный цирроз, n (%)	37 (19,1)
	НАСГ, n (%)	39 (20,1)
	Несколько заболеваний печени, n (%)	2 (1,0)

ВГВ = вирус гепатита B, НАСГ = неалкогольный стеатогепатит

[a] Испытуемые могли заявлять несколько рас.

[b] У испытуемых с несколькими заболеваниями печени отмечались как аутоиммунный гепатит, так и первичный билиарный цирроз.

В Табл. 34 представлены специфичность анализа Aptima HCV Quant Dx в зависимости от заболевания печени и распределение результатов по категориям вирусной нагрузки. Специфичность составила 100 % у испытуемых с хроническим вирусным гепатитом B (ВГВ), первичным билиарным циррозом, неалкогольным стеатогепатитом (НАСГ) и несколькими заявленными заболеваниями печени. Очень низкий уровень РНК ВГС был обнаружен у 1 испытуемого с аутоиммунным гепатитом (< 10 МЕ/мл) и у 4 испытуемых с алкогольной болезнью печени (< 10 МЕ/мл у 3 испытуемых и 16 МЕ/мл у 1 испытуемого). У одного из 5 испытуемых РНК вируса гепатита C была обнаружена с использованием утвержденного количественного анализа.

Табл. 34. Специфичность анализа Aptima HCV Quant Dx и распределение результатов у испытуемых с отрицательными антителами к ВГС и РНК при заболеваниях печени, не связанных с ВГС

Болезнь печени	Специфичность (%) 95 % ДИ[a]	Не обнаружено	< 10 МЕ/мл	10 — < 25 МЕ/мл	От 25 до 100 000 000 МЕ/мл	> 100 000 000 МЕ/мл	Всего
Аутоиммунный гепатит	96,8 (83,8—99,4)	30 (96,8)	1 (3,2)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	31
Алкогольная болезнь печени	92,2 (81,5—96,9)	47 (92,2)	3 (5,9)[b]	1 (2,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	51
Хронический гепатит B	100 (89,8—100)	34 (100)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	34
Первичный билиарный цирроз	100 (90,6—100)	37 (100)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	37
НАСГ	100 (91,0—100)	39 (100)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	39
Несколько заболеваний печени[c]	100 (34,2—100)	2 (100)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	2
Всего	97,4 (94,1—98,9)	189 (97,4)	4 (2,1)	1 (0,5)	0 (0,0)	0 (0,0)	194

ВГВ = вирус гепатита B, НАСГ = неалкогольный стеатогепатит

[a] ДИ в баллах.

[b] У одного испытуемого РНК ВГС определялась с помощью количественного анализа на ВГС, разрешенного к применению в США.

[c] У испытуемых наблюдались как аутоиммунный гепатит, так и первичный билиарный цирроз.

Список используемой литературы

1. Аверхофф Ф.М., Гласс Н. и Хольцман Д. Глобальное бремя гепатита С: рекомендации для поставщиков услуг здравоохранения в США. Clinical Infectious Diseases 2012; 55 (S1): S10-15.
2. Залесак М., Фрэнсис К., Гедеон А. и др. Прогрессия заболевания в популяции больных хроническим гепатитом С в США сегодня и в будущем. PLoS One. 21 мая 2013 г.;8(5):e63959
3. Энгл Р.Э., Бух Дж., Альтер Х.Дж. и др., Посттрансфузионный гепатит до скрининга крови на факторы риска гепатита. Transfusion. 5 мая 2014 г.
4. Ли М. Х., Ян Х. И., Юань Ю. и др., Эпидемиология и естественный ход развития вирусного гепатита. World J Gasteroenterology 2014: 20 (28): 9270-9280.
5. Тан С. Л., ред. Вирусы гепатита С: геном и молекулярная биология. Норфолк (Великобритания): Horizon Bioscience; 2006.
6. Смит Д. Б., Бух Дж., Куикен К. и др. Расширенная классификация вируса гепатита С с разделением на 7 генотипов и 67 подтипов: обновленные критерии и веб-ресурс по определению генотипа. Hepatology. Янв. 2014;59(1):318-27.
7. Рекомендации EASL по лечению гепатита С от 2014 г.: www.easl.eu/_clinical-practice-guideline.
8. AASLD и Американское общество инфекционистов (IDSA) в сотрудничестве с Международным обществом по борьбе с вирусными заболеваниями-США (IAS-USA). Руководство по лечению ВГС: Рекомендации по тестированию, ведению и лечению гепатита С. 2014: www.hcvguidelines.org.
9. CDC. Тестирование на наличие ВГС: обновленная информация для клиницистов и лабораторий. MMWR 2013; 62 (18).
10. Сидхартхан С., Кохли А., Симс З., Нельсон А., Осинуси А., Масур Х., Коттилил С. Полезность мониторинга вирусной нагрузки при лечении гепатита С с помощью антивирусных препаратов прямого действия. Clinical Infectious Diseases, 2015.
11. Кохли А., Шаффер А., Шерман А., Коттилил С. Лечение гепатита С: системный обзор. JAMA, 2014.
12. AASLD. Рекомендации по тестированию, ведению и лечению гепатита С. 2015. Опубликовано на веб-сайте hcvguidelines.org, дата доступа 11 февраля 2016 г.
13. Симмонс Б., Салим Дж., Хит К., Кук Дж., Хилл А. Отдаленные результаты лечения больных, инфицированных вирусом гепатита С: системный обзор и метаанализ преимуществ в выживании при достижении устойчивого вирусологического ответа. Clinical Infectious. 1 сент. 2015 г.;61(5):730-40.
14. **Институт клинических и лабораторных стандартов.** 2005. Сбор, транспортировка, подготовка и хранение образцов для молекулярных методов. Утвержденное руководство. Документ CLSI MM13-A. Уэйн, П.А.
15. **29 CFR Часть 1910.1030.** Профессиональное воздействие патогенов, передающихся через кровь; текущая версия.
16. **Центры по контролю и профилактике заболеваний/Национальные институты здравоохранения.** Биобезопасность в микробиологических и биомедицинских лабораториях (BMBL); текущая версия.
17. **Институт клинических и лабораторных стандартов.** 2002. Управление отходами клинической лаборатории. Документ CLSI GP5-A2. Вилланова, П.А.
18. **Институт клинических и лабораторных стандартов (CLSI)**. 2012. Оценка возможности детекции для процедур клинических лабораторных измерений. Утвержденное руководство — второе издание. Документ CLSI EP17-A2. Институт клинических и лабораторных стандартов, Уэйн П.А.
19. **Институт клинических и лабораторных стандартов (CLSI)**. 2003. Процедуры для оценки линейности методик количественных измерений: Статистический подход. Утвержденные рекомендации. Документ CLSI EP06-A. Институт клинических и лабораторных стандартов, Уэйн П.А.
20. AASLD/IDSA. Рекомендации по тестированию, ведению и лечению гепатита С. AASLD и IDSA. http://www.hcvguidelines.org/fullreport. Обновлено 21 марта 2014 г. Дата доступа: 1 марта 2016 г.
21. Руководящая комиссия AASLD/IDSA по ВГС. Рекомендации по лечению гепатита С: рекомендации AASLD-IDSA по тестированию, ведению и лечению взрослых пациентов, инфицированных вирусом гепатита С. Hepatology. 2015;62(3):932-954.

Контактная информация и история редакций



Hologic, Inc.
10210 Genetic Center Drive
San Diego, CA 92121 USA







Hologic BV
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

Australian Sponsor
Hologic (Australia & New Zealand) Pty Ltd.
Macquarie Park NSW 2113

Адрес электронной почты и номер телефона службы технической поддержки и обслуживания клиентов для конкретной страны можно найти на сайте www.hologic.com/support.

О произошедших на территории Европейского союза серьезных инцидентах, связанных с данным изделием, следует сообщать производителю и в уполномоченный орган государства — члена ЕС, в котором находится пользователь и/или пациент.

Hologic, Aptima, Panther, Panther Fusion, а также соответствующие логотипы являются товарными знаками или зарегистрированными товарными знаками компании Hologic, Inc. и (или) ее дочерних компаний в США и других странах.

Armored RNA является товарным знаком компании Asuragen, Inc.

Все остальные товарные знаки, которые могут быть указаны в этом листке-вкладыше, являются собственностью соответствующих владельцев.

Данное изделие может подлежать действию одного или нескольких патентов США, указанных по адресу www.hologic.com/patents.

© Hologic, Inc., 2016—2025. Все права защищены.

AW-28216-201 Ред. 001

2025-12

История редакций	Дата	Описание
AW-28216-201 Ред. 001	Декабрь 2025 г.	• Первичный выпуск.