Test Aptima® HCV Quant Dx Assay

Návod k použití
K diagnostickému použití *in vitro*
Pouze pro export z USA

Obecné informace 2
Určené použití 2
Shrnutí a vysvětlení testu 2
Principy postupu 3
Souhrn údajů o bezpečnosti a funkční způsobilosti 3
Varování a bezpečnostní opatření 4
Požadavky na skladování reagencií a zacházení s nimi 7
Odběr a skladování vzorků 9
Vzorky v systému Panther 12
Přeprava vzorků 12
Systém Panther 13
Reagencie a materiály, které jsou součástí dodávky 13
Požadované materiály, které jsou dodávány samostatně 15
Volitelné materiály 16
Postup testu na systému Panther 16
Poznámky k postupu 20
Kontrola kvality 21
Kalibrace testu 21
Negativní a pozitivní kontroly 21
Vnitřní kalibrátor / vnitřní kontrola 21
Interpretace výsledků 22
Omezení 23
Analytická funkční způsobilost 24
Limit detekce (LoD) s použitím 2. mezinárodního standardu WHO 24
Limit detekce napříč jednotlivými genotypy HCV 24
Lineární rozsah 25
Linearita napříč genotypy HCV 26
Dolní limit kvantifikace s použitím 2. mezinárodního standardu WHO 27
Stanovení dolního limitu kvantifikace (LLoQ) napříč genotypy HCV 28
Návaznost na standard WHO 30
Preciznost 31
Potenciálně interferující látky 31
Analytická funkce u vzorků negativních na HCV 33
Analytická specificita 34
Klinické vzorky obsahující jiné viry než HCV 35
Rovnocennost matric 35
Ředění vzorků roztokem k ředění vzorků Aptima (1 : 3) 36
Ředění vzorků roztokem k ředění vzorků Aptima (1 : 100) 37
Ověření LLoQ u klinických vzorků ředěných roztokem k ředění vzorků 38
Preciznost u ředěných vzorků 39
Přenos 39
Panel sérokonverze 40
Studie reprodukovatelnosti 40
Klinická funkčnost 42
Korelace metod 42
Studie klinického využití 43
Odpověď na antivirovou léčbu 47
Studie diagnostického využití 50
Křížová reaktivita u subjektů s onemocněním jater, které nesouvisí s HCV 52
Literatura 54
Kontaktní údaje a historie revizí 55

Obecné informace

Určené použití

Test Aptima® HCV Quant Dx Assay je test v reálném čase na základě transkripcí mediované amplifikace. Tento test se používá k detekci i kvantifikaci RNA viru hepatitidy C (HCV) v čerstvém a zmrazeném lidském séru a plazmě od osob infikovaných HCV.

Plazma může být připravena v kyselině ethylendiamintetraoctové (EDTA), antikoagulačním roztoku citrát-dextróza (ACD) a zkumavkách na přípravu plazmy (PPT). Sérum může být připraveno v sérových zkumavkách a zkumavkách pro separaci séra (SST, serum separator tubes). Vzorky se testují k automatizovanému zpracování, amplifikaci, detekci a kvantifikaci vzorků pomocí systému Panther™. Vzorky obsahující HCV genotypy 1 až 6 jsou k detekci a kvantifikaci v testu validovány.

Test Aptima HCV Quant Dx Assay je indikován jako nástroj k diagnostikování infekce HCV. Test lze použít k potvrzení aktivní infekce HCV u pacientů s pozitivním výsledkem testu na protilátky proti HCV. Detekce RNA HCV indikuje, že se virus replikuje, a je tak důkazem aktivní infekce.

Test Aptima HCV Quant Dx Assay je indikován jako pomůcka při léčbě pacientů infikovaných HCV podstupujících antivirovou léčbu HCV. Test měří hladiny RNA HCV na počátku, v průběhu léčby a po léčbě, pro stanovení setrvalé virologické odpovědi (SVR, sustained virological response). Výsledky testu Aptima HCV Quant Dx Assay musí být interpretovány v kontextu všech relevantních klinických a laboratorních nálezů.

Test Aptima HCV Quant Dx Assay není určen k použití jako screeningový test na přítomnost HCV v krvi nebo krevních produktech.

Shrnutí a vysvětlení testu

HCV je patogen přenášený krví s celosvětovou zátěží pro veřejné zdravotnictví až 170 milionů globálně infikovaných osob a 350 000 úmrtí ročně v důsledku onemocnění souvisejících s HCV, včetně cirhózy a rakoviny jater.[1,2] Přenos HCV probíhá stykem s krví, krevními produkty nebo v důsledku aktivit, u kterých může potenciálně dojít k perkutánní expozici.[3,4] Z hlediska genetiky obsahuje HCV genom RNA s pozitivním vláknem tvořený přibližně 9 500 nukleotidy kódujícími strukturální proteiny (jádro, glykoproteiny E1 a E2, protein p7 iontového kanálu) a nestrukturální proteiny (NS2, NS3, NS4A/B, NS5A/B), přičemž poslední z nich jsou klíčové virové replikativní proteiny a cíle přímo působících antivirotik.[4,5] Dvě netranslatované oblasti (UTR) genomu, 5' UTR a 3' UTR, hrají roli jak v translaci, tak i při replikaci/balení genomu.[5] 5' UTR je nejvíce konzervovaná oblast genomu napříč šesti hlavními HCV genotypy.[6]

Klinicky je pozorován vysoký výskyt asymptomatických infekcí HCV a k chronické infekci HCV dochází až u 75 % pacientů.[2] V rámci laboratorních algoritmů testování na HCV je nutné u osob pozitivních na protilátky diagnostikovat aktivní infekce HCV detekováním RNA HCV v plazmě nebo séru, aby bylo možné zahájit léčbu.[7,8,9]

Kvantifikace RNA HCV (virová zátěž) hrála stěžejní roli při definování a monitorování úspěšnosti léčby HCV. Setrvalá virologická odpověď (SVR) definovaná jako nenalezená RNA HCV po úspěšné terapii je hlavním ukazatelem vyléčené infekce HCV.[10,11] Při léčbě založené na interferonu se jako pozitivní prediktory pro SVR ukázaly časná virologická odpověď (EVR, early virological response) definovaná jako pokles virové zátěže HCV 2 log nebo větší po 12týdenní léčbě a rychlá virologická odpověď (RVR, rapid virological response) definovaná jako nedetekovatelná úroveň RNA HCV po 4 týdnech léčby.[10,12,13] Tyto ukazatele virové kinetiky se využívají u přístupů podle odpovědi upravující volbu zastavení nebo prodloužení léčby k dosažení SVR.[14] Kromě toho prokázaly dlouhodobé následné studie trvanlivost SVR po úspěšné léčbě a eradikace viru zabraňuje progresi onemocnění jater.[10]

S nástupem přímo působících virostatik (DAA) hraje klíčovou roli kvantifikace RNA HCV (virové zátěže), která umožňuje definovat a monitorovat úspěšnost léčby HCV. Setrvalá virologická odpověď (SVR) je definována jako nemožnost zjistit RNA HCV (pomocí testu s limitem detekce menším než 25 IU/ml) po léčbě.[10,11] Současné pokyny americké asociace pro studium jaterních nemocí (AASLD) doporučují stanovovat RNA HCV nejen před léčbou, ale i pravidelně v jejím průběhu (tj. 4 týdny) a po 12 týdnech od dokončení léčby.[10,12,13]

Principy postupu

Aptima HCV Quant Dx Assay je test amplifikace nukleových kyselin, který využívá technologii transkripcí mediované amplifikace (TMA) v reálném čase k detekci a kvantifikaci RNA HCV jako pomůcku při diagnóze nebo ke stanovení výchozího virového zatížení a zároveň také měření odpovědí během léčby a po léčbě. Test cílí na konzervovanou oblast genomu HCV, kde detekuje a kvantifikuje genotypy 1, 2, 3, 4, 5 a 6. Test je standardizován dle 2. mezinárodního standardu WHO pro virus hepatitidy typu C (kód NIBSC 96/798).[12]

Test Aptima HCV Quant Dx Assay zahrnuje tři hlavní kroky, které probíhají v jediné zkumavce v systému Panther: záchyt cíle, amplifikace cíle metodou TMA a detekce produktů amplifikace (amplikonů) pomocí fluorescenčně značených sond (indikátorů).

Během záchytu cíle je ze vzorků izolována virová RNA. Vzorek je zpracován pomocí detergentu s cílem rozpustit virový obal, denaturovat proteiny a uvolnit virovou genomovou RNA. Zachycené oligonukleotidy hybridizují do vysoce konzervovaných oblastí RNA HCV, jsou-li v testovacím vzorku přítomny. Hybridizovaný cíl je poté zachycen na magnetické mikročástice, které jsou odděleny od vzorku v magnetickém poli. Kroky promývání odstraní z reakční zkumavky nadbytečné složky.

Amplifikace cíle probíhá prostřednictvím TMA, což je metoda transkripcí mediované amplifikace nukleové kyseliny využívající dva enzymy, reverzní transkriptázu a T7 RNA polymerázu Moloneyho viru myší leukemie (MMLV). Reverzní transkriptáza slouží k vytvoření DNA kopie (obsahující promotorovou sekvenci RNA polymerázy T7) cílové sekvence. RNA polymeráza T7 vytváří vícečetné kopie amplikonu RNA z templátu kopie DNA. Test Aptima HCV Quant Dx Assay využívá metodu TMA pro amplifikaci části 5' UTR genomu HCV. Amplifikace této oblasti je dosaženo použitím specifických primerů určených k amplifikaci HCV genotypů 1, 2, 3, 4, 5 a 6.

Detekce se provádí pomocí indikátorů z jednovláknové nukleové kyseliny, které jsou součástí amplifikace cíle a které v reálném čase specificky hybridizují amplikon. Každý indikátor obsahuje fluorofor a zhášeč. Když není indikátor hybridizován na amplikon, zhášeč je v těsné blízkosti fluoroforu a potlačuje fluorescenci. Po navázání indikátoru na amplikon se zhášeč posune dále od fluoroforu a po excitaci zdrojem světla začne emitovat signál specifické vlnové délky. Pokud hybridizuje více indikátorů na amplikon, vzniká silnější fluorescenční signál. Čas potřebný k tomu, aby fluorescenční signál dosáhl určené prahové hodnoty, je úměrný počáteční koncentraci HCV. Každá reakce má svůj vnitřní kalibrátor / vnitřní kontrolu (IC), která kontroluje variabilitu ve zpracování vzorku, amplifikaci a detekci. Koncentrace vzorku je stanovena softwarem systému Panther pomocí signálů HCV a IC pro každou reakci a jejich porovnáním s kalibračními údaji.

Souhrn údajů o bezpečnosti a funkční způsobilosti

Souhrn údajů o bezpečnosti a funkční způsobilosti (Summary of Safety and Performance – SSP) je k dispozici v evropské databázi zdravotnických prostředků (Eudamed), kde je propojen s příslušnými identifikátory prostředku (Basic UDI-DI). Souhrn SSP k testu Aptima HCV Quant Dx Assay můžete vyhledat pomocí základního jedinečného identifikátoru prostředku (BUDI): 54200455DIAGAPTHCVAJ.

Varování a bezpečnostní opatření

A. K diagnostickému použití *in vitro*.

B. K profesionálnímu použití.

C. Před provedením testu na systému Panther si pro informace o postupu pečlivě přečtěte celou příbalovou informaci a příručku obsluhy k systému *Panther* / *Panther Fusion™.* Snížíte tak riziko výskytu neplatných výsledků.

D. Další specifická varování, bezpečnostní opatření a postupy pro kontrolu kontaminace naleznete v *příručce obsluhy systému Panther/Panther Fusion*.

Související s laboratoří

E. UPOZORNĚNÍ: Kontroly tohoto testu obsahují lidskou plazmu. Plazma nereaguje na povrchový antigen hepatitidy B (HBsAg), protilátky proti HCV, protilátky proti HIV-1 a HIV-2 a antigen HIV při testování pomocí postupů licencovaných Úřadem pro kontrolu potravin a léčiv v USA. Kromě toho je plazma nereaktivní s HCV RNA a HIV-1 RNA při testování pomocí licencovaných testů na nukleové kyseliny ve složených vzorcích. Všechny materiály pocházející z lidské krve je nutné považovat za potenciálně infekční a je nutné s nimi manipulovat dle univerzálních bezpečnostních opatření.[14,15,16]

F. Tento test mohou používat pouze pracovníci řádně vyškolení v použití testu Aptima HCV Quant Dx Assay a v manipulaci s potenciálně infekčními materiály. Pokud dojde k rozlití, ihned proveďte dezinfekci pomocí vhodných postupů daného pracoviště.

G. Používejte pouze dodané nebo určené jednorázové laboratorní vybavení.

H. Dodržujte běžná laboratorní bezpečnostní opatření. Nepipetujte ústy. Ve vyhrazených pracovních prostorech nejezte, nepijte ani nekuřte. Při manipulaci se vzorky a reagenciemi soupravy používejte jednorázové rukavice bez talku, ochranné brýle a laboratorní pláště. Po manipulaci se vzorky a reagenciemi soupravy si pečlivě omyjte ruce.

I. Pracovní povrchy, pipety a další vybavení pravidelně dekontaminujte 2,5% až 3,5% (0,35 mol až 0,5 mol) roztokem chlornanu sodného.

J. Veškeré materiály, které přišly do styku se vzorky a reagenciemi, zlikvidujte v souladu s místními a národními předpisy.[14,15,16,17] Důkladně vyčistěte a dezinfikujte všechny pracovní povrchy.

K. Kontroly obsahují azid sodný jako konzervační látku. K přenosu reagencie nepoužívejte kovové trubky. Pokud roztoky obsahující azid sodný likvidujete do kanalizačního systému, je nutné je naředit a spláchnout velkým množstvím tekoucí vody. Tato bezpečnostní opatření by měla zabránit nahromadění látky v kovových trubkách, kde by pak hrozil výbuch.

L. Zásady správné praxe v molekulárních laboratořích zahrnují sledování prostředí. K monitorování prostředí laboratoře je navržen následující postup:

1. Zajistěte si vatovou tyčinku a pár alikvotačních zkumavek na vzorky Aptima (SAT).
2. Každou zkumavku SAT příslušným způsobem označte.
3. Každou zkumavku SAT naplňte 1 ml roztoku k ředění vzorků Aptima.
4. Chcete-li odebrat vzorky povrchu, tampon lehce navlhčete deionizovanou Nuclease-free vodou.
5. Otřete požadovaný povrch vertikálním pohybem seshora dolů. Otočte tyčinku přibližně o jednu polovinu otočky a zároveň provádějte stěr z místa.

6. Okamžitě uložte vzorek stěru do zkumavky a jemným otáčením tyčinky v roztoku extrahujte případné materiály získané stěrem. Ihned otřete jednu stranu transportní zkumavky s cílem vyextrahovat co nejvíce tekutiny. Tyčinku zlikvidujte a zkumavku zavřete.
7. Zopakujte kroky u zbývajících vzorků stěru.
8. Proveďte molekulární test stěru.

Související se vzorky

M. Vzorky mohou být infekční. Při provádění testu dodržujte univerzální bezpečnostní opatření[14,15,16]. Zajistěte správné postupy při manipulaci a likvidaci v souladu s místními předpisy.[17] Tento test mohou používat pouze pracovníci řádně vyškolení v používání testu Aptima HCV Quant Dx Assay a v manipulaci s infekčními materiály.

N. Chcete-li zabezpečit integritu vzorku, zajistěte při přepravě vzorků vhodné přepravní podmínky. Stabilita vzorků za jiných než doporučených přepravních podmínek nebyla hodnocena.

O. Při manipulaci se vzorky zabraňte křížové kontaminaci. Dávejte zvláštní pozor, aby nedošlo ke kontaminaci rozstřikováním aerosolů při uvolňování nebo otevírání vzorků. Vzorky mohou obsahovat extrémně vysoké koncentrace organismů. Zajistěte, aby se jednotlivé nádoby na vzorky vzájemně nedotýkaly, a použité materiály při likvidaci nepřenášejte nad otevřenými nádobami. Pokud se vzorku dotknete, vyměňte si rukavice.

Související s testem

P. Soupravu reagencií, kalibrátor ani kontroly nepoužívejte po datu expirace.

Q. Nezaměňujte, nemíchejte ani nekombinujte reagencie testu ze souprav s různými čísly hlavní šarže. Kapaliny testu mohou být z různých šarží. Kontroly a kalibrátor mohou pocházet z různých šarží.

R. Zabraňte mikrobiální a nukleázové kontaminaci reagencií.

S. Všechny reagencie testu uzavřete a skladujte při uvedené teplotě. Při nesprávném skladování reagencií testu může být negativně ovlivněna funkční způsobilost testu. Další informace najdete v části *Požadavky na skladování reagencií a zacházení s nimi* a *Postup testu na systému Panther*.

T. Pokud nebude výslovně uvedeno jinak, nekombinujte žádné reagencie ani kapaliny testu. Nedolévejte reagencie ani kapaliny. Systém Panther ověřuje hladiny reagencií.

U. Některé reagencie v této sadě jsou označeny rizikovými a bezpečnostními symboly.

Poznámka: *Informace o nebezpečí jsou v souladu s klasifikacemi bezpečnostních listů (SDS) EU. Informace o nebezpečích specifické pro váš region najdete v bezpečnostním listu specifickém pro daný region v knihovně bezpečnostních listů (Safety Data Sheet Library) na adrese www.hologicsds.com. Další informace o symbolech najdete v legendě symbolů na adrese www.hologic.com/package-inserts.*

Informace o nebezpečí pro EU	
—	**Amplifikační reagencie** *CHLORID HOŘEČNATÝ, 60–65%* — H412 – Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky. P273 – Zabraňte uvolnění do životního prostředí. P501 – Odstraňte obsah/obal ve schváleném zařízení na likvidaci odpadu.
—	**Promotorová reagencie** *CHLORID HOŘEČNATÝ, 60–65%* — H412 – Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky. P273 – Zabraňte uvolnění do životního prostředí. P501 – Odstraňte obsah/obal ve schváleném zařízení na likvidaci odpadu.
—	**Enzymová reagencie** *Triton X-100, 1–5%* *HEPES, 1–5%* — H412 – Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky. P273 – Zabraňte uvolnění do životního prostředí. P501 – Odstraňte obsah/obal ve schváleném zařízení na likvidaci odpadu.
  	**Kontroly sady HCV VL** *AZID SODNÝ, < 1%* — **NEBEZPEČÍ** H300 – Při požití může způsobit smrt. H410 – Vysoce toxický pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky P264 – Po manipulaci důkladně omyjte tvář, ruce a exponované části kůže. P273 – Zabraňte uvolnění do životního prostředí. P301 + P310 – PŘI POŽITÍ: Okamžitě volejte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÍ STŘEDISKO nebo lékaře. P321 – Odborné ošetření (viz doplňující pokyny pro první pomoc na tomto štítku). P330 – Vypláchněte ústa. P391 – Uniklý produkt seberte.
—	**Kalibrátory sady HCV VL** *HEPES, 15–20%* *Laurylsulfát, lithná sůl, 5–10%* *Hydroxid lithný, monohydrát, 1–5%* *Kyselina jantarová, 1–5%* — H412 – Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky. P273 – Zabraňte uvolnění do životního prostředí. P501 – Odstraňte obsah/obal ve schváleném zařízení na likvidaci odpadu.

—	**Rekonstituční roztok pro enzymy** *Glycerol, 20–25%* *Triton X-100, 5–10%* *HEPES, 1–5%* — H412 – Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky. P273 – Zabraňte uvolnění do životního prostředí. P501 – Odstraňte obsah/obal ve schváleném zařízení na likvidaci odpadu.
—	**Reagencie pro záchyt cíle** *HEPES, 15–20%* *Laurylsulfát, lithná sůl, 5–10%* *Hydroxid lithný, monohydrát, 1–5%* *Kyselina jantarová, 1–5%* — H412 – Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky. P273 – Zabraňte uvolnění do životního prostředí. P501 – Odstraňte obsah/obal ve schváleném zařízení na likvidaci odpadu.

Požadavky na skladování reagencií a zacházení s nimi

A. V následující tabulce jsou uvedeny skladovací podmínky a stabilita reagencií, kontrol a kalibrátoru.

Reagencie	Skladování v neotevřeném stavu	Otevřená souprava (po rekonstituci)	
		Skladování	Stabilita
Amplifikační reagencie qHCV	2 °C až 8 °C		
Rekonstituční roztok pro amplifikaci qHCV	2 °C až 8 °C	2 °C až 8 °C	30 dní[a]
Enzymová reagencie qHCV	2 °C až 8 °C		
Rekonstituční roztok pro enzymy qHCV	2 °C až 8 °C	2 °C až 8 °C	30 dní[a]
Promotorová reagencie qHCV	2 °C až 8 °C		
Rekonstituční roztok promotoru qHCV	2 °C až 8 °C	2 °C až 8 °C	30 dní[a]
Reagencie pro záchyt cíle qHCV	2 °C až 8 °C	2 °C až 8 °C	30 dní[a]
qHCV NC CONTROL – (negativní kontrola)	−15 °C až −35 °C	15 °C až 30 °C	Jednorázová lahvička Použijte do 24 hodin
qHCV LPC CONTROL + (nízká pozitivní kontrola)	−15 °C až −35 °C	15 °C až 30 °C	Jednorázová lahvička Použijte do 24 hodin
qHCV HPC CONTROL + (vysoká pozitivní kontrola)	−15 °C až −35 °C	15 °C až 30 °C	Jednorázová lahvička Použijte do 24 hodin
qHCV PCAL (pozitivní kalibrátor)	−15 °C až −35 °C	15 °C až 30 °C	Jednorázová lahvička Použijte do 24 hodin

[a]Po vyjmutí reagencií ze systému Panther je nutné je ihned vrátit zpět do prostředí s vhodnou skladovací teplotou.

B. Zlikvidujte veškeré nepoužité rekonstituované reagencie a reagencie pro záchyt cíle (TCR, target capture reagent) po 30 dnech nebo po uplynutí data expirace hlavní šarže podle toho, která situace nastane dříve.

C. Reagencie uložené v systému Panther mají stabilitu v přístroji 72 hodin. Reagencie lze vložit do systému Panther až 8krát. Systém Panther zapíše každé vložení reagencií.

D. Po rozmrazení kalibrátoru musí být roztok čirý, tzn. nesmí být kalný a nesmí obsahovat precipitáty.



E. Promotorová reagencie a rekonstituovaná promotorová reagencie jsou fotosenzitivní. Při skladování a přípravě k použití chraňte tyto reagencie před světlem.

Odběr a skladování vzorků

Poznámka: *Se všemi vzorky je nutné zacházet jako s potenciálně infekčními. Postupujte podle univerzálních bezpečnostních opatření.*

Poznámka: *Dávejte pozor, aby při manipulaci se vzorky nedošlo ke křížové kontaminaci. Při likvidaci například nepřenášejte použitý materiál nad otevřenými zkumavkami.*

Poznámka: *K uskladnění se doporučují pouze plastové sekundární zkumavky.*

Je možné použít vzorky plné krve odebrané do následujících skleněných nebo plastových zkumavek:

- Zkumavky obsahující kyselinu ethylendiamintetraoctovou (EDTA) nebo antikoagulační roztok kyseliny citronové, citrátu a dextrózy (ACD),
- zkumavky na přípravu plazmy (PPT),
- sérové zkumavky,
- zkumavky pro separaci séra (SST).

Před dalším zpracováním séra počkejte, dokud se nevytvoří sraženina.

A. Sběr vzorků

Plnou krev lze skladovat při teplotě 2 °C až 30 °C a je nutné ji odstředit do 6 hodin od odběru vzorků. Oddělte plazmu nebo sérum od erytrocytárního terčíku dle pokynů výrobce použité zkumavky. Plazmu nebo sérum lze v systému Panther testovat v primární zkumavce nebo přenést do sekundární zkumavky, například alikvotační zkumavky na vzorky Aptima. Minimální objem plazmy nebo séra pro primární odběrové zkumavky je 1 200 µl a pro sekundární zkumavky 700 µl, abyste získali reakční objem 500 µl.
V následující tabulce jsou uvedeny požadavky na mrtvý objem pro jednotlivé typy primární a sekundární zkumavky.

Zkumavka (velikost a typ)	Mrtvý objem v systému Panther
Alikvotační zkumavka Aptima (SAT)	0,2 ml
12 × 75 mm	0,5 ml
13 × 100 mm	0,5 ml
13 × 100 mm s gelem	0,3 ml
16 × 100 mm s gelem	0,7 ml

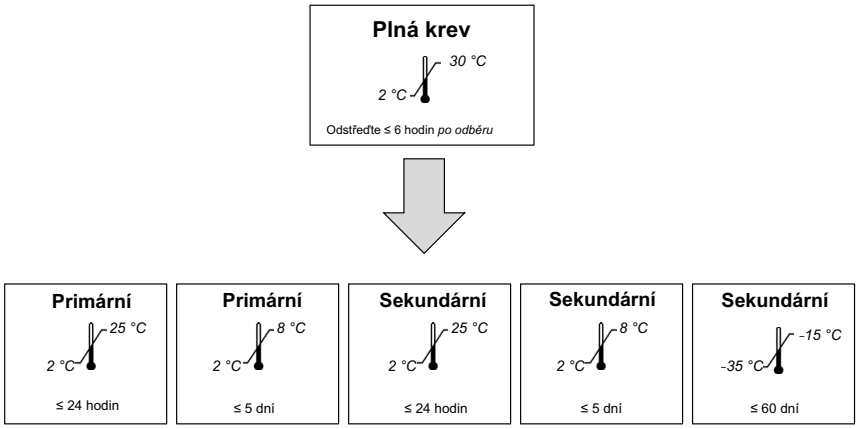
Pokud neprovedete testování ihned, plazmu i sérum je možné uskladnit v souladu s níže uvedenými specifikacemi. Pokud jsou převedeny do sekundární zkumavky, mohou být plazma nebo sérum zmrazeny na teplotu −20 °C. Nepřekračujte 3 cykly zmrazení–rozpuštění. Nezmrazujte vzorky v EDTA, ACD ani primárních zkumavkách k odběru séra.

B. Podmínky skladování vzorků

1. Vzorky plazmy EDTA a ACD

   Plnou krev lze skladovat při teplotě 2 °C až 30 °C a je nutné ji odstředit do 6 hodin od odběru vzorků. Plazma může být poté uchovávána za jedné z následujících podmínek:

   - v primární odběrové zkumavce nebo sekundární zkumavce při teplotě 2 °C až 25 °C po dobu až 24 hodin,
   - v primární odběrové zkumavce nebo sekundární zkumavce při teplotě 2 °C až 8 °C po dobu až 5 dnů nebo
   - v sekundární zkumavce při teplotě −20 °C po dobu až 60 dnů.

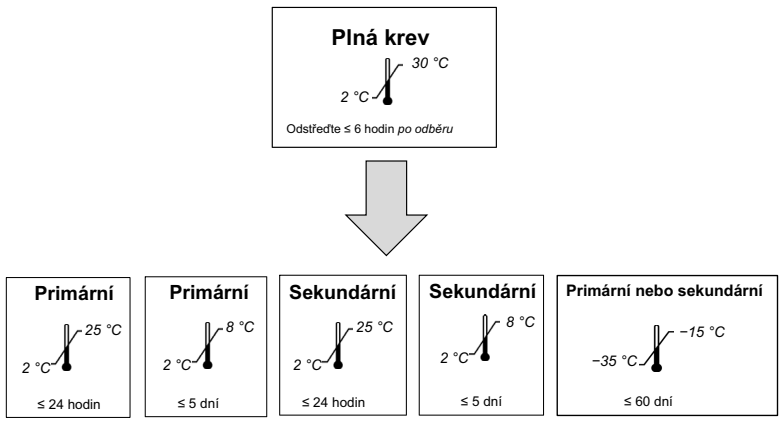


Obrázek 1. Podmínky uskladnění pro zkumavky EDTA/ACD

2. Vzorky PPT

   Plnou krev lze skladovat při teplotě 2 °C až 30 °C a je nutné ji odstředit do 6 hodin od odběru vzorků. Plazma může být poté uchovávána za jedné z následujících podmínek:

   - v primární odběrové zkumavce nebo sekundární zkumavce při teplotě 2 °C až 25 °C po dobu až 24 hodin,
   - v primární odběrové zkumavce nebo sekundární zkumavce při teplotě 2 °C až 8 °C po dobu až 5 dnů nebo
   - v primární odběrové zkumavce nebo sekundární zkumavce při teplotě −20 °C po dobu až 60 dnů.

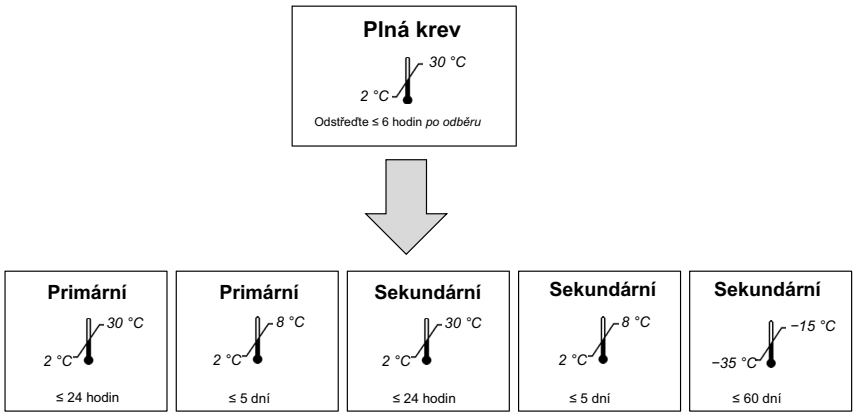


Obrázek 2. Podmínky uskladnění pro zkumavky PPT

3. Vzorky v sérové zkumavce

   Plnou krev lze skladovat při teplotě 2 °C až 30 °C a je nutné ji odstředit do 6 hodin od odběru vzorků. Sérum může být poté uchováváno za jedné z následujících podmínek:

   - v primární odběrové zkumavce nebo sekundární zkumavce při teplotě 2 °C až 30°C po dobu až 24 hodin,
   - v primární odběrové zkumavce nebo sekundární zkumavce při teplotě 2 °C až 8 °C po dobu až 5 dnů nebo
   - v sekundární zkumavce při teplotě −20 °C po dobu až 60 dnů.

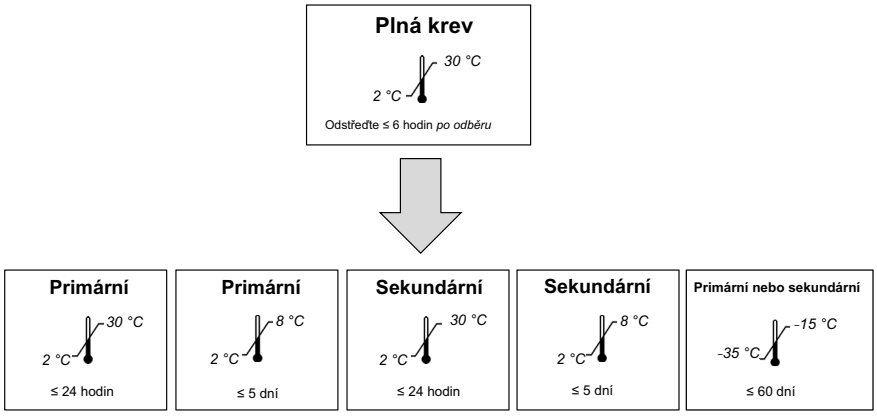


Obrázek 3. Podmínky uskladnění pro sérové zkumavky

4. Vzorky SST

   Plnou krev lze skladovat při teplotě 2 °C až 30 °C a je nutné ji odstředit do 6 hodin od odběru vzorků. Sérum může být poté uchováváno za jedné z následujících podmínek:

   - v primární odběrové zkumavce nebo sekundární zkumavce při teplotě 2 °C až 30°C po dobu až 24 hodin,
   - v primární odběrové zkumavce nebo sekundární zkumavce při teplotě 2 °C až 8 °C po dobu až 5 dnů nebo
   - v primární odběrové zkumavce nebo sekundární zkumavce při teplotě −20 °C po dobu až 60 dnů.



Obrázek 4. Podmínky uchovávání pro SST

C. Dlouhodobé skladování ve zmrazeném stavu

Vzorky plazmy nebo séra mohou být skladovány při teplotě −65 °C až −70 °C po dobu až 60 dnů v SAT.

D. Ředění vzorků plazmy a séra

Vzorky plazmy a séra mohou být k testování v systému Panther zředěny v SAT nebo sekundární zkumavce. Další informace najdete níže v části *Postup testu na systému Panther*, krok E.5.

⚠ *Diagnostickou interpretaci neprovádějte na základě výsledku „Nedetekováno“ u vzorků séra nebo plazmy, které byly zředěny. Zajistěte nový nezředěný vzorek a proveďte nový test.*

Poznámka: *Pokud je vzorek naředěn, je nutné jej otestovat ihned po ředění. Nezmrazujte naředěný vzorek.*

Vzorky v systému Panther

Vzorky mohou být v systému Panther ponechány neuzavřené po dobu až 8 hodin. Vzorky je možné vyjmout ze systému Panther a otestovat, dokud doba v přístroji nepřekročí 8 hodin před pipetováním vzorku systémem Panther.

Přeprava vzorků

Dodržujte podmínky uchovávání vzorků uvedené v části *Odběr a skladování vzorků*.

Poznámka: *Vzorky musí být přepravovány v souladu s platnými národními, mezinárodními a regionálními předpisy pro přepravu.*

Systém Panther

Níže jsou uvedeny reagencie testu Aptima HCV Quant Dx Assay pro systém Panther. Vedle názvu reagencie jsou rovněž uvedeny symboly k identifikaci reagencií.

Reagencie a materiály, které jsou součástí dodávky

Souprava testu Aptima HCV Quant Dx Assay, 100 testů, kat. č. PRD-03506
(1 krabička testu, 1 kalibrační souprava a 1 sada kontrol)
Další kalibrátory a kontroly lze objednat samostatně. Viz příslušná katalogová čísla níže.

Krabička testu Aptima HCV Quant Dx Assay
(po přijetí skladujte při teplotě 2 °C až 8 °C)

Symbol	Součást	Množství
A	**Amplifikační reagencie qHCV** *Neinfekční nukleové kyseliny vysušené v pufrovaném roztoku.*	1 lahvička
E	**Enzymová reagencie qHCV** *Vysušená reverzní transkriptáza a RNA polymeráza v roztoku pufrovaném HEPES.*	1 lahvička
PRO	**Promotorová reagencie qHCV** *Neinfekční nukleové kyseliny vysušené v pufrovaném roztoku.*	1 lahvička
AR	**Rekonstituční roztok pro amplifikaci qHCV** *Vodný roztok obsahující glycerol a konzervační látky.*	1 × 7,2 ml
ER	**Rekonstituční roztok pro enzymy qHCV** *Roztok pufrovaný HEPES obsahující surfaktant a glycerol.*	1 × 5,8 ml
PROR	**Rekonstituční roztok promotoru qHCV** *Vodný roztok obsahující glycerol a konzervační látky.*	1 × 4,5 ml
TCR	**Reagencie pro záchyt cíle qHCV** *Nukleové kyseliny v pufrovaném solném roztoku obsahujícím pevnou fázi, neinfekční nukleové kyseliny a vnitřní kalibrátor.*	1 × 72,0 ml
	Rekonstituční objímky	3
	List s čárovým kódem hlavní šarže	1 list

Kalibrační souprava Aptima HCV Quant Dx (kat. č. PRD-03507)
(po přijetí skladujte při teplotě od −15 °C do −35 °C)

Symbol	Součást	Množství
PCAL	**Pozitivní kalibrátor qHCV** *Transkript v pufrovaném roztoku.*	5 × 2,5 ml
	Štítek s čárovým kódem kalibrátoru	–

Sada kontrol Aptima HCV Quant Dx (kat. č. PRD-03508)
(po přijetí skladujte při teplotě od −15 °C do −35 °C)

Symbol	Součást	Množství
NC	**Negativní kontrola qHCV** *HCV negativní defibrinovaná lidská plazma obsahující gentamicin a 0,2% azid sodný jako konzervanty.*	5 × 0,8 ml
LPC	**Nízká pozitivní kontrola qHCV** *Neinfekční HCV Armored RNA v defibrinované lidská plazmě obsahující gentamicin a 0,2% azid sodný jako konzervanty.*	5 × 0,8 ml
HPC	**Vysoká pozitivní kontrola qHCV** *Neinfekční HCV Armored RNA v defibrinované lidská plazmě obsahující gentamicin a 0,2% azid sodný jako konzervanty.*	5 × 0,8 ml
	Štítek s čárovým kódem kontroly	–

Požadované materiály, které jsou dodávány samostatně

Poznámka: *Materiály dostupné od společnosti Hologic mají uvedena katalogová čísla dle seznamu, pokud není uvedeno jinak.*

Materiál	Kat. č.
Systém Panther™	303095
Systém Panther Fusion™	PRD-04172
Systém Panther™, kontinuální kapalina a odpad (Panther Plus)	PRD-06067
Sada kontrol Aptima® HCV Quant Dx	PRD-03508
Souprava kalibrátorů Aptima® HCV Quant Dx	PRD-03507
Testovací souprava Panther k testům v reálném čase (pouze k testování v reálném čase)	PRD-03455 (5 000 testů)
Souprava kapalin pro test Aptima® (neboli Univerzální souprava kapalin) *obsahuje promývací roztok Aptima®, pufr k deaktivační kapalině Aptima® a olejovou reagencii Aptima®*	303014 (1 000 testů)
Jednotky s několika zkumavkami (MTU)	104772-02
Souprava odpadního vaku Panther™	902731
Kryt odpadního koše Panther™	504405
Nebo testovací souprava systému Panther™ *(při provádění testů TMA neprobíhajících v reálném čase paralelně s testy TMA probíhajícími v reálném čase) obsahuje MTU, odpadní vaky, kryty odpadních košů, automatickou detekci a testovací kapaliny*	303096 (5 000 testů)
Špičky, 1 000 µl, filtrované, snímající tekutiny, vodivé a jednorázové *Ne všechny produkty jsou dostupné ve všech regionech. Informace o konkrétním regionu získáte u svého zástupce.*	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Bělidlo, 5% až 8,25% (0,7 mol až 1,16 mol) roztok chlornanu sodného	–
Jednorázové rukavice bez talku	–
Náhradní nepropichovací uzávěry	103036A
Náhradní uzávěry pro reagencie *Rekonstituční lahvičky pro amplifikační, enzymové a promotorové reagencie* *Lahvička TCR*	 CL0041 (100 uzávěrů) CL0040 (100 uzávěrů)
Kryty laboratorních stolů s plastovou vrstvou	–
Utěrky neuvolňující vlákna	–
Pipetor	–
Špičky	–
Druhy primární odběrové zkumavky: *13 mm × 100 mm* *13 mm × 75 mm* *16 mm × 100 mm*	 – – –
Odstředivka	–
Vortexová míchačka	–

Volitelné materiály

Materiál	Kat. č.
Druhy sekundární zkumavky:	
12 mm × 75 mm	–
13 mm × 100 mm	–
16 mm × 100 mm	–
Alikvotační zkumavky na vzorky Aptima (SAT) (balení po 100 ks)	FAB-18184
Uzávěr transportní zkumavky (balení po 100 ks) *uzávěr pro zkumavku SAT*	504415
Roztok k ředění vzorků Aptima®	PRD-03003
Souprava roztoku k ředění vzorků Aptima® *obsahuje roztok k ředění vzorků, 100 zkumavek SAT a 100 uzávěrů*	PRD-03478
Přenášecí pipety	–
Komerčně dostupné panely	–
Vatové tyčinky	–
Třepačka pro zkumavky	PRD-03488

Postup testu na systému Panther

Poznámka: *Další informace o postupu najdete v Příručce obsluhy k systému Panther / Panther Fusion.*

A. Příprava pracovní oblasti

1. Očistěte pracovní povrchy tam, kde budete připravovat reagencie. Otřete pracovní povrchy 2,5% až 3,5% (0,35 mol až 0,5 mol) roztokem chlornanu sodného. Roztok chlornanu sodného nechte působit na kontaktní povrchy alespoň 1 minutu a poté je opláchněte deionizovanou vodou. Roztok chlornanu sodného nenechte zaschnout. Pokryjte pracovní desku laboratorního stolu čistým absorpčním ubrusem s plastovou vrstvou.
2. Zvlášť očistěte pracovní povrch, na kterém budete vzorky připravovat. Dodržujte výše uvedený postup (krok A.1).
3. Vyčistěte pipetory. Použijte výše uvedený postup čištění (krok A.1).

B. Příprava kalibrátoru a kontrol

Než přistoupíte k následujícímu zpracování, zajistěte, aby se teplota kalibrátoru a kontroly ustálila na 15 °C až 30 °C:

1. Vytáhněte kalibrátor a kontroly ze skladovacího prostoru (−15 °C až −35 °C) a uložte je při teplotě 15 °C až 30 °C. Po celou dobu rozmrazování všechny zkumavky jemně převracejte, aby se dobře promíchaly. Ujistěte se, že je obsah zkumavek před použitím zcela rozmrazen.

   Možnost. Zkumavky kalibrátoru a kontrol je možné vložit do třepačky a pečlivě promíchat. Ujistěte se, že je obsah zkumavek před použitím zcela rozmrazen.

   Poznámka: *Při převracení kalibrátoru a kontrol dávejte pozor, aby nevznikla přebytečná pěna. Pěna ovlivňuje detekci hladin v systému Panther.*
2. Po rozmrazení obsahu zkumavky vysušte vnější povrch zkumavky čistým, suchým jednorázovým hadříkem.
3. V rámci prevence kontaminace zkumavky zatím neotevírejte.

C. Rekonstituce či příprava reagencie z nové soupravy

Poznámka: *Rekonstituci reagencií je nutné provést před zahájením veškerých prací se systémem Panther.*

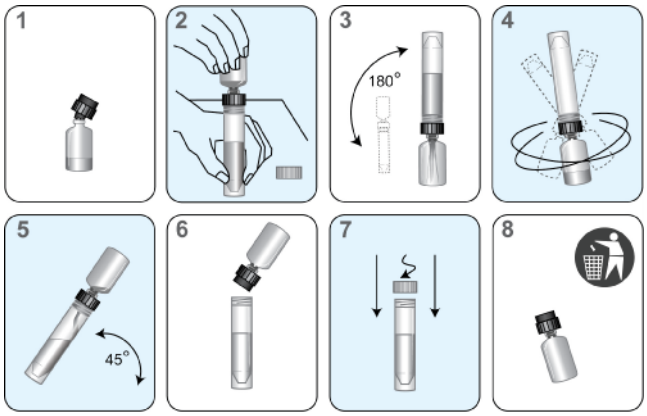
1. Reagencii pro záchyt cíle (TCR) připravíte následujícím způsobem:
   a. Vytáhněte reagencii TCR ze skladovacího prostoru (2 °C až 8 °C). Zkontrolujte číslo šarže na lahvičce reagencie TCR, abyste se ujistili, že odpovídá číslu šarže na listu s čárovým kódem hlavní šarže.
   b. Ihned poté 10krát důkladně protřepejte lahvičku reagencie TCR. Nechte lahvičku reagencie TCR volně zahřát při teplotě 15 °C až 30 °C po dobu 45 minut. Během této doby minimálně co 10 minut jemně otočte a převraťte lahvičku reagencie TCR.

      Možnost. Lahvičku reagencie TCR je možné připravit na třepačce pro zkumavky dle následujících pokynů: Vytáhněte reagencii TCR ze skladovacího prostoru (2 °C až 8 °C) a ihned 10krát důkladně protřepejte. Uložte lahvičku reagencie TCR na třepačku a nechte reagencii TCR zahřát při teplotě 15 °C až 30 °C minimálně po dobu 45 minut.
   c. Před použitím se ujistěte, že se veškerý precipitát nachází v roztoku a že jsou magnetické částečky ponořeny.
2. Pokud chcete rekonstituovat amplifikační, enzymatické a promotorové reagencie, postupujte následujícím způsobem:
   a. Vytáhněte lyofilizované reagencie a odpovídající rekonstituční roztoky ze skladovacího prostoru (2 °C až 8 °C). Každý rekonstituční roztok spárujte s odpovídající lyofilizovanou reagencií.
   b. Ujistěte se, že rekonstituční roztoky a reagencie mají shodné barvy štítků. Zkontrolujte čísla šarže na listu s čárovým kódem hlavní šarže, abyste zajistili správné spárování reagencií.
      i. Odstraňte kovový uzávěr a gumovou zátku lahvičky s lyofilizovanou reagencií a otevřete ji.
      ii. Do lahvičky pevně zasuňte vroubkovaný konec rekonstituční objímky (černý) (Obrázek 5, krok 1).
      iii. Otevřete odpovídající lahvičku s rekonstitučním roztokem a uzávěr odložte na čistý a zakrytý pracovní povrch.
      iv. Lahvičku s rekonstitučním roztokem uložte na stabilní povrch (tzn. laboratorní stůl). Poté převraťte lahvičku s lyofilizovanou reagencií přes lahvičku s rekonstitučním roztokem a pevně připojte objímku k lahvičce s rekonstitučním roztokem (Obrázek 5, krok 2).
      v. Pomalu převraťte propojené lahvičky (skleněná lahvička připojená k lahvičce s roztokem), aby roztok stekl do skleněné lahvičky (Obrázek 5, krok 3).
      vi. Zvedněte připojené lahvičky a minimálně 10 sekund je míchejte (Obrázek 5, krok 4).
      vii. Počkejte minimálně 30 minut, než se lyofilizovaná reagencie dostane do roztoku.
      viii. Po přechodu lyofilizované reagencie do roztoku minimálně 10 sekund míchejte sestavené lahvičky a poté lehce protřepejte roztok ve skleněné lahvičce, aby se dobře promíchal.
   c. Pomalu znovu nakloňte připojené lahvičky, aby všechen roztok stekl zpět do lahvičky s rekonstitučním roztokem (Obrázek 5, krok 5).
   d. Opatrně odstraňte rekonstituční objímku a skleněnou lahvičku (Obrázek 5, krok 6).

e. Znovu uzavřete lahvičku uzávěrem. Na štítek zapište iniciály obsluhy a datum rekonstituce (Obrázek 5, krok 7).

f. Rekonstituční objímku a skleněnou lahvičku zlikvidujte (Obrázek 5, krok 8).

Varování: *Při rekonstituci reagencií zabraňte tvorbě přebytečné pěny. Pěna ovlivňuje detekci hladin v systému Panther.*



Obrázek 5. Postup rekonstituce reagencií

D. Příprava u dříve připravovaných reagencií

1. Vytáhněte dříve připravené reagencie ze skladovacího prostoru (2 °C až 8 °C).
2. Před zahájením testu je nutné nechat dříve připravené amplifikační, enzymové, promotorové a TCR reagencie temperovat na teplotu 15 °C až 30 °C.
3. U dříve připravené reagencie TCR před vložením do systému proveďte krok C.1 výše.
4. Protřepejte a převraťte amplifikační, enzymové a promotorové reagencie, aby se před vložením do systému dobře promíchaly. Při převracení reagencií zabraňte tvorbě přebytečné pěny.

   Možnost: Dříve připravené reagencie je možné připravit na třepačce pro zkumavky dle následujících pokynů: Vytáhněte reagencie z prostoru pro uchovávání (2 °C až 8 °C). Uložte reagencie na třepačku zkumavek a nechte je zahřát při teplotě 15 °C až 30 °C minimálně po dobu 30 minut.
5. Lahvičky s reagenciemi nedoplňujte. Doplněné lahvičky systém Panther rozpozná a zamítne je.

E. Manipulace se vzorkem

1. Zajistěte, aby byly zpracované vzorky v primárních zkumavkách nebo nezředěné vzorky v sekundárních zkumavkách řádně skladovány v souladu s pokyny v části *Odběr a skladování vzorků*.
2. Ujistěte se, že jsou zmrazené vzorky zcela rozmrazené. Rozmrazené vzorky 3 až 5 sekund důkladně promíchejte vortexováním.
3. Než přikročíte ke zpracování, nechte vzorky zahřát na teplotu 15 °C až 30 °C. Další informace o stavu v přístroji najdete v části *Vzorky v systému Panther*.
4. Ujistěte se, že každá primární odběrová zkumavka obsahuje až 1 200 µl vzorku nebo každá SAT obsahuje alespoň 700 µl vzorku. V tabulce v části *Sběr vzorků* jsou uvedeny požadavky na mrtvý objem pro jednotlivé typy primární a sekundární zkumavky. Pokud je nutné vzorek naředit, prostudujte si další informace v kroku E.5 níže.
5. Zřeďte vzorek plazmy nebo séra v poměru 1 : 3 v SAT nebo 1 : 100 v sekundární zkumavce.

K testování v systému Panther může být vzorek zředěn v sekundární zkumavce.

⚠ *Diagnostickou interpretaci neprovádějte na základě výsledku „Nedetekováno“ u vzorků séra nebo plazmy, které byly zředěny. Zajistěte nový nezředěný vzorek a proveďte nový test.*

Poznámka: *Pokud je vzorek naředěn, musí být testován ihned po naředění.*

a. Ředění vzorků s nízkým objemem

Objem vzorků může být zvýšen na minimální požadovaný objem (700 µl) pomocí roztoku k ředění vzorků Aptima. Vzorky s obsahem nejméně 240 µl mohou být naředěny dvěma částmi roztoku k ředění vzorků (1 : 3) takto:

i. Do zkumavky SAT vložte 240 µl vzorku.

ii. Přidejte 480 µl roztoku k ředění vzorků Aptima.

iii. Uzavřete zkumavku.

iv. Jemně ji 5krát převraťte a promíchejte.

Vzorky ředěné v poměru 1 : 3 je možné otestovat pomocí možnosti 1 : 3 v systému Panther / Panther Fusion (další informace najdete v *Příručce obsluhy k systému Panther / Panther Fusion*). Software automaticky nahlásí čistý výsledek použitím faktoru ředění. Tyto vzorky budou označeny jako naředěné vzorky.

b. Ředění vzorků s vysokým titrem

Pokud je výsledek vzorku nad horním limitem kvantifikace (ULoQ), může být naředěn 99 díly roztoku k ředění vzorků Aptima (1 : 100) následně:

i. Do zkumavky SAT nebo sekundární zkumavky vložte 30 µl vzorku.

ii. Přidejte 2 970 µl roztoku k ředění vzorků Aptima.

iii. Uzavřete zkumavku.

iv. Jemně ji 5krát převraťte a promíchejte.

Vzorky ředěné v poměru 1 : 100 je možné otestovat pomocí možnosti 1 : 100 v systému Panther / Panther Fusion (další informace najdete v *Příručce obsluhy k systému Panther / Panther Fusion*). Software automaticky nahlásí čistý výsledek použitím faktoru ředění. Tyto vzorky budou označeny jako naředěné vzorky.

Poznámka: *U ředěných vzorků s čistými koncentracemi vyššími než ULoQ budou výsledky hlášeny ve vědeckém formátu.*

6. Před vložením vzorků do stojanu na vzorky proveďte centrifugaci každého vzorku s přetížením 1 000 až 3 000 *g* po dobu 10 minut. Neodstraňujte uzávěry. Bubliny ve zkumavce narušují detekci hladiny systémem Panther.

Informace o vkládání stojanu a odstraňování uzávěrů najdete v části *Příprava systému*, krok F.2 níže.

F. Příprava systému

1. Systém nastavte podle pokynů uvedených v *Příručce obsluhy k systému Panther / Panther Fusion* a v části *Poznámky k postupu.* Použijte stojany na reagencie vhodné velikosti a TCR adaptéry.
2. Vložte vzorky do stojanu na vzorky. Pro každou zkumavku na vzorky proveďte následující kroky (vzorek a v případě potřeby kalibrátor a kontroly):
   a. Uvolněte uzávěr jedné zkumavky na vzorky, neodstraňujte jej však zcela.

   Poznámka: *Dávejte zvláštní pozor, aby nedošlo ke kontaminaci rozstřikováním aerosolů. Jemně uvolněte uzávěry na vzorcích.*

b. Vložte zkumavku na vzorky do stojanu na vzorky.

c. Zopakujte kroky 2.a a 2.b pro všechny zbývající vzorky.

d. Po vložení vzorků do stojanu na vzorky vytáhněte a zlikvidujte uzávěry všech zkumavek na vzorky v jednom stojanu na vzorky. Nepřenášejte uzávěr nad jinými stojany na vzorky ani zkumavkami na vzorky, aby nedošlo ke kontaminaci.

e. V případě potřeby použijte novou, jednorázovou přenosovou pipetu k odstranění případných bublin nebo pěny.

f. Po odstranění posledního uzávěru vložte stojan na vzorky do prostoru na vzorky.

Poznámka: *Pokud současně provádíte další testy s jinými typy vzorků, zajistěte před vložením stojanu na vzorek do prostoru na vzorky přidržovač vzorků.*

g. Zopakujte kroky 2.a až 2.f pro další stojan na vzorky.

Poznámky k postupu

A. Kalibrátory a kontroly

1. Pozitivní kalibrátor qHCV, nízká pozitivní kontrola qHCV, vysoká pozitivní kontrola qHCV a negativní kontrolní zkumavka qHCV mohou být vloženy na libovolnou polohu ve stojanu na vzorky a do kteréhokoli prostoru na vzorky v systému Panther. Pipetování vzorků bude zahájeno, jakmile bude splněna jedna z následujících dvou podmínek:
   a. Kalibrátor a kontroly jsou aktuálně zpracovávány v systému.
   b. V systému jsou registrovány platné výsledky kalibrátoru a kontrol.
2. Jakmile proběhne pipetování a zpracování kalibrátoru a kontrolních zkumavek pro soupravu reagencií testu Aptima HCV Quant Dx Assay, mohou být v průběhu 24 hodin otestovány vzorky pomocí přiřazené rekonstituční soupravy, **pokud nebudou porušeny následující podmínky:**
   a. Výsledek kalibrátoru nebo výsledky kontrol jsou neplatné.
   b. Přiřazená souprava reagencií testu je ze systému vyjmuta.
   c. Přiřazená souprava reagencií testu překročila limity stability.
3. Kalibrátor a každou zkumavku kontroly lze použít jednou. Pokusy o vícenásobné použití zkumavky mohou vést k chybám zpracování.

B. Prášek z rukavic

Stejně jako u jiných systémů reagencií může nadbytek talku z rukavic způsobit kontaminaci otevřených zkumavek. Doporučujeme používat rukavice bez talku.

Kontrola kvality

Pokud jsou při provádění testu zjištěny a zdokumentovány technické problémy, problémy na straně obsluhy nebo problémy na straně přístroje, může obsluha zrušit výsledek série měření nebo vzorku. V takovém případě je nutné zopakovat testování vzorků.

Kalibrace testu

Aby byly generovány platné výsledky, musí být dokončena kalibrace testu. Při každém vložení soupravy reagencií do systému Panther se třikrát zpracuje jeden pozitivní kalibrátor. Po potvrzení bude kalibrátor platný až 24 hodin. Pokud bude nutná kalibrace, software v systému Panther upozorní obsluhu. Obsluha naskenuje kalibrační koeficient na listu s čárovým kódem hlavní šarže dodávaném s každou soupravou reagencií.

Během zpracování software v systému Panther automaticky ověří kritéria přijatelnosti kalibrátoru. Pokud budou platné méně než dva replikáty kalibrátoru, software automaticky zruší platnost zpracování. Vzorky v neplatném zpracování bude nutné znovu otestovat pomocí čerstvě připraveného kalibrátoru a čerstvě připravených kontrol.

Negativní a pozitivní kontroly

Aby byly generovány platné výsledky, musí být testována sada kontrol testu. Vždy, když je reagenční souprava vložena do systému Panther, musí být testován jeden replikát negativní kontroly, nízké pozitivní kontroly a vysoké pozitivní kontroly. Po stanovení jsou kontroly platné po dobu maximálně 24 hodin. Pokud budou vyžadovány kontroly, software v systému Panther upozorní obsluhu.

Během zpracování software v systému Panther automaticky ověří kritéria přijatelnosti kontrol. Aby bylo možné vygenerovat platné výsledky, musí negativní kontrola vygenerovat výsledek „Nedetekováno“ a pozitivní kontroly musí vygenerovat výsledky v rámci předdefinovaných parametrů (jmenovitý cíl LPC: 2,36 $\log_{10}$ IU/ml, jmenovitý cíl HPC: 5,36 $\log_{10}$ IU/ml). Pokud kterákoli z kontrol poskytne neplatný výsledek, software automaticky zruší platnost zpracování. Vzorky v neplatném zpracování bude nutné znovu otestovat pomocí čerstvě připraveného kalibrátoru a čerstvě připravených kontrol.

Vnitřní kalibrátor / vnitřní kontrola

Každý vzorek obsahuje vnitřní kalibrátor / vnitřní kontrolu (IC). Během zpracování automaticky ověří software systému Panther kritéria přijatelnosti kontroly IC. Pokud je výsledek kontroly IC neplatný, výsledky vzorku budou zneplatněny. Každý vzorek s neplatným výsledkem kontroly IC je nutné znovu otestovat, abyste získali platný výsledek.

Software systému Panther je navržen tak, aby přesně ověřoval procesy při provádění postupů podle pokynů uvedených v této příbalové informaci a v *Příručce obsluhy k systému Panther / Panther Fusion*.

Interpretace výsledků

Systém Panther automaticky stanoví koncentraci RNA HCV pro vzorky a kontroly porovnáním výsledků s kalibrační křivkou. Koncentrace RNA HCV jsou uvedeny v IU/ml a $\log_{10}$ IU/ml. Tabulka 1 uvádí interpretaci výsledků. Pokud se pro zředěné vzorky použije ředění 1 : 3 nebo 1 : 100, systém Panther automaticky vypočítá koncentraci RNA HCV v čistém vzorku vynásobením zředěné koncentrace faktorem zředění a zředěné vzorky jsou označeny jako zředěné.

Poznámka: *U zředěných vzorků mohou být výsledky uvedené jako „Nedetekováno“ nebo „Detekováno < 10“ získány zředěním vzorku koncentrací nad, ale blízko LoD nebo LLoQ (limit detekce nebo dolní limit kvantifikace). Pokud nebyl získán kvantitativní výsledek, doporučujeme odebrat a otestovat jiný čistý vzorek.*

Systém Panther neposkytuje kvalitativní výsledek (tzn. „Reaktivní“ nebo „Nereaktivní“) pro diagnostické použití. Obsluha musí interpretovat ohlášenou koncentraci RNA HCV do kvalitativního výsledku (Tabulka 1). Vzorky s výsledky uvedenými jako „Nedetekováno“ jsou na RNA HCV nereaktivní. Vzorky s výsledky uvedenými jako „Detekováno < 10“ s výsledky uvedenými v lineárním rozsahu a > 100 000 000 (horní limit kvantifikace) ukazují, že RNA HCV byla detekována a tyto vzorky jsou reaktivní na RNA HCV.

Tabulka 1: Interpretace výsledků

Ohlášený výsledek testu Aptima HCV Quant Dx Assay		Interpretace koncentrace RNA HCV	Diagnostická kvalitativní interpretace uživatele[a]
IU/ml	Hodnota $\log_{10}$[b]		
Nedetekováno	Nedetekováno	RNA HCV nebyla detekována.	Nereaktivní na RNA HCV
Detekováno < 10	< 1,00	RNA HCV je detekována, ale na úrovni pod LLoQ	Reaktivní na RNA HCV
10 až 100 000 000	1,00 až 8,00	Koncentrace RNA HCV je v lineárním rozmezí 10 až 100 000 000 IU/ml	Reaktivní na RNA HCV
> 100 000 000	> 8,00	Koncentrace RNA HCV je nad ULoQ	Reaktivní na RNA HCV
Neplatné[c]	Neplatné[c]	Při generování výsledku došlo k chybě. Vzorky je nutné testovat znovu	Neplatné

[a]Diagnostická interpretace může být provedena ze vzorků séra nebo plazmy, které nebyly zředěny.
[b]Hodnota je zkrácena na dvě desetinná místa.
[c]Neplatné výsledky jsou zobrazeny modrou barvou.

Tabulka 2 uvádí kritéria přijatelnosti jednotlivých kontrol testu Aptima HCV Quant Dx Assay.

Poznámka: *Níže uvedený rozsah výtěžnosti se posouvá na základě přiřazené hodnoty každé konkrétní šarže. Viz přiřazená koncentrace uvedená na listu s čárovým kódem kontroly, který se dodává s každou krabičkou kontroly.*

Tabulka 2: Kritéria přijatelnosti pro rozsah výtěžnosti kontrol testu Aptima HCV Quant Dx Assay

Součást	Rozmezí výtěžnosti u validovaných sérií měření
Negativní kontrola	–
Nízká pozitivní kontrola	± 0,5 $\log_{10}$ IU/mL
Vysoká pozitivní kontrola	± 0,5 $\log_{10}$ IU/mL

Omezení

A. Test mohou používat pouze osoby vyškolené v provedení příslušných postupů. Nedodržení pokynů uvedených v této příbalové informaci povede k chybným výsledkům.

B. Spolehlivost výsledků závisí na adekvátním odběru, transportu, skladování a zpracování vzorků.

C. Ačkoli je to vzácné, mutace ve vysoce konzervovaných oblastech virového genomu pokryté primery nebo sondami v testu Aptima HCV Quant Dx Assay mohou vést k selhání detekce viru.

Analytická funkční způsobilost

Limit detekce (LoD) s použitím 2. mezinárodního standardu WHO

Limit detekce (LoD) tohoto testu je definován jako koncentrace RNA HCV, která je detekována s 95% nebo vyšší pravděpodobností podle normy CLSI EP17-A2.[18]

LoD byl stanoven testovacími panely 2. mezinárodního standardu WHO pro RNA viru hepatitidy C (NIBSC 96/798, genotyp 1) zředěnou v HCV negativní lidské plazmě s EDTA a séru. Minimálně 36 replikátů každého zředění bylo testováno s každou ze tří šarží reagencií, tedy minimálně 108 replikátů na jedno ředění. Byla provedena probit analýza za účelem generování předpokládaných limitů detekce. Hodnoty LoD jsou výsledky ze šarže reagencií s nejvyšším předpokládaným limitem detekce. 95% LoD testu Aptima HCV Quant Dx Assay s použitím 2. mezinárodního standardu WHO je 4,3 IU/ml v případě plazmy a 3,9 IU/ml v případě séra.

Limit detekce napříč jednotlivými genotypy HCV

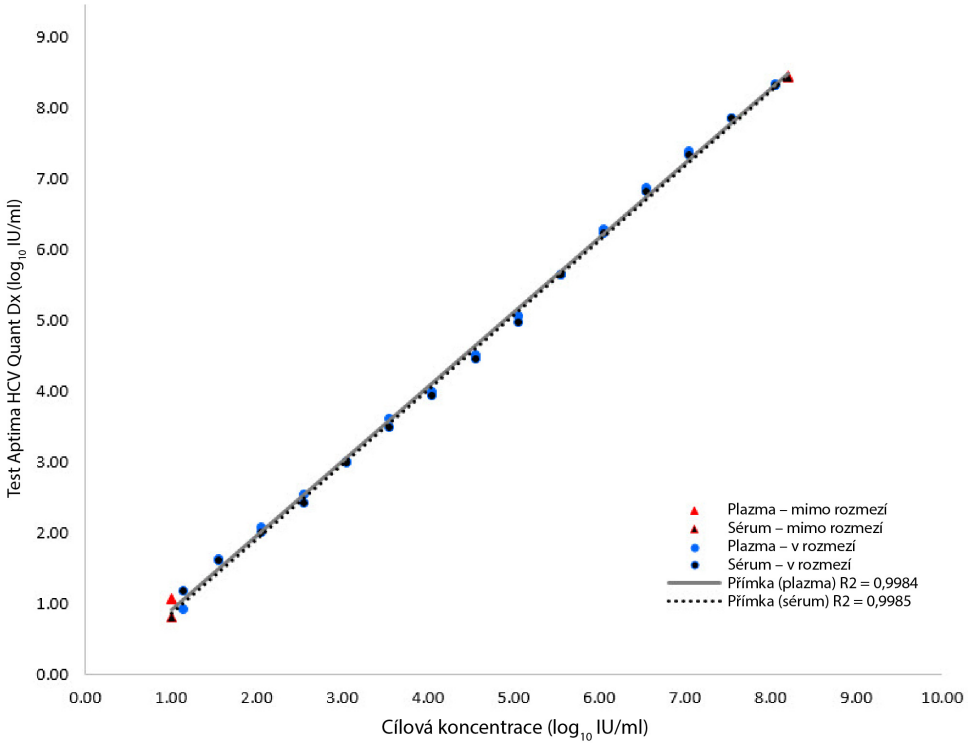
Hodnota LoD byla stanovena testováním HCV pozitivních klinických vzorků genotypů 1, 2, 3, 4, 5 a 6 zředěných v HCV negativní lidské plazmě a séru. Koncentrace byly stanoveny schváleným testem. Minimálně 20 replikátů každého článku panelu bylo testováno s každou ze tří šarží reagencií, tedy minimálně 60 replikátů na jeden článek panelu. K vygenerování 95% předpokládaných limitů detekce byla provedena probit analýza. Tabulka 3 uvádí hodnoty LoD, které jsou výsledky ze šarže reagencií s nejvyšším předpokládaným limitem detekce.

Tabulka 3: Limit detekce napříč jednotlivými HCV genotypy s použitím klinických vzorků

Genotyp	Předvídaný limit detekce	Koncentrace (IU/ml)	
		Plazma	Sérum
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

Lineární rozsah

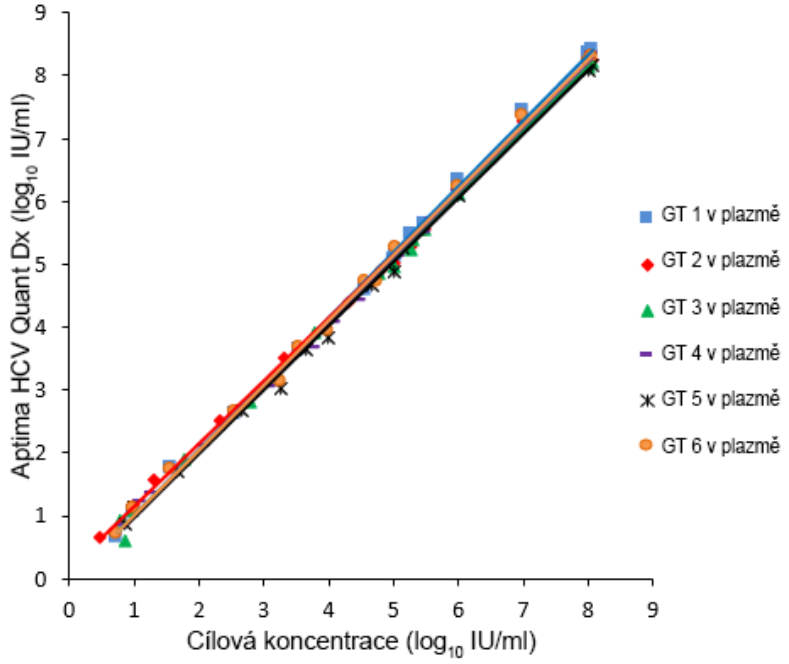
Lineární rozsah byl stanoven testováním panelů s HCV 1a Armored RNA (aRNA) zředěných v HCV negativní lidské plazmě a séru podle CLSI EP06-A.[19] Koncentrace panelů se pohybovala v rozmezí od 1,0 $\log_{10}$ IU/ml do 8,2 $\log_{10}$ IU/ml. Test Aptima HCV Quant Dx Assay prokázal linearitu v celém testovaném rozsahu s horním limitem kvantifikace (ULoQ) 8,0 $\log_{10}$ IU/ml, jak znázorňuje Obrázek 6.



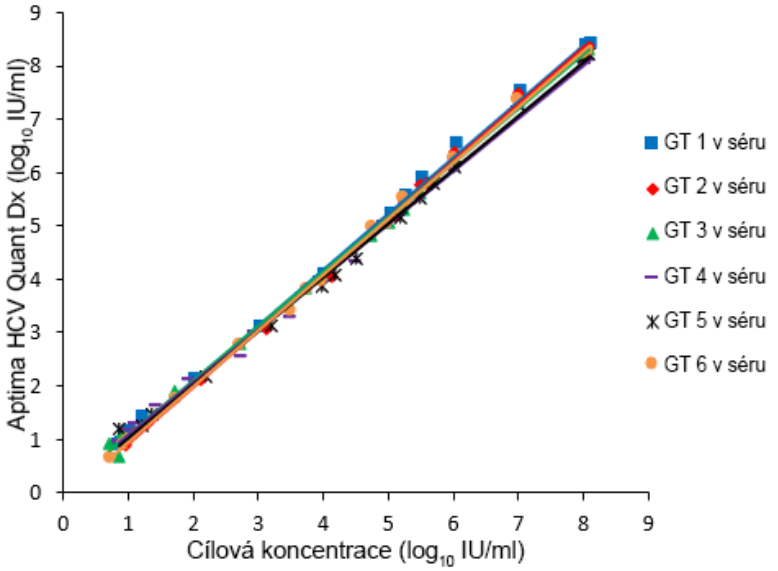
Obrázek 6. Linearita v plazmě a séru

Linearita napříč genotypy HCV

Linearita a lineární rozsah genotypů HCV 1 (1a u plazmy a 1b u séra) až 6 byla stanovena testováním jednotlivých ředěných klinických pozitivních vzorků – jedním na každý genotyp HCV k určení dolního rozsahu testu v kombinaci s aRNA (HCV 1a) k určení horního rozsahu testu (více než 100 000 IU/ml). U všech genotypů byly testovány vzorky ředěné v negativní lidské plazmě i séru. Linearita byla prokázána u všech šesti genotypů v celém zkušebním rozmezí, jak znázorňuje Obrázek 7 v případě plazmy a Obrázek 8 v případě séra.



Obrázek 7. Lineární rozsah a linearita (plazma)



Obrázek 8. Lineární rozsah a linearita (sérum)

Dolní limit kvantifikace s použitím 2. mezinárodního standardu WHO

Dolní limit kvantifikace (LLoQ) je definován jako nejnižší koncentrace, při které je RNA HCV spolehlivě kvantifikována s celkovou chybou dle normy CLSI EP17-A2.[18] Celková chyba byla odhadnuta dvěma způsoby: Celková analytická chyba (TAE) = |odchylka| + 2SD a celková chyba (TE) = SQRT (2) × 2SD. Aby byla zajištěna správnost a přesnost měření, byla celková chyba testu Aptima HCV Quant Dx Assay nastavena na 1 $\log_{10}$ IU/ml (tj. na LLoQ je rozdíl mezi dvěma měřeními větší než 1 $\log_{10}$ IU/ml statisticky významný).

LLoQ byl stanoven testovacími panely dle 2. mezinárodního standardu WHO pro RNA viru hepatitidy C (NIBSC 96/798, genotyp 1) zředěnou v HCV negativní lidské plazmě a séru. Šestatřicet (36) replikátů každého zředění bylo testováno s každou ze tří šarží reagencií, tedy minimálně 108 replikátů na každé zředění. Výsledky ze šarže reagencií s nejvyšší koncentrací rovnou nebo větší než LoD a splňující požadavky na TE a TAE uvádí Tabulka 4 pro plazmu a Tabulka 5 pro sérum. LLoQ pro 2. mezinárodní standard WHO je 7 IU/ml (0,82 $\log_{10}$ IU/ml) pro plazmu a 9 IU/ml (0,93 $\log_{10}$ IU/ml) pro sérum, jak shrnuje Tabulka 6. LLoQ byl stanoven u všech genotypů (viz část *Stanovení dolního limitu kvantifikace (LLoQ) napříč genotypy HCV*). Tato data genotypu stanovují celkový LLoQ pro test jako 10 IU/ml.

Tabulka 4: LLoQ s použitím 2. mezinárodního standardu WHO pro HCV zředěné v plazmě

Šarže reagencie	Aptima HCV Quant Dx	Aptima HCV Quant Dx	SD	Vychýlení	Vypočítaná TE	Vypočítaná TAE
	(IU/ml)	($\log_{10}$ IU/ml)	($\log_{10}$ IU/ml)	($\log_{10}$ IU/ml)	($\log_{10}$ IU/ml)	($\log_{10}$ IU/ml)
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

SD = směrodatná odchylka

Tabulka 5: LLoQ s použitím 2. mezinárodního standardu WHO pro HCV zředěný v séru

Šarže reagencie	Aptima HCV Quant Dx	Aptima HCV Quant Dx	SD	Vychýlení	Vypočítaná TE	Vypočítaná TAE
	(IU/ml)	($\log_{10}$ IU/ml)	($\log_{10}$ IU/ml)	($\log_{10}$ IU/ml)	($\log_{10}$ IU/ml)	($\log_{10}$ IU/ml)
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

SD = směrodatná odchylka

Tabulka 6: Souhrn LLoQ s použitím 2. mezinárodního standardu WHO pro HCV

Šarže reagencie	LLoQ v plazmě		LLoQ v séru	
	IU/ml	log_{10} IU/ml	IU/ml	log_{10} IU/ml
1	5	0,73	8	0,93
2	7	0,82	8	0,89
3	6	0,76	5	0,71

Stanovení dolního limitu kvantifikace (LLoQ) napříč genotypy HCV

LLoQ byl stanoven testováním zředěných HCV pozitivních klinických vzorků pro genotypy 1, 2, 3, 4, 5 a 6 v HCV negativní lidské plazmě a séru. Koncentrace v klinických vzorcích byla stanovena srovnávacím testem. Šestatřicet (36) replikátů každého článku panelu bylo testováno s každou ze tří šarží reagencií, tedy minimálně 108 replikátů na jeden článek panelu. Výsledky ze šarže reagencií s nejvyšší koncentrací rovnou nebo větší než LoD a splňující požadavky na TE a TAE vypočítanými podle pokynů CLSI EP 17-A2[18] uvádí Tabulka 7 pro plazmu a Tabulka 8 pro sérum. Tabulka 7 a Tabulka 8 níže u každého genotypu uvádějí pouze jeden výsledek vyšší a nižší než LLoQ, jelikož tyto výsledky nejlépe odpovídají očekávanému LLoQ. LLoQ genotypů 1 až 6 v plazmě a séru shrnuje Tabulka 9. Genotyp 6 měl nejvyšší LLoQ v séru s hodnotou 10 IU/ml. Tím byl stanoven celkový LLoQ pro test na hodnotu 10 IU/ml.

Tabulka 7: Stanovení LLoQ jednotlivých genotypů v plazmě

Genotyp	Aptima HCV Quant Dx[a] (IU/ml)	Aptima HCV Quant Dx[a] (log_{10} IU/ml)	SD (log_{10} IU/ml)	Vychýlení (log_{10} IU/ml)	Vypočítaná TE (log_{10} IU/ml)	Vypočítaná TAE (log_{10} IU/ml)
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

SD = směrodatná odchylka

[a]Měřeny byly i další koncentrace, data však v tabulce nejsou uvedena.

Tabulka 8: Stanovení LLoQ napříč genotypy v séru

Genotyp	Aptima HCV Quant Dx[a] (IU/ml)	Aptima HCV Quant Dx[a] (log_{10} IU/ml)	SD (log_{10} IU/ml)	Vychýlení (log_{10} IU/ml)	Vypočítaná TE (log_{10} IU/ml)	Vypočítaná TAE (log_{10} IU/ml)
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

SD = směrodatná odchylka

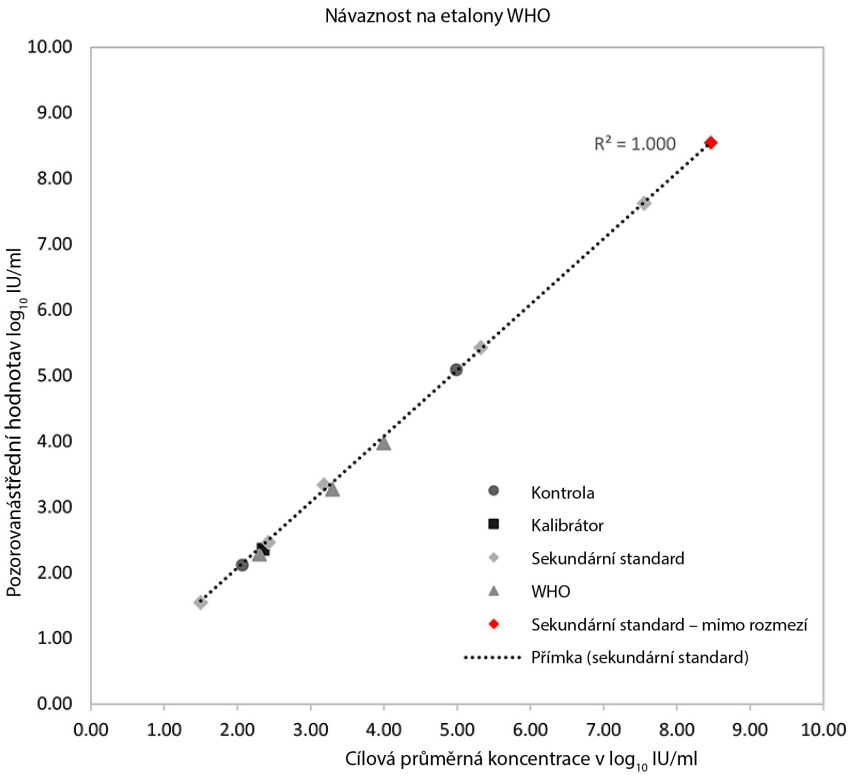
[a]Měřeny byly i další koncentrace, data však v tabulce nejsou uvedena.

Tabulka 9: Souhrn LLoQ napříč genotypy v plazmě a séru

HCV genotyp	LLoQ v plazmě		LLoQ v séru	
	IU/ml	log_{10} IU/ml	IU/ml	log_{10} IU/ml
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

Návaznost na standard WHO

Při vývoji a výrobě tohoto produktu byla použita série sekundárních standardů se známými koncentracemi, které zajišťují návaznost na standard WHO. Testované koncentrace standardu WHO pro HCV se pohybovaly v rozmezí od 4,00 do 2,30 $\log_{10}$ IU/ml. Koncentrace sekundárních standardů se pohybovaly v rozmezí od 1,50 do 8,46 $\log_{10}$ IU/ml. Pomocí sekundárních standardů a standardu WHO byly testovány také kontroly a kalibrátory testu Aptima HCV Quant Dx Assay. Všechny panely vzorků vykazovaly podobné výsledky a byly lineárně rozložené po celém lineárním rozsahu testu, jak znázorňuje Obrázek 9.



Obrázek 9. Návaznost koncentrací zaznamenaných testem Aptima HCV Quant Dx Assay na cílové koncentrace druhého standardu WHO pro HCV

Preciznost

Na zkoušku preciznosti testu Aptima HCV Quant Dx byl použit panel vzorků vytvořených rozředěním HCV-pozitivní klinické plazmy a aRNA HCV 1a do HCV-negativní klinické plazmy (dvojice vzorků ze souboru s nejvyšší koncentrací byla aRNA). Rozmezí testu (od 1,86 $\log_{10}$ IU/ml do 7,68 $\log_{10}$ IU/ml) pokrývalo sedm pozitivních vzorků z panelu. Tyto vzorky byly jedním laborantem testovány v sériích po třech replikátech, a to s použitím jedné pilotní šarže reagencií v jednom systému Panther v průběhu 21 dní, kdy každý den proběhly dvě série měření.

Tabulka 10 ukazuje preciznost výsledků testu (v $\log_{10}$ IU/ml) mezi sériemi měření, v rámci série měření a celkově. Celková variabilita u všech vzorků z panelu byla ≤ 0,14, především kvůli variabilitě v rámci série měření (tj. náhodné chybě).

Tabulka 10: Preciznost testu Aptima HCV Quant Dx Assay

N	Střední koncentrace (IU/ml)	Střední koncentrace ($\log_{10}$ IU/ml)	Mezi dny SD	Mezi sériemi SD	V rámci série SD	Celkem SD
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

SD = směrodatná odchylka

[a]Počet platných výsledků v lineárním rozsahu testu.

Poznámka: Variabilita některých faktorů může být číselně negativní, což může nastat, pokud je variabilita způsobená těmito faktory velmi malá. Když k tomu dojde, hodnota SD je uvedena jako 0,00.

Potenciálně interferující látky

Byla vyhodnocena citlivost testu Aptima HCV Quant Dx Assay na interferenci se zvýšenými hladinami endogenních látek nebo léky běžně předepisovanými jedincům infikovaným HCV. Testovány byly vzorky HCV-negativní plazmy a vzorky obohacené o HCV na koncentraci RNA HCV přibližně 15 IU/ml (1,2 $\log_{10}$ IU/ml) nebo 1 995 IU/ml (3,3 $\log_{10}$ IU/ml).

V přítomnosti albuminu (90 mg/ml), hemoglobinu (5 mg/ml), triglyceridů (30 mg/ml) nebo nekonjugovaného bilirubinu (0,2 mg/ml) žádná interference s testem pozorována nebyla.

Testem Aptima HCV Quant Dx Assay byly měřeny klinické vzorky plazmy od pacientů se zvýšenými hladinami uvedených látek nebo od pacientů s uvedenými nemocemi (od každé látky deset vzorků). Tabulka 11 uvádí seznam látek a nemocí. Během provádění testu nebyla pozorována žádná interference.

Tabulka 11: Typy testovaných klinických vzorků

	Typy klinických vzorků
1	Revmatoidní faktor (RF)
2	Antinukleární protilátky (ANA)
3	Protilátky anti-Jo-1 (JO-1)
4	Systémový lupus erythematodes (SLE)
5	Revmatoidní artritida (RA)
6	Roztroušená skleróza (MS)
7	Hyperglobulinémie
8	Zvýšená alaninaminotransferáza (ALT)
9	Zvýšená aspartátaminotransferáza (AST)
10	Alkoholická cirhóza (AC)
11	Mnohočetný myelom (MM)
12	Lipémie (zvýšená hladina lipidů)
13	Ikterus (zvýšený bilirubin)
14	Hemolýza (zvýšený hemoglobin)
15	Zvýšený protein albumin
16	Protilátky proti HBV
17	Protilátky proti HIV-1
18	Protilátky proti HIV-2

V přítomnosti exogenních látek, které uvádí Tabulka 12, nebyla při koncentracích alespoň trojnásobku C_{max} (lidská plazma) během provádění testu pozorována žádná interference.

Tabulka 12: Exogenní látky

Skupina exogenních látek	**Testované exogenní látky**
1	Telaprevir, klaritromycin, interferon alfa-2a, dolutegravir, azithromycin
2	Simeprevir, sofosbuvir
3	Efavirenz, boceprevir, pegylovaný interferon alfa-2b, emtricitabin, raltegravir, amoxicilin
4	Abacavir sulfát, ribavirin, dasabuvir, rilpivirin, rifampin/rifampicin
5	Lopinavir, tenofovir, lamivudin, valganciklovir
6	Heparin, EDTA, citrát sodný

Analytická funkce u vzorků negativních na HCV

Specificita byla stanovena pomocí 198 čerstvých a 538 zmrazených HCV negativních klinických vzorků. Schválenými testy bylo jako HCV-negativní ověřeno celkem 370 vzorků plazmy a 366 vzorků séra. Specificita byla vypočtena jako procento HCV negativních vzorků s výsledky „Nedetekováno“. RNA HCV nebyla detekována ve všech 736 vzorcích. Specificita byla 100% (736/736, 95% CI: 99,6–100 %).

Tabulka 13: Analytická funkce u klinických vzorků plazmy a séra negativních na HCV

	Čerstvá plazma	Zmrazená plazma	Plazma celkem	Čerstvé sérum	Zmrazené sérum	Sérum celkem	Kombinované
Platných replikátů (n)	100	270	370	98	268	366	736
Nedetekováno	100	270	370	98	268	366	736
Specificita (95% CI)	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)

CI = interval spolehlivosti

Analytická specificita

Potenciální zkřížená reaktivita na patogeny (Tabulka 14) byla vyhodnocena v HCV-negativní lidské plazmě v přítomnosti nebo nepřítomnosti přibližně 15 IU/ml (1,2 $\log_{10}$ IU/ml) nebo 1 995 IU/ml (3,3 $\log_{10}$ IU/ml) HCV. Nebyla pozorována žádná zkřížená reaktivita. V přítomnosti patogenů nebyla pozorována žádná interference.

Tabulka 14: Patogeny testované na analytickou specificitu

Patogen	Koncentrace	
Virus hepatitidy A	100 000	kopie/ml
Virus hepatitidy B (HBV)	100 000	IU/ml[a]
Virus hepatitidy G	1 470	genom/ml
HIV-1	100 000	kopie/ml
HIV-2	100 000	PFU/ml[b]
Herpes simplex virus 1 (HSV-1)	100 000	PFU/ml
Herpes simplex virus 2 (HSV-2)	100 000	PFU/ml
Lidský herpes virus 6B	100 000	kopie/ml
Lidský herpes virus 8	2 667	TCID50 U/ml[c]
Lidský T-lymfotropní virus typu 1 (HTLV-1)	100 000	vp/ml[d]
Lidský T-lymfotropní virus typu 2 (HTLV-2)	100 000	vp/ml
Parvovirus B19	100 000	IU/ml
Virus západonilské horečky	100 000	PFU/ml
Virus horečky dengue 1	100 000	PFU/ml
Virus horečky dengue 2	100 000	PFU/ml
Virus horečky dengue 3	100 000	PFU/ml
Virus horečky dengue 4	100 000	PFU/ml
Cytomegalovirus	100 000	PFU/ml
Epstein-Barr virus	100 000	kopie/ml
Virus zarděnek	100 000	PFU/ml
Lidský papillomavirus	100 000	buněk/ml
Adenovirus typu 5	100 000	TCID50 U/ml
Virus influenzy A	100 000	TCID50 U/ml
Virus japonské encefalitidy	NA	NA
Virus encefalitidy St. Louis	NA	NA
Virus encefalitidy Murray Valley	2 643	LD50/ml[e]
Virus žluté zimnice	100 000	buněk/ml

Patogen	Koncentrace	
Corynebacterium diphtheriae	1 000 000	CFU/ml[f]
Streptococcus pneumoniae	1 000 000	CFU/ml
Staphylococcus aureus	1 000 000	CFU/ml
Propionibacterium acnes	1 000 000	CFU/ml
Staphylococcus epidermidis	1 000 000	CFU/ml
Candida albicans	1 000 000	CFU/ml
Neisseria gonorrhoeae	1 000 000	CFU/ml
Chlamydia trachomatis	1 000 000	IFU/ml[g]
Trichomonas vaginalis	1 000 000	buněk/ml

[a]IU/ml = mezinárodní jednotky na ml
[b]PFU/ml = plakotvorné jednotky na ml
[c]TCID50 U/ml = infekční dávkové jednotky tkáňové kultury na ml
[d]vp/ml = virové částice na ml
[e]LD50/ml = smrtelná dávka na ml
[f]CFU/ml = kolonie tvořící jednotky na ml
[g]IFU/ml = jednotky tvořící inkluzi na ml

Klinické vzorky obsahující jiné viry než HCV

Patogeny, které uvádí Tabulka 15 byly stanoveny při získání jednotlivých přirozeně infikovaných klinických vzorků. Byly testovány v přítomnosti nebo nepřítomnosti přibližně 15 IU/ml (1,2 $\log_{10}$ IU/ml) nebo 1 995 IU/ml (3,3 $\log_{10}$ IU/ml) viru HCV. Nebyla pozorována žádná zkřížená reaktivita. Nebyla pozorována žádná interference.

Tabulka 15: Klinické vzorky testované na analytickou specificitu

Mikroorganismus	Matrice	N (dárci)
HBV	Sérum	5
HBV	Plazma	5
Virus Dengue	Plazma	10
Virus hepatitidy A	Plazma	10
HTLV-1	Plazma	10
HTLV-2	Plazma	10
HIV-1	Plazma	10
Virus západonilské horečky	Plazma	10

Rovnocennost matric

Rovnocennost matric byla zkoušena otestováním sto sedmdesáti šesti souborů vzorků v odpovídajících zkumavkách na odběr krve (sérová zkumavka, SST, PPT, ACD, K2 EDTA nebo K3 EDTA). Z těchto souborů vzorků bylo 68 přirozeně infikovaných HCV a 108 bylo HCV-negativních. Šestadvacet z 68 pozitivních vzorků bylo dále naředěno 13 negativními vzorky v odpovídajících zkumavkách na odběr krve v poměrech 1 : 10, 1 : 100 a 1 : 1 000 nebo 1 : 100, 1 : 10 000 a 1 : 100 000 s koncentracemi v celém dynamickém rozsahu testu (146 pozitivních replikátů na odběrnou zkumavku). Korelace byla změřena s použitím zkumavky na odběr séra jako komparátorem.

Tabulka 16: Studie rovnocennosti matric

Zkumavka na odběr krve	Demingova regrese	95% CI směrnice		95% CI posunu		R^2	Střední rozdíl ($\log_{10}$)
		Dolní limit	Horní limit	Dolní limit	Horní limit		
SST	y = 1,00× − 0,01	0,99	1,01	−0,05	0,07	0,998	0,00
K2 EDTA	y = 1,01× − 0,03	0,99	1,02	−0,12	−0,07	0,995	0,00
K3 EDTA	y = 1,00× − 0,01	0,98	1,01	−0,10	0,07	0,996	−0,02
ACD	y = 1,00× − 0,14	0,99	1,01	−0,20	−0,08	0,997	−0,13
PPT	y = 1,00× − 0,01	0,98	1,01	−0,10	0,08	0,996	−0,01

Ředění vzorků roztokem k ředění vzorků Aptima (1 : 3)

K určení přesnosti detekce RNA HCV ve vzorcích plazmy či séra ředěných roztokem k ředění vzorků Aptima byly tímto ředicím roztokem v poměru 1 : 3 naředěny vzorky s koncentrací od 1,67 log_{10} IU/ml do 6,34 log_{10} IU/ml (sloučením 240 µl vzorku a 480 µl roztoku k ředění vzorků Aptima). Každý vzorek byl třikrát testován čistý a zředěný (1 : 3). K testování se použila jedna šarže testovacích reagencií v jednom systému Panther se dvěma šaržemi roztoku k ředění vzorků Aptima. U každého souboru vzorků byl vypočítán rozdíl mezi původními a naředěnými vzorky, jak uvádí Tabulka 17 pro plazmu a Tabulka 18 pro sérum.

Tabulka 17: Souhrn srovnání matric vzorků plazmy s ředěním v poměru 1 : 3 v log_{10} IU/ml

Plazmová matrice Průměrná naměřená koncentrace (log_{10} IU/ml) n = 3	Ředicí roztok Průměrná naměřená koncentrace (log_{10} IU/ml) n = 6	Rozdíl ředěných a neředěných vzorků (log_{10} IU/ml)
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]Výsledek ze dvou replikátů. U jednoho měření došlo k detekci, nikoli však ke kvantifikaci.
[b]Výsledky ze čtyř replikátů. U dvou měření došlo k detekci, nikoli však ke kvantifikaci.

Tabulka 18: Souhrn srovnání matric vzorků séra s ředěním v poměru 1 : 3 v log_{10} IU/ml

Sérová matrice Průměrná naměřená koncentrace (log_{10} IU/ml) n = 3	Ředicí roztok Průměrná naměřená koncentrace (log_{10} IU/ml) n = 6	Rozdíl ředěných a neředěných vzorků (log_{10} IU/ml)
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]Výsledek ze dvou replikátů. U jednoho měření došlo k detekci, nikoli však ke kvantifikaci.

Ředění vzorků roztokem k ředění vzorků Aptima (1 : 100)

K určení přesnosti detekce RNA HCV ve vzorcích plazmy či séra ředěných roztokem k ředění vzorků Aptima bylo v sériích se třemi replikáty otestováno pět přirozeně infikovaných vzorků plazmy, pět přirozeně infikovaných vzorků séra a po deseti vzorcích HCV-negativní plazmy a séra obohacených aRNA HCV na 8,30 log_{10} IU/ml (aby byl překročen ULoQ 8 log_{10} IU/ml). Ředicího poměru 1 : 100 bylo dosaženo smísením jednoho dílu vzorku a 99 dílů roztoku k ředění vzorků Aptima krátce před testováním. K testování se použila jedna šarže testovacích reagencií v jednom systému Panther se dvěma šaržemi roztoku k ředění vzorků Aptima. U každého souboru vzorků byl vypočítán rozdíl mezi původními a naředěnými vzorky, jak uvádí Tabulka 19 pro plazmu a Tabulka 20 pro sérum.

Tabulka 19: Souhrn srovnání matric vzorků plazmy s ředěním v poměru 1 : 100 v log_{10} IU/ml

Matrice	Ředění	Plazmová matrice Průměrná naměřená koncentrace (log_{10} IU/ml) n = 3	Ředicí roztok Průměrná naměřená koncentrace (log_{10} IU/ml) n = 6	Rozdíl
Plazma	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]Obohacený vzorek

Tabulka 20: Souhrn srovnání matric vzorků séra s ředěním v poměru 1 : 100 v log_{10} IU/ml

Matrice	Ředění	Sérová matrice Průměrná naměřená koncentrace (log_{10} IU/ml) n = 3	Ředicí roztok Průměrná naměřená koncentrace (log_{10} IU/ml) n = 6	Rozdíl
Sérum	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]Obohacený vzorek

[b]Výsledek dvou ze tří testovaných replikátů. Jeden odlehlý replikát byl odstraněn.

Ověření LLoQ u klinických vzorků ředěných roztokem k ředění vzorků

LLoQ testu Aptima HCV Quant Dx Assay byl ověřen na klinických vzorcích HCV genotypu 1 ředěných roztokem k ředění vzorků Aptima. Tyto vzorky byly připraveny z HCV-negativní lidské plazmy a séra v koncentracích 21, 30 a 45 IU/ml. Každý panel vzorků byl krátce před testováním naředěn roztokem k ředění vzorků Aptima v poměru 1 : 3 na konečnou koncentraci přibližně 7, 10 a 15 IU/ml. V průběhu tří dnů bylo jednou šarží reagencií otestováno celkem šestatřicet (36) replikátů každého vzorku z panelu. Tímto testováním byl LLoQ HCV ve vzorcích plazmy nebo séra ředěných roztokem k ředění vzorků Aptima potvrzen jako ≤ 10 IU/ml. Tabulka 21 uvádí jednotlivé výsledky.

Tabulka 21: Ověření LLoQ – klinické vzorky v roztoku k ředění vzorků Aptima

Matrice	Cílová koncentrace (IU/ml)	Cílová koncentrace (log_{10} IU/ml)	% Detekován	Aptima HCV Quant Dx (IU/ml)	Aptima HCV Quant Dx (log_{10} IU/ml)	SD (log_{10} IU/ml)	Vychýlení (log_{10} IU/ml)	Vypočítaná TE (log_{10} IU/ml)	Vypočítaná TAE (log_{10} IU/ml)
Plazma	7	0,85	100%	9	0,94	0,25	0,10	0,71	0,60
Sérum	7	0,85	100%	9	0,96	0,21	0,12	0,60	0,54

Preciznost u ředěných vzorků

Na zkoušku preciznosti testu Aptima HCV Quant Dx Assay byl použit panel vzorků vytvořených rozředěním HCV-pozitivní klinické plazmy a aRNA HCV do HCV-negativní klinické plazmy. Tyto vzorky byly dále naředěny roztokem k ředění vzorků Aptima. Pozitivní panely vzorků byly rozředěny roztokem k ředění vzorků Aptima. Testování provedl jeden laborant v sériích se třemi replikáty pomocí jedné pilotní šarže reagencií v jednom systému Panther, a to v rámci dvou sérií měření denně po dobu 21 dnů.

Tabulka 22 ukazuje preciznost výsledků testu (v $\log_{10}$ IU/ml) mezi sériemi měření, v rámci série měření, mezi dny a celkově. Celková variabilita u všech vzorků z panelu byla ≤ 0,15, především kvůli variabilitě v rámci série měření (tj. náhodné chybě).

Tabulka 22: Ověření preciznosti u panelů vzorků ředěných v roztoku k ředění vzorků Aptima

Ředění	N	Střední koncentrace ($\log_{10}$ IU/ml)	Standardní odchylka			
			Mezi dny	Mezi sériemi	V rámci série	Celkem
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]Počet platných výsledků v lineárním rozsahu testu.

Poznámka: *Variabilita některých faktorů může být číselně negativní, což může nastat, pokud je variabilita způsobená těmito faktory velmi malá. Když k tomu dojde, hodnota SD a CV je uvedena jako 0.*

Přenos

Aby se prokázalo, že systém Panther minimalizuje riziko falešně pozitivních výsledků vyplývajících z křížové kontaminace, byla provedena studie s použitím obohacených panelů vzorků na třech systémech Panther. Křížová kontaminace byla hodnocena pomocí vzorků plazmy obohacených o vysokou koncentraci aRNA (7 $\log_{10}$ IU/ml) rozptýlených mezi HCV-negativními vzorky v šachovnicovém vzoru. Testování proběhlo v patnácti sériích měření. Celková míra křížové kontaminace byla 0,14 % (1/704).

Panel sérokonverze

Bylo testováno jedenáct sad sérokonverzních panelů HCV, celkem 72 vzorků. Výsledky testu Aptima HCV Quant Dx Assay byly porovnány s výsledky testu protilátek proti HCV. Počet dní do prvního reaktivního výsledku uvádí Tabulka 23. Test Aptima HCV Quant Dx Assay detekoval přítomnost HCV v průměru o 20 dní dříve než testy na protilátky.

Tabulka 23: Souhrn údajů panelu sérokonverze

ID panelu	Počet testovaných členů panelu	Počet reaktivních členů panelu			Počet dní do prvního reaktivního výsledku			Rozdíl ve dnech do prvního reaktivního výsledku (na základě data odběru)	
		Aptima HCV Quant Dx	Test 1 na protilátky proti HCV	Test 2 na protilátky proti HCV	Aptima HCV Quant Dx	Test 1 na protilátky proti HCV	Test 2 na protilátky proti HCV	Dnů před testem 1 na protilátky proti HCV	Dnů před testem 2 na protilátky proti HCV
PHV911	4	4	3	3	3[a]	14	14	11	11
PHV913	4	4	0	2	0	9[b]	7	9	7
PH919	7	4	3	3	25	28	28	3	3
PH920	9	9	7	6	0[c]	13	16	13	16
PH921	11	11	9	7	0	7	18	7	18
PH923	6	6	2	2	0	21	21	21	21
PH924	6	6	3	3	0	59	59	59	59
PH925	5	5	1	1	0	27	27	27	27
PH926	5	5	1	0	0	14	14[b]	14	14
6 227	7	4	2	2	42	74	74	32	32
6 229	8	8	4	3	0	17	20	17	20
Celkem	72	66	35	32			Průměr	19,36	20,73
							Medián	14	18

Test 1 na protilátky proti HCV byl proveden testem Abbott Prism HCV.

Test 2 na protilátky proti HCV byl proveden testem Ortho Enhanced SAVE s následujícími výjimkami:

Panely 6227 a 6229, které byly oba testovány testem Ortho ELISA Anti-HCV 3.0

[a]První krvácení nebylo testováno kvůli nedostupnosti vzorku od dodavatele.

[b]Všechna krvácení v tomto panelu byla nereaktivní na protilátku proti HCV. Poslední den krvácení byl použit jako hodnota „Počet dnů do prvního reaktivního výsledku“.

[c]Druhé krvácení nebylo testováno kvůli nedostupnosti vzorku od dodavatele.

Studie reprodukovatelnosti

Reprodukovatelnost byla hodnocena pomocí systému Panther na třech externích amerických pracovištích. Na každém pracovišti testy prováděli dva laboranti. Každý laborant prováděl dvě série měření denně po dobu tří dnů, a to se třemi šaržemi reagencií. Každá série měření zahrnovala tři replikáty každého vzorku z panelu. Celkem bylo tedy otestováno 108 replikátů každého vzorku z panelu.

Reprodukovatelnost byla testována pomocí vzorků z panelu vyrobených z HCV-negativní plazmy. Pozitivní vzorky z panelu byly pozitivní na genotyp 1, genotyp 2, nebo genotyp 3. Koncentrace RNA HCV pokryly celé lineární rozmezí testu.

Tabulka 24 uvádí reprodukovatelnost a preciznost výsledků testu u jednotlivých pozitivních vzorků z panelu mezi pracovišti, mezi laboranty, mezi šaržemi, mezi dny, mezi sériemi měření, v rámci série měření a celkově, a dále podíl replikátů s výsledky mimo vyhodnotitelné rozmezí testu Aptima HCV Quant Dx Assay.

Variační koeficient byl vypočítán následující rovnicí, kde SD^2 představuje rozptyl souboru dat po transformaci na $\log_{10}$.

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

V případě HCV-negativního vzorku z panelu bylo otestováno 108 replikátů a RNA HCV nebyla stanovena v žádném z nich (negativní shoda = 100 %, 95% CI: 96,6 % až 100 %). U všech HCV-pozitivních vzorků z panelu byla 100% shoda.

Tabulka 24: Reprodukovatelnost stanovení koncentrací RNA HCV v pozitivních vzorcích z panelu testem Aptima HCV Quant Dx Assay v systému Panther

GT	Pozorovaný průměr			Mezi pracovišti	Mezi šaržemi	Mezi laboranty/dny[a]	Mezi sériemi měření	V rámci sérií měření	Celkem		
	N	IU/mL	Log_{10} IU/mL	SD (%CV)	SD (%CV)	SD (%CV)	SD (%CV)	SD (%CV)	SD (%CV)	Dole LLoQ n (%)	Výše 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)

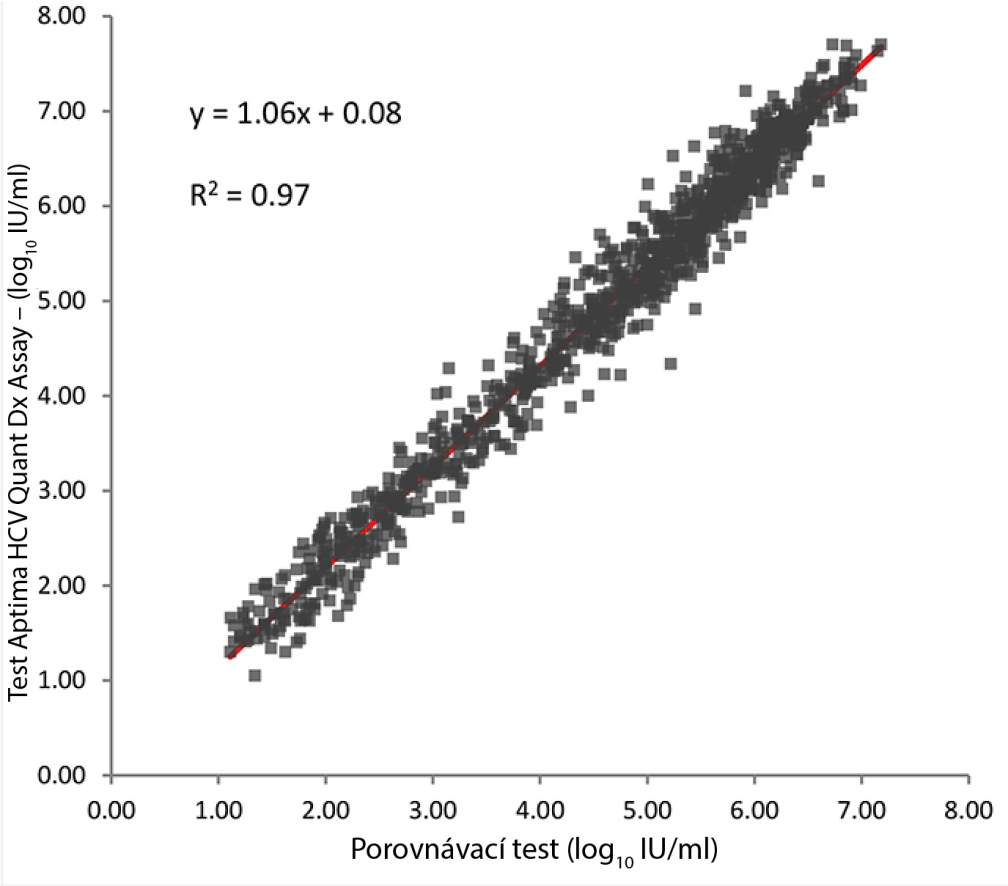
GT	Pozorovaný průměr			Mezi pracovišti	Mezi šaržemi	Mezi laboranty/dny[a]	Mezi sériemi měření	V rámci sérií měření	Celkem		
	N	IU/mL	Log_{10} IU/mL	SD (%CV)	SD (%CV)	SD (%CV)	SD (%CV)	SD (%CV)	SD (%CV)	Dole LLoQ n (%)	Výše ULoQ n (%)
3	107	8,6	0,9	0,049 (11,32)	0,103 (24,05)	0,056 (12,95)	0,000 (0,00)	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)

V_x v % = logaritmicko-normální variační koeficient, GT = genotyp a SD = směrodatná odchylka (log_{10} IU/ml).
Poznámka: Variabilita některých koeficientů může dosahovat záporných číselných hodnot. K tomu dochází v případě, že je variabilita u těchto faktorů velmi nízká. V takových případech je hodnota SD a V_x uvedena jako 0.
[a]Odchylku mezi laboranty je možné nedopatřením zaměnit s odchylkou mezi dny, tyto hodnoty jsme proto sloučili do jedné.

Klinická funkčnost

Korelace metod

Funkční způsobilost testu Aptima HCV Quant Dx Assay byla hodnocena pomocí srovnávacího testu s označením CE testováním neředěných klinických vzorků od pacientů infikovaných HCV na třech systémech Panther pomocí čtyř šarží reagencií. K lineární regresi bylo použito celkem 1 058 vzorků plazmy a séra (872 plazmy a 186 séra) napříč všemi HCV genotypy v lineárním rozsahu společném pro oba testy, jak uvádí Obrázek 10.



Obrázek 10. Korelace mezi testem Aptima HCV Quant Dx Assay a srovnávacím testem

Studie klinického využití

Tato studie byla provedena k prokázání klinického využití, a to přibližným určením funkčních charakteristik k dosažení setrvalé virologické odpovědi (SVR) nebo nesetrvalé virologické odpovědi (NSVR) ve stanovených klinicky relevantních intervalech během 8-, 12- nebo 24týdenní antivirové léčby. Součástí studie bylo také hodnocení vlivu dalších proměnných (tj. věku, pohlaví, etnické skupiny, výchozí koncentrace RNA HCV a přítomnosti nebo nepřítomnosti cirhózy) na SVR.

Vzorky byly prospektivně odebírány subjektům s chronickou infekcí HCV genotypu 1, 2 nebo 3, které začaly 8-, 12- nebo 24týdenní léčbu léčivými přípravky obsahujícími sofosbuvir (schválenými úřadem FDA), které byly předepisovány podle oficiálních pokynů k léčbě HCV vydaných institucemi FDA, AASLD či IDSA.[20,21] Přiřazený režim léčby se lišil podle toho, zda byl HCV u subjektu léčen poprvé a zda subjekt trpěl kompenzovanou cirhózou.

Virová zátěž RNA HCV byla testem Aptima HCV Quant Dx Assay stanovena před léčbou, po 1 týdnu, po 2 týdnech, po 4 týdnech, po 8 týdnech, po 12 týdnech a po 24 týdnech. Hodnoty na konci léčby a 4 a 12 týdnů po ukončení léčby byly změřeny testem Aptima HCV Quant Dx Assay a dvojicí schválených kvantitativních testů RNA HCV. SVR byla definována jako koncentrace RNA HCV < LLoQ určený schváleným kvantitativním testem u vzorku odebraného 12 týdnů po ukončení léčby.

Z celkem 352 subjektů z 35 amerických klinických pracovišť mělo 274 subjektů průkazný stav SVR, a tudíž byli vhodní k analýze. U 56 subjektů nebylo možné stav SVR určit, tyto osoby proto do analýzy zahrnuty nebyly. U dalších 22 subjektů stav SVR průkazný byl, kvůli chybějícím hodnotám před léčbou, nedosažení LLoQ či nedetekovatelnosti u všech vzorků odebraných během léčby nebo neurčení genotypu schváleným testem však nebyly hodnotitelné. V této studii 90,5 % (248/274) subjektů dosáhlo SVR a 9,5 % (26/274) dosáhlo NSVR (číselné hodnoty podle genotypu a přiřazeného způsobu léčby uvádí Tabulka 31 až Tabulka 33). Dle testu Aptima HCV Quant Dx Assay byla nejvyšší virová zátěž před léčbou 7,58 $\log_{10}$ IU/ml. Všechny hodnotitelné subjekty léčbu dokončily a u žádného nedošlo k selhání léčby (např. k absenci odpovědi). Celkem bylo všem subjektům v různých intervalech odebráno 2 449 vzorků, které byly testovány ve třech amerických zkušebních laboratořích.

Tabulka 25 udává demografické a klinické údaje 274 hodnotitelných subjektů.

Tabulka 25: Demografické a klinické údaje

Údaje		
Celkem	N	274
Pohlaví	Žena, n (%)	112 (40,9)
	Muž, n (%)	162 (59,1)
Věk (roky)	n	274
	Průměr	55,1
	Medián	56,0
	SD	10,40
	Minimum	23
	Maximum	83
	21–49, n (%)	61 (22,3)
	50–70, n (%)	203 (74,1)
	> 70, n (%)	10 (3,6)
Etnikum	n	274
	Hispánské či latinskoamerické, n (%)	65 (23,7)
	Jiné než hispánské či latinskoamerické, n (%)	202 (73,7)
	Neznámé, n (%)	6 (2,2)
	Neuvedené, n (%)	1 (0,4)
Rasa[a]	n	274
	Běloši, n (%)	223 (81,4)
	Černoši a Afroameričané, n (%)	43 (15,7)
	Asiaté, n (%)	1 (0,4)
	Původní obyvatelé USA a Aljašky, n (%)	3 (1,1)
	Původní Havajci a Pacifičtí ostrované, n (%)	0 (0,0)
	Jiná, n (%)	3 (1,1)
	Neznámá, n (%)	1 (0,4)
	Neuvedená, n (%)	0 (0,0)
Genotyp	n	274
	Genotyp 1, n (%)	158 (57,7)
	Genotyp 2, n (%)	66 (24,1)
	Genotyp 3, n (%)	50 (18,2)
Zkušenost s léčbou HCV	n	274
	Ne, n (%)	232 (84,7)
	Ano, n (%)	42 (15,3)
	Relaps, n (%)	32 (76,2)
	Nedostatečná odpověď, n (%)	1 (2,4)
	Bez odpovědi, n (%)	2 (4,8)
	Částečná odpověď, n (%)	3 (7,1)
	Infekce navzdory profylaxi, n (%)	1 (2,4)
	Zhoršení, n (%)	0 (0,0)
	Neznámá odpověď na léčbu, n (%)	3 (7,1)
	Neznámá, n (%)	0 (0,0)
Přítomnost cirhózy	n	274
	S cirhózou, n (%)	98 (35,8)
	Bez cirhózy, n (%)	176 (64,2)

[a]Subjekty mohly uvádět více ras.

Tabulka 26 uvádí konečné rozřazení režimů léčby u 274 hodnocených subjektů.

Tabulka 26: Souhrn konečného rozřazení režimů léčby podle genotypu

Přiřazený režim léčby	Genotyp HCV n (%)		
	1	**2**	**3**
Sofosbuvir, peginterferon a ribavirin po dobu 12 týdnů	25 (15,8)	–	3 (6,0)
Sofosbuvir a simeprevir nebo ribavirin po dobu 12 týdnů	63 (39,9)	–	–
Sofosbuvir a simeprevir nebo ribavirin po dobu 24 týdnů	4 (2,5)	–	–
Sofosbuvir a ribavirin po dobu 12 týdnů	–	66 (100)	–
Sofosbuvir a ribavirin po dobu 24 týdnů	6 (3,8)	–	47 (94,0)
Ledipasvir a sofosbuvir po dobu 8 týdnů	14 (8,9)	–	–
Ledipasvir a sofosbuvir po dobu 12 týdnů	39 (24,7)	–	–
Ledipasvir a sofosbuvir po dobu 24 týdnů	7 (4,4)	–	–
Celkový počet způsobilých subjektů	158	66	50

Tabulka 27 uvádí vyhodnocení základních kovariát (věku, rasy, pohlaví, virové zátěže HCV před léčbou [binární proměnná] a přítomnosti cirhózy) a SVR pomocí poměru šancí (odds ratio – OR) s jednorozměrnou logistickou regresní analýzou. Výsledky všech 274 hodnotitelných subjektů byly zhodnoceny podle genotypu HCV. V případě genotypů 1 a 2 byla u subjektů s cirhózou menší šance, že dosáhnou SVR (u genotypu 1: OR = 0,16 [95% Waldův CI: 0,04 až 0,63], P = 0,009, u genotypu 2: OR = 0,13 [95% Waldův CI: 0,02 až 0,70], P = 0,017). Hodnoty 95% CI u ostatních kovariát genotypu 1 a 2 a všech kovariát genotypu 3 zahrnovaly hodnotu 1 a nebyly statisticky významné.

Tabulka 27: Vyhodnocení základních prediktorů SVR před léčbou

GT	Kategorie	N	Skupiny	N (%)	Podíl dosažení SVR	Poměr šancí (Waldův 95% CI) s použitím jednorozměrné LR analýzy	Hodnota P
1	Věk	158	≥ 40 let	146 (92,4)	91,8	0 [0–∞)	Nevypočitatelná
			< 40 let	12 (7,6)	100		
	Pohlaví	158	Muži	92 (58,2)	90,2	0,44 (0,11–1,69)	0,231
			Ženy	66 (41,8)	95,5		
	Rasa	158	Běloši	116 (73,4)	94,0	2,10 (0,63–7,03)	0,227
			Ostatní	42 (26,6)	88,1		
	Virová zátěž RNA HCV před léčbou[a]	156	> 740 000 IU/ml	111 (71,2)	92,8	1,26 (0,36–4,40)	0,721
			≤ 740 000 IU/ml	45 (28,8)	91,1		
	Přítomnost cirhózy	158	S cirhózou	57 (36,1)	84,2	0,16 (0,04–0,63)	0,009
			Bez cirhózy	101 (63,9)	97,0		
2	Věk	66	≥ 40 let	60 (90,9)	88,3	1,51 (0,15–14,91)	0,722
			< 40 let	6 (9,1)	83,3		
	Pohlaví	66	Muži	36 (54,5)	86,1	0,69 (0,15–3,15)	0,631
			Ženy	30 (45,5)	90,0		
	Rasa	66	Běloši	61 (92,4)	86,9	0 [0–∞)	Nevypočitatelná
			Ostatní	5 (7,6)	100		
	Virová zátěž RNA HCV před léčbou	66	> 740 000 IU/ml	44 (66,7)	84,1	0,25 (0,03–2,19)	0,211
			≤ 740 000 IU/ml	22 (33,3)	95,5		
	Přítomnost cirhózy	66	S cirhózou	22 (33,3)	72,7	0,13 (0,02–0,70)	0,017
			Bez cirhózy	44 (66,7)	95,5		
3	Věk	50	≥ 40 let	44 (88,0)	86,4	0 [0–∞)	NC
			< 40 let	6 (12,0)	100		
	Pohlaví	50	Muži	34 (68,0)	85,3	0,39 (0,04–3,62)	0,405
			Ženy	16 (32,0)	93,8		
	Rasa	50	Běloši	46 (92,0)	87,0	0 [0–∞)	Nevypočitatelná
			Ostatní	4 (8,0)	100		
	Virová zátěž RNA HCV před léčbou[a]	49	> 740 000 IU/ml	30 (61,2)	83,3	0,28 (0,03–2,59)	0,261
			≤ 740 000 IU/ml	19 (38,8)	94,7		
	Přítomnost cirhózy	50	S cirhózou	19 (38,0)	78,9	0,26 (0,04–1,58)	0,143
			Bez cirhózy	31 (62,0)	93,5		

CI = interval spolehlivosti, GT = genotyp, LR = logistická regrese

[a]Virová zátěž RNA HCV před léčbou nezahrnuje subjekty, které tuto hodnotu neuvedly.

Odpověď na antivirovou léčbu

Funkční charakteristiky testu byly stanoveny u osob s určitým léčebným režimem DAA. O prediktivní hodnotě testu při použití jiných kombinací DAA nejsou dostupné žádné informace.

Definice:

Virová zátěž (VZ) po 1 týdnu = RNA HCV < LLoQ = 10 IU/ml po 1 týdnu antivirové léčby

VZ po 2 týdnech = RNA HCV < LLoQ = 10 IU/ml po 2 týdnech antivirové léčby

VZ po 4 týdnech = RNA HCV < LLoQ = 10 IU/ml po 4 týdnech antivirové léčby

VZ po 8 týdnech = RNA HCV < LLoQ = 10 IU/ml po 8 týdnech antivirové léčby

VZ po 8 týdnech (konec léčby): RNA HCV < LLoQ = po 8 týdnech antivirové léčby

VZ po 12 týdnech = RNA HCV < LLoQ = 10 IU/ml po 12 týdnech antivirové léčby

VZ po 12 týdnech (konec léčby): RNA HCV < LLoQ = po 12 týdnech antivirové léčby

VZ po 24 týdnech (konec léčby): RNA HCV < LLoQ = po 24 týdnech antivirové léčby

Setrvalá virologická odpověď (SVR) po 12 týdnech: RNA HCV < LLoQ po 12 týdnech (tedy po ukončení antivirové léčby) změřená nezávislým testem RNA HCV.

Tabulka 28 udává četnost SVR a Tabulka 29 udává četnost absence SVR s členěním podle genotypu, podávaných léčivých přípravků, přítomnosti cirhózy, a zkušenosti s léčbou. U všech genotypů dosáhla SVR většina subjektů: 92,4 % u genotypu 1, 87,9 % u genotypu 2 a 88,0 % u genotypu 3. U všech genotypů byla SVR častější u subjektů bez cirhózy, zkušenost s léčbou však neměla výrazný vliv.

Tabulka 28: Četnost SVR podle genotypu a užívaných léčivých přípravků

GT	PRL	Subjekty se SVR n (%)				
		Celkově	S cirhózou	Bez cirhózy	Léčené prvně	Léčené již dříve
1	Ledipasvir a sofosbuvir po dobu 8 týdnů	13/14 (92,9)	–	13/14 (92,9)	13/14 (92,9)	–
	Ledipasvir a sofosbuvir po dobu 12 týdnů	39/39 (100)	9/9 (100)	30/30 (100)	34/34 (100)	5/5 (100)
	Ledipasvir a sofosbuvir po dobu 24 týdnů	6/7 (85,7)	6/7 (85,7)	–	–	6/7 (85,7)
	Sofosbuvir, peginterferon a ribavirin po dobu 12 týdnů	24/25 (96,0)	7/7 (100)	17/18 (94,4)	22/23 (95,7)	2/2 (100)
	Sofosbuvir a ribavirin po dobu 24 týdnů	6/6 (100)	1/1 (100)	5/5 (100)	5/5 (100)	1/1 (100)
	Sofosbuvir a simeprevir nebo ribavirin po dobu 12 týdnů	54/63 (85,7)	21/29 (72,4)	33/34 (97,1)	45/54 (83,3)	9/9 (100)
	Sofosbuvir a simeprevir nebo ribavirin po dobu 24 týdnů	4/4 (100)	4/4 (100)	–	2/2 (100)	2/2 (100)
2	Sofosbuvir a ribavirin po dobu 12 týdnů	58/66 (87,9)	16/22 (72,7)	42/44 (95,5)	53/60 (88,3)	5/6 (83,3)
3	Sofosbuvir, peginterferon a ribavirin po dobu 12 týdnů	3/3 (100)	3/3 (100)	–	1/1 (100)	2/2 (100)
	Sofosbuvir a ribavirin po dobu 24 týdnů	41/47 (87,2)	12/16 (75,0)	29/31 (93,5)	35/39 (89,7)	6/8 (75,0)

PRL = přiřazený režim léčby, GT = genotyp, „–“ = u této skupiny pacientů se daný režim léčby nepoužíval

Tabulka 29: Četnost absence SVR podle genotypu a užívaných léčivých přípravků

GT	PRL	Subjekty bez SVR n (%)				
		Celkově	**S cirhózou**	**Bez cirhózy**	**Léčené prvně**	**Léčené již dříve**
1	Ledipasvir a sofosbuvir po dobu 8 týdnů	1/14 (7,1)	–	1/14 (7,1)	1/14 (7,1)	–
	Ledipasvir a sofosbuvir po dobu 12 týdnů	0/39 (0,0)	0/9 (0,0)	0/30 (0,0)	0/34 (0,0)	0/5 (0,0)
	Ledipasvir a sofosbuvir po dobu 24 týdnů	1/7 (14,3)	1/7 (14,3)	–	–	1/7 (14,3)
	Sofosbuvir, peginterferon a ribavirin po dobu 12 týdnů	1/25 (4,0)	0/7 (0,0)	1/18 (5,6)	1/23 (4,3)	0/2 (0,0)
	Sofosbuvir a ribavirin po dobu 24 týdnů	0/6 (0,0)	0/1 (0,0)	0/5 (0,0)	0/5 (0,0)	0/1 (0,0)
	Sofosbuvir a simeprevir nebo ribavirin po dobu 12 týdnů	9/63 (14,3)	8/29 (27,6)	1/34 (2,9)	9/54 (16,7)	0/9 (0,0)
	Sofosbuvir a simeprevir nebo ribavirin po dobu 24 týdnů	0/4 (0,0)	0/4 (0,0)	–	0/2 (0,0)	0/2 (0,0)
2	Sofosbuvir a ribavirin po dobu 12 týdnů	8/66 (12,1)	6/22 (27,3)	2/44 (4,5)	7/60 (11,7)	1/6 (16,7)
3	Sofosbuvir, peginterferon a ribavirin po dobu 12 týdnů	0/3 (0,0)	0/3 (0,0)	–	0/1 (0,0)	0/2 (0,0)
	Sofosbuvir a ribavirin po dobu 24 týdnů	6/47 (12,8)	4/16 (25,0)	2/31 (6,5)	4/39 (10,3)	2/8 (25,0)

PRL = přiřazený režim léčby, GT = genotyp, „–“ = u této skupiny pacientů se daný režim léčby nepoužíval

Tabulka 30 uvádí podíl subjektů s virologickou odpovědí (definovanou jako výsledek testu Aptima HCV Quant Dx Assay < LLoQ) podle jednotlivých genotypů a režimů léčby v daný týden léčby nebo po léčbě. Po 4 týdnech léčby došlo k SVR u většiny subjektů (nezávisle na genotypu) a po 8 týdnech léčby došlo k SVR u všech subjektů.

Tabulka 30: Pravděpodobnost dosažení SVR v průběhu léčby a po léčbě

GT	PRL	N	Dosažení SVR % (n)	Nedosažení SVR % (n)	Podíl subjektů s virologickou odpovědí v daných intervalech[a] % (n)						
					Týdny					KL	4PUL
					1	2	4	8	12		
1	LDV + SOF (8 týdnů)	14	92,9 (13/14)	7,1 (1/14)	42,9 (6/14)	76,9 (10/13)	100 (14/14)	–	–	100 (14/14)	90 (9/10)
	LDV + SOF (12 týdnů)	39	100 (39/39)	0,0 (0/39)	11,1 (4/36)	52,6 % (20/38)	92,1 (35/38)	100 (36/36)	–	100 (39/39)	100 (33/33)
	LDV + SOF (24 týdnů)	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 týdnů)	25	96,0 (24/25)	4,0 (1/25)	40,0 (10/25)	80,0 (20/25)	100 (25/25)	100 (25/25)	–	100 (25/25)	100 (25/25)
	SOF + RBV (24 týdnů)	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 týdnů)	63	85,7 (54/63)	14,3 (9/63)	20,7 (12/58)	67,9 (38/56)	98,4 (62/63)	100 (57/57)	–	96,6 (57/59)	90,0 (54/60)
	SOF + SIM + RBV (24 týdnů)	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 týdnů)	66	87,9 (58/66)	12,1 (8/66)	22,2 (12/54)	69,4 (43/62)	95,4 (62/65)	100 (64/64)	–	98,5 (64/65)	93,5 (58/62)
3	SOF + PEG + RBV (12 týdnů)	3	100 (3/3)	0,0 (0/3)	33,3 (1/3)	100 (2/2)	100 (3/3)	100 (2/2)	–	100 (3/3)	100 (3/3)
	SOF + RBV (24 týdnů)	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)

PRL = přiřazený režim léčby, KL = konec léčby, „–“ = irelevantní hodnota, jelikož se jedná o konec léčby nebo léčba skončila dříve, 4PUL = čtyři týdny po ukončení léčby

[a]Virologická odpověď během léčby a po léčbě stanovená jako < 10 IU/ml.

Poznámka: Hodnota na konci léčby není duplicitně zapsána v daném týdnu léčby.

U subjektů s genotypem 1 došlo po 4 týdnech léčby k virologické odpovědi u 95,5 % (150/157) subjektů. U 7 subjektů s genotypem 1, u kterých k odpovědi po 4 týdnech nedošlo, (3 subjekty léčené kombinací LDV a SOF [12 týdnů], 2 subjekty léčené kombinací LDV a SOF [24 týdnů], 1 subjekt léčený kombinací SOF a RBV [24 týdnů] a 1 subjekt léčený kombinací SOF, SIM a případně RBV [12 týdnů]), k odpovědi došlo během léčby po 8 týdnech. U dvou (2) subjektů léčených kombinací SOF, SIM a případně RBV (12 týdnů) došlo ke konci léčby k relapsu a u 6 (1 subjekt léčený kombinací LDF a SOF [8 týdnů], 1 subjekt léčený kombinací LDF a SOF [24 týdnů] a 4 subjekty léčené kombinací SOF, SIM a případně RBV [12 týdnů]) došlo k relapsu po 4 týdnech od ukončení léčby.

U subjektů s genotypem 2 došlo po 4 týdnech léčby k virologické odpovědi u 95,4 % (62/65) subjektů. U trojice subjektů s genotypem 2, u které k odpovědi nedošlo do 4 týdnů, k odpovědi došlo po 8 týdnech. U jednoho (1) subjektu léčeného kombinací SOF a RBV (12 týdnů) došlo na konci léčby k relapsu a u 4 subjektů se stejným režimem léčby k relapsu došlo po 4 týdnech od ukončení léčby.

U subjektů s genotypem 3 došlo po 4 týdnech léčby k virologické odpovědi u 100 % (49/49) subjektů. U žádných subjektů (0) nedošlo na konci léčby k relapsu a u 5 subjektů léčených kombinací SOF a RBV (24 týdnů) k relapsu došlo po 4 týdnech od ukončení léčby.

Z výsledků této studie vyplývá, že je test Aptima HCV Quant Dx Assay použitelný jako nástroj k řízení léčby pacientů infikovaných HCV, kteří se léčí přípravky obsahujícími sofosbuvir, a že umožňuje určit, zda došlo k SVR. Výsledky tohoto testu mohou sloužit ke kvantifikování koncentrace RNA HCV v lidské plazmě před zahájením léčby a v jejím průběhu.

Studie diagnostického využití

Citlivost testu byla hodnocena u 338 subjektů s protilátkami proti HCV z vysoce rizikové populace. Tabulka 31 obsahuje demografické a klinické údaje subjektů.

Tabulka 31: Demografické a klinické údaje subjektů pozitivních na protilátky proti HCV

Údaje		
Celkem	*N*	338
Pohlaví	Žena, n (%)	80 (23,7)
	Muž, n (%)	258 (76,3)
Věk (roky)	Průměr	48,2
	Medián	51,0
	SD	11,01
	< 21, n (%)	2 (0,6)
	21–49, n (%)	152 (45,0)
	50–70, n (%)	182 (53,8)
	> 70, n (%)	2 (0,6)
Rasa/etnikum[a]	Běloši, n (%)	86 (25,4)
	Černoši, n (%)	118 (34,9)
	Asiaté, n (%)	1 (0,3)
	Hispánci, n (%)	123 (36,4)
	Smíšené etnikum, n (%)	4 (1,2)
	Jiná, n (%)	10 (3,0)
	Neznámé, n (%)	0 (0,0)
Rizikové faktory[b]	Injekční užívání drog, n (%)	294 (87,0)
	Příjemci koagulačních faktorů vyrobených před rokem 1990, n (%)	0 (0,0)
	Diagnóza či léčba hepatitidy, n (%)	172 (50,9)
	Diagnóza či léčba HIV, n (%)	13 (3,8)
	Předchozí výkon trestu odnětí svobody, n (%)	311 (92,0)
	Přijetí transfuze krve nebo krevních složek, n (%)	39 (11,5)
	Přijetí transplantátu, n (%)	0 (0,0)
	Hemodialýza, n (%)	3 (0,9)
	Dlouhodobě zvýšené hodnoty ALT, n (%)	2 (0,6)
	Narození mezi lety 1945 a 1965, n (%)	192 (56,8)
Stav infekce HCV	Pozitivní na RNA HCV, n (%)	259 (76,6)
	Negativní na RNA HCV, n (%)	79 (23,4)

ALT = alaninaminotransferáza, HIV = virus lidského imunodeficitu
[a]Subjekty mohly uvádět více ras.
[b]Subjekty mohly uvádět více rizikových faktorů.

Vzorky byly testovány schváleným testem na přítomnost RNA HCV, schváleným testem na přítomnost protilátek proti HCV a testem Aptima HCV Quant Dx Assay. Studie se zúčastnilo 338 subjektů s reakcí při testu na přítomnost protilátek proti HCV. Dle současných pokynů AASLD se má po stanovení přítomnosti infekce HCV pomocí reakčního testu na protilátky proti HCV provést kontrolní stanovení testem založeným na amplifikaci nukleových kyselin s mezí detekce 25 IU/ml a nižší.[20] Shodnost výsledků testu Aptima HCV Quant Dx Assay se skutečnou infikovaností pacientů byla stanovena s mezní hodnotou 25 IU/ml. Vzorky s koncentrací < 25 IU/ml byly vyhodnoceny jako nedetekování viru a vzorky s koncentrací ≥ 25 IU/ml byly vyhodnoceny jako detekování. Viz část Tabulka 32.

Výsledky testu Aptima HCV Quant Dx Assay byly porovnány s infikovaností pacienta stanovenou schváleným testem na protilátky proti HCV a schváleným kvalitativním testem na přítomnost RNA. Pacient byl považován za pozitivního na HCV, pokud přítomnost viru prokazovaly oba schválené testy. Pokud při schváleném testu na přítomnost protilátek proti HCV nedošlo k reakci, pacient byl považován za negativního na HCV.

Z 338 subjektů s reakcí při testu na přítomnost protilátek proti HCV jich bylo testem Aptima HCV Quant Dx Assay detekováno 256 (procentuální pozitivní shoda = 98,8 %). U tří subjektů byla RNA HCV stanovena v koncentraci nižší než 25 IU/ml nebo nebyla detekována vůbec. U dvou z těchto subjektů došlo k detekci, ale nikoli ke kvantifikaci (RNA HCV < 10 IU/ml) a u třetího subjektu byla koncentrace stanovena na 12 IU/ml.

Tabulka 32: Shoda výsledků testu Aptima HCV Quant Dx Assay s infikovaností pacienta s mezní hodnotou 25 IU/ml

Aptima HCV Quant Dx – výsledek testu	**Infekční stav pacienta**		**Celkem**
	HCV-pozitivní	**HCV-negativní**	
RNA HCV kvantifikována v koncentraci 25 IU/ml nebo vyšší	256	0	256
RNA HCV kvantifikována či detekována pod 25 IU/ml nebo nedetekována	3[a]	79	82
Celkem	259	79	338
Procentuální pozitivní shoda (95% CI)	98,8 (96,7–99,6)	–	–
Procentuální negativní shoda (95% CI)	–	100 (95,4–100)	–

CI = interval spolehlivosti, „–“ = nestanovovaná hodnota

[a]U dvou subjektů byla RNA HCV testem Aptima HCV Quant Dx Assay detekována, ale nikoli kvantifikována (< 10 IU/ml), a u třetího subjektu byla kvantifikována jako 12 IU/ml.

Studie prokázala, že je test Aptima HCV Quant Dx Assay klinicky užitečný, jelikož u populace s předchozí expozicí HCV (u osob sérologicky pozitivních na protilátky proti HCV) umožňuje správně diagnostikovat subjekty s probíhající aktivní infekcí RNA HCV a odlišit je od subjektů s neaktivní infekcí.

Křížová reaktivita u subjektů s onemocněním jater, které nesouvisí s HCV

Osobám s jiným onemocněním jater (jehož primární příčinou nebyla infekce HCV) byly odebrány vzorky séra a plazmy (n = 214). Tyto vzorky byly testovány schváleným testem na protilátky proti HCV a schváleným testem na přítomnost RNA HCV, aby se ověřilo, že jsou HCV-negativní. Sedmnáct (17) HCV-pozitivních vzorků (s pozitivním výsledkem nejméně jednoho ze schválených testů) a tři nezpůsobilé vzorky byly vyřazeny. Test Aptima HCV Quant Dx Assay jsme prováděli ve vlastních laboratořích se třemi šaržemi souprav reagencií. Tabulka 33 udává demografické údaje 194 hodnotitelných subjektů a jejich jaterní onemocnění.

Tabulka 33: Demografické údaje a jaterní onemocnění subjektů

Údaje		Vše
Celkem	N	194
Pohlaví	n	193
	Žena, n (%)	116 (60,1)
	Muž, n (%)	77 (39,9)
Věk (roky)	n	194
	Průměr	55,2
	Medián	56,0
	SD	12,19
	Minimum	25
	Maximum	82
	21–49, n (%)	60 (30,9)
	50–70, n (%)	114 (58,8)
	> 70, n (%)	20 (10,3)
Etnikum	n	194
	Hispánské či latinskoamerické, n (%)	9 (4,6)
	Jiné než hispánské či latinskoamerické, n (%)	147 (75,8)
	Neznámé, n (%)	38 (19,6)
	Neuvedené, n (%)	0 (0,0)
Rasa[a]	n	194
	Běloši, n (%)	122 (62,9)
	Černoši a Afroameričané, n (%)	20 (10,3)
	Asiaté, n (%)	17 (8,8)
	Původní obyvatelé USA a Aljašky, n (%)	0 (0,0)
	Původní Havajci a Pacifičtí ostrované, n (%)	1 (0,5)
	Jiná, n (%)	34 (17,5)
	Neznámá, n (%)	2 (1,0)
	Neuvedená, n (%)	0 (0,0)
Onemocnění jater[b]	n	194
	Autoimunitní hepatitida, n (%)	31 (16,0)
	Alkoholové poškození jater, n (%)	51 (26,3)
	Chronická infekce HBV, n (%)	34 (17,5)
	Primární biliární cholangitida, n (%)	37 (19,1)
	NASH, n (%)	39 (20,1)
	Několik jaterních onemocnění, n (%)	2 (1,0)

HBV = virus hepatitidy B, NASH = nealkoholická steatohepatitida.

[a]Subjekty mohly uvádět více ras.

[b]Subjekty s několika jaterními onemocněními hlásily autoimunitní hepatitidu a primární biliární cholangitidu.

Tabulka 34 ukazuje specificitu testu Aptima HCV Quant Dx Assay podle jaterního onemocnění a rozdělení výsledků testu Aptima HCV Quant Dx Assay do různých kategorií virové zátěže. Specificita byla 100% u subjektů s chronickou infekcí virem hepatitidy B (HBV), primární biliární cholangitidou, nealkoholickou steatohepatitidou (NASH) a několika jaterními onemocněními. RNA HCV byla ve velmi nízké koncentraci detekována u jednoho subjektu s autoimunitní hepatitidou (< 10 IU/ml) a u čtyř subjektů s alkoholovým poškozením jater (< 10 IU/ml u tří subjektů a 16 IU/ml u čtvrtého subjektu). U jednoho z těchto pěti subjektů byla RNA HCV detekována také schváleným kvantitativním testem na HCV.

Tabulka 34: Specificita testu Aptima HCV Quant Dx Assay a rozdělení výsledků u subjektů negativních na protilátky proti HCV a RNA HCV s jaterními onemocněními, které nesouvisejí s HCV

Onemocnění jater	Specificita (%) 95% CI[a]	Bez detekce	< 10 IU/ml	10 až < 25 IU/ml	25 až 100 000 000 IU/ml	> 100 000 000 IU/ml	Celkem
Autoimunitní hepatitida	96,8 (83,8–99,4)	30 (96,8)	1 (3,2)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	31
Alkoholové poškození jater	92,2 (81,5–96,9)	47 (92,2)	3 (5,9)[b]	1 (2,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	51
Chronická infekce HBV	100 (89,8–100)	34 (100)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	34
Primární biliární cholangitida	100 (90,6–100)	37 (100)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	37
NASH	100 (91,0–100)	39 (100)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	39
Několik jaterních onemocnění[c]	100 (34,2–100)	2 (100)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	2
Celkem	97,4 (94,1–98,9)	189 (97,4)	4 (2,1)	1 (0,5)	0 (0,0)	0 (0,0)	194

HBV = virus hepatitidy B, NASH = nealkoholická steatohepatitida

[a]CI bodování.

[b]U jednoho subjektu byla RNA HCV detekována kvantitativním testem na HCV schváleným úřadem FDA.

[c]Subjekty trpěly autoimunitní hepatitidou i primární biliární cholangitidou.

Literatura

1. Averhoff FM, Glass N and Holtzman D. Global Burden of Hepatitis C: Considerations for Healthcare Providers in the United States. Clinical Infectious Diseases 2012; 55 (S1): S10-15.
2. Zalesak M, Francis K, Gedeon A, et al. Current and Future Disease Progression of the Chronic HCV Population in the United States. PLoS One. 2013 May 21;8(5):e63959
3. Engle RE, Bukh J, Alter HJ et al., Transfusion-associated hepatitis before the screening of blood for hepatitis risk factors.Transfusion. 2014 May 5.
4. Lee M-H, Yang, H-I, Yuan Y et al., Epidemiology and natural history of hepatitis C virus infection. World J Gasteroenterology 2014: 20 (28): 9270-9280.
5. Tan SL, editor. Hepatitis C Viruses: Genome and Molecular Biology. Norfolk (UK): Horizon Bioscience; 2006.
6. Smith DB, Bukh J, Kuiken C, et al, P. Expanded classification of hepatitis C virus into 7 genotypes and 67 subtypes: updated criteria and genotype assignment web resource.Hepatology. 2014 Jan;59(1):318-27.
7. EASL Recommendations on treatment of Hepatitis C 2014: www.easl.eu/_clinical-practice-guideline.
8. AASLD and the Infectious Diseases Society of America (IDSA), in collaboration with the International Antiviral Society-USA (IAS-USA). HCV Guidance: Recommendations for Testing, Managing, and Treating Hepatitis C. 2014: www.hcvguidelines.org.
9. CDC. Testing for HCV infection: An update for clinicians and laboratories. MMWR 2013; 62 (18).
10. Sidharthan, S., Kohli, A., Sims, Z., Nelson, A., Osinusi, A., Masur, H., Kottilil, S. Utility of Hepatitis C Viral Load Monitoring on Directly Acting Antiviral Therapy. Clinical Infectious Diseases, 2015.
11. Kohli, A., Shaffer, A., Sherman, A., Kottilil, S. Treatment of hepatitis C: a systematic review. JAMA, 2014.
12. AASLD. Recommendations for Testing, Managing, and Treating Hepatitis C. 2015. Published on hcvguidelines.org, accessed Feb 11, 2016.
13. Simmons, B., Saleem, J., Heath, K., Cooke, G., Hill, A. Long-term treatment outcomes of patients infected with Hepatitis C virus: a systematic review and meta-analysis of the survival benefit of achieving a Sustained Virological Response. Clinical Infectious. 2015 Sep 1;61(5):730-40.
14. **Clinical and Laboratory Standards Institute.** 2005. Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods; Approved Guideline. CLSI Document MM13-A. Wayne, PA.
15. **29 CFR Part 1910.1030.** Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens; current version.
16. **Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health.** Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL); current version.
17. **Clinical and Laboratory Standards Institute.** 2002. Clinical Laboratory Waste Management. CLSI Document GP5-A2. Villanova, PA.
18. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)**. 2012. Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline—Second Edition. CLSI Document EP17-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
19. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)**. 2003. Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline. CLSI document EP06-A. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
20. AASLD/IDSA. Recommendations for testing, managing, and treating hepatitis C. AASLD and IDSA. http://www.hcvguidelines.org/fullreport. Updated 21 March 2014. Accessed 01 March 2016.
21. AASLD/IDSA HCV Guidance Panel. Hepatitis C Guidance: AASLD-IDSA recommendations for testing, managing, and treating adults infected with hepatitis C virus. Hepatology. 2015;62(3):932-954.

Kontaktní údaje a historie revizí



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

E-mailovou adresu a telefonní číslo oddělení technické podpory a zákaznických služeb ve vaší zemi najdete na adrese www.hologic.com/support.

Závažné události, ke kterým v souvislosti s prostředkem dojde v Evropské unii, se musí hlásit výrobci a příslušnému orgánu členského státu, ve kterém je uživatel nebo pacient usazen.

Hologic, Aptima, Panther, Panther Fusion a související loga jsou ochranné známky nebo registrované ochranné známky společnosti Hologic, Inc. nebo jejích dceřiných společností v USA nebo v jiných zemích.

Armored RNA je ochranná známka společnosti Asuragen, Inc.

Veškeré ostatní ochranné známky, které se mohou vyskytnout v této příbalové informaci, jsou majetkem příslušných vlastníků.

Tento produkt může být krytý jedním či více patenty USA uvedenými na webové stránce www.hologic.com/patents.

©2016–2025 Hologic, Inc. Všechna práva vyhrazena.

AW-28216-2601 Rev. 001

2025-12

Historie revizí	Datum	Popis
AW-28216-2601 Rev. 001	Prosinec 2025	• Původní vydání.