Aptima® HCV Quant Dx Assay

Návod na použitie
Na diagnostické použitie *in vitro*
Len na export z USA

Všeobecné informácie 2
Určené použitie 2
Zhrnutie a vysvetlenie testu 2
Zásady procedúry 3
Súhrn údajov o bezpečnosti a účinnosti 3
Varovania a bezpečnostné opatrenia 4
Požiadavky na skladovanie a manipuláciu s reagentom 7
Odber vzoriek a skladovanie 9
Vzorky v systéme Panther 12
Preprava preparátov 12
Systém Panther 13
Poskytnuté reagenty a materiály 13
Potrebné materiály predávané samostatne 15
Voliteľné materiály 16
Postup testovania systému Panther 16
Poznámky k postupu 20
Kontrola kvality 21
Kalibrácia testu 21
Negatívne a pozitívne kontroly 21
Interný kalibrátor/interná kontrola 21
Interpretácia výsledkov 22
Obmedzenia 23
Analytický výkon 24
Limit detekcie (LoD) podľa 2. medzinárodného štandardu WHO 24
Limit detekcie u rôznych genotypov HCV 24
Lineárny rozsah 25
Linearita v prípade rôznych genotypov HCV 26
Spodný limit kvantifikácie podľa 2. medzinárodného štandardu WHO 27
Stanovenie spodného limitu kvantifikácie (LLoQ) u rôznych genotypov HCV 28
Sledovateľnosť k štandardu WHO 30
Presnosť 30
Potenciálne interferujúce látky 31
Výkon s HCV negatívnymi vzorkami 33
Analytická špecificita 34
Klinické vzorky obsahujúce vírusy iné než HCV 35
Ekvivalencia matrice 35
Riedenie vzorky pomocou riediaceho prípravku na vzorky Aptima (1 : 3) 36
Riedenie vzorky pomocou riediaceho prípravku na vzorky Aptima (1 : 100) 37
Potvrdenie LLoQ u klinických vzoriek riedených v riediacom prípravku na vzorky 38
Presnosť riedených vzoriek 39
Prenos 39
Panel sérokonverzie 40
Štúdia reprodukovateľnosti 40
Klinický výkon 42
Korelácia metód 42
Štúdia klinickej užitočnosti 43
Odpoveď na antivírusovú liečbu 47
Štúdia diagnostickej užitočnosti 50
Krížová reaktivita u účastníkov s ochorením pečene, ktoré nesúvisí s vírusom HCV 52
Literatúra 54
Kontaktné informácie a história revízií 55

Všeobecné informácie

Určené použitie

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

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

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

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

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

Zhrnutie a vysvetlenie testu

HCV je krvný patogén a predstavuje celosvetovú záťaž pre verejné zdravotníctvo – po celom svete je infikovaných až 170 miliónov osôb a ročne dochádza k 350 000 úmrtiam v dôsledku stavov spojených s HCV vrátane cirhózy a rakoviny pečene.[1,2] HCV sa prenáša expozíciou krvi, krvným produktom alebo aktivitami s rizikom perkutánnej expozície.[3,4] Po genetickej stránke obsahuje HCV genóm z pozitívneho RNA vlákna pozostávajúci z 9 500 nukleotidov kódujúcich štrukturálne proteíny (jadro, E1 a E2 glykoproteíny, proteín iónového kanála p7) a neštrukturálne proteíny (NS2, NS3, NS4A/B, NS5A/B). Druhá skupina sú kľúčové vírusové replikačné proteíny a ciele priamo pôsobiacich antivirotík.[4,5] Dve oblasti genómu neprechádzajúce transláciou (UTR) 5‘UTR a 3’UTR slúžia na transláciu genómu, resp. replikáciu/balenie.[5] 5‘-UTR je najviac konzervovaná genómová oblasť v šiestich hlavných genotypoch HCV.[6]

Z klinického hľadiska je vysoká prevalencia asymptomatickej infekcie HCV, pričom chronická infekcia HCV sa vyskytuje až u 75 % pacientov.[2] Algoritmy laboratórneho testovania HCV vyžadujú diagnostiku aktívnych infekcií HCV u osôb pozitívnych na protilátky prostredníctvom detekcie HCV RNA v plazme alebo sére, aby sa umožnilo vhodné prepojenie na starostlivosť.[7,8,9]

Kvantifikácia HCV RNA (vírusová nálož) hrala pilotnú rolu v definovaní a sledovaní úspešnej liečby HCV. Pretrvávajúca virologická odpoveď (SVR) definovaná ako nedetegovaná HCV RNA po úspešnej liečbe je kľúčovým markerom vyliečenia HCV.[10,11] V prípade liečby založenej na interferóne boli skorá virologická odpoveď (EVR), definovaná ako pokles vírusovej nálože HCV na úrovni 2 log alebo viac po 12 týždňoch liečby, a rýchla virologická odpoveď (RVR), definovaná ako nedetegovateľné hladiny HCV RNA po 4 týždňoch liečby, doložené ako pozitívne prediktory SVR.[10,12,13] Tieto markery vírusovej kinetiky sa používajú v prístupoch riadených odpoveďou na individualizáciu možností liečby na zastavenie alebo rozšírenie liečby s cieľom dosiahnuť SVR.[14] Okrem toho štúdie dlhodobého sledovania preukázali trvalosť SVR po úspešnej liečbe a eradikácia vírusu zabraňuje progresii ochorenia pečene.[10]

V období priamo pôsobiacich antivirotík (DAA) hrala kvantifikácia HCV RNA (vírusová nálož) kľúčovú úlohu v definovaní a sledovaní úspešnej liečby HCV. Pretrvávajúca virologická odpoveď (SVR) je definovaná ako nedetegovateľná HCV RNA (pri použití testu s limitom detekcie < 25 IU/ml) po liečbe.[10,11] Nedávne usmernenia od AASLD navrhujú testovanie HCV RNA nielen na východiskovej úrovni, ale aj pravidelne počas liečby (napr. 4 týždne) a 12 týždňov po dokončení liečby.[10,12,13]

Zásady procedúry

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

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

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

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

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

Súhrn údajov o bezpečnosti a účinnosti

Súhrn údajov o bezpečnosti a účinnosti (Summary of Safety and Performance, SSP) je dostupný v Európskej databáze zdravotníckych pomôcok (Eudamed), kde je prepojený s identifikátormi pomôcky (Basic UDI-DI). Dokument SSP pre test Aptima HCV Quant Dx nájdete podľa základného jedinečného identifikátora pomôcky (BUDI): 54200455DIAGAPTHCVAJ.

Varovania a bezpečnostné opatrenia

A. Len na diagnostické použitie *in vitro*.

B. Pre profesionálne použitie.

C. Aby sa znížilo riziko neplatných výsledkov, pred vykonaním testu pomocou systému Panther si pozorne prečítajte celý príbalový leták a príručku pre operátora systému *Panther*/*Panther Fusion*™, kde nájdete informácie o postupoch.

D. Ďalšie špecifické varovania, bezpečnostné opatrenia a postupy na kontrolu kontaminácie nájdete v *príručke pre operátora systému Panther/Panther Fusion*.

Súvisiace s laboratóriom

E. UPOZORNENIE: Kontroly pre tento test obsahujú ľudskú plazmu. Plazma je podľa testovania postupmi licencovanými Úradom pre kontrolu potravín a liečiv USA nereaktívna na povrchový antigén hepatitídy B (HBsAg), protilátky proti HCV, protilátky proti HIV-1 a HIV-2 a HIV antigén. Okrem toho je plazma areaktívna voči HCV RNA a HIV-1 RNA pri testovaní licencovanými testami nukleových kyselín za použitia spojených vzoriek. Všetok materiál pochádzajúci z ľudskej krvi je nutné považovať za potenciálne infekčný a pri práci s ním je nutné dodržovať univerzálne bezpečnostné opatrenia.[14,15,16]

F. Tento postup smie vykonávať len personál adekvátne vyškolený v práci s testom Aptima HCV Quant Dx a v manipulácii s potenciálne infekčnými materiálmi. Ak dôjde k vyliatiu, okamžite miesto vydezinfikujte pomocou príslušných postupov pracoviska.

G. Používajte iba dodané alebo špecifikované jednorazové laboratórne pomôcky.

H. Použite rutinné laboratórne bezpečnostné opatrenia. Nepipetujte ústami. Vo vyhradených pracovných oblastiach nejedzte, nepite ani nefajčite. Pri manipulácii so vzorkami a súpravami reagentov používajte jednorazové, bezprašné rukavice, ochranné okuliare a laboratórne plášte. Po manipulácii so vzorkami a súpravami reagentov si dôkladne umyte ruky.

I. Pracovné plochy, pipety a iné zariadenia sa musia pravidelne dekontaminovať 2,5 % až 3,5 % (0,35 M až 0,5 M) roztokom chlórnanu sodného.

J. Všetky materiály, ktoré sa dostali do kontaktu so vzorkami a reagenciami, zlikvidujte v súlade s miestnymi, štátnymi a federálnymi nariadeniami.[14,15,16,17] Všetky pracovné plochy dôkladne očistite a vydezinfikujte.

K. Kontroly obsahujú azid sodný ako konzervačnú reagenciu. Na prenos reagencií nepoužívajte kovové skúmavky. Ak roztoky obsahujúce zlúčeniny azidu sodného likvidujete vo vodovodnom systéme, musia byť zriedené a spláchnuté hojným množstvom tečúcej vody. Tieto bezpečnostné opatrenia sa odporúčajú, aby sa zabránilo nahromadeniu usadenín v kovových potrubiach, kde by mohli vzniknúť výbušné podmienky.

L. Zásady dobrej praxe pre molekulárne laboratóriá zahŕňajú sledovanie prostredia. Pri sledovaní laboratórneho prostredia odporúčame nasledujúci postup:

1. Zoberte si vatovú tyčinku a spárujte ju s alikvotačnou skúmavkou na vzorky Aptima (SAT).
2. Príslušným spôsobom označte každú SAT.
3. Naplňte každú SAT 1 ml riediaceho prípravku na vzorky Aptima.
4. Pred zberom povrchových vzoriek zľahka navlhčite vatovú tyčinku deionizovanou vodou bez obsahu nukleázy.
5. Otrite požadovaný povrch vertikálnym pohybom zhora nadol. Pri otieraní lokality otočte tyčinku približne o polovicu otočky.

6. Okamžite vložte vzorku na vatovej tyčinke do skúmavky a jemne tyčinku premiešajte vírením v riediacom prípravku, aby ste extrahovali potenciálne otreté materiály. Pritlačte vatovú tyčinku o bočnú stranu prepravnej skúmavky a vyextrahujte čo najviac tekutiny. Zlikvidujte vatovú tyčinku a zatvorte skúmavku viečkom.
7. Zopakujte kroky u zostávajúcich sterových vzoriek.
8. Otestujte sterový materiál molekulárnym testom.

Súvisiace so vzorkami

M. Vzorky môžu byť infekčné. Pri vykonávaní tohto testu použite univerzálne bezpečnostné opatrenia[14,15,16]. Správne postupy manipulácie a likvidácie by mali byť stanovené na základe platných miestnych nariadení.[17] Tento postup smie vykonávať len personál adekvátne vyškolený v používaní testu Aptima HCV Quant Dx a v manipulácii s potenciálne infekčnými materiálmi.

N. Počas prepravy zachovajte príslušné podmienky na uchovávanie, aby ste zaistili integritu vzorky. Stabilita vzoriek za prepravných podmienok iných, ako sú odporúčané, nebola hodnotená.

O. Počas manipulácie so vzorkami sa vyhnite krížovej kontaminácii. Zvláštnu pozornosť venujte prevencii šírenia kontaminácie formou aerosólu pri uvoľňovaní alebo odstraňovaní viečok zo vzoriek. Preparáty môžu obsahovať extrémne vysoké hladiny organizmov. Uistite sa, že nádoby na vzorky sa navzájom nedotýkajú a použité materiály zlikvidujte bez toho, aby prešli cez otvorené nádoby. Vymeňte si rukavice, ak sa dostanú do kontaktu so vzorkou.

Súvisiace s testom

P. Nepoužívajte súpravu reagencií, kalibrátor ani kontroly po dátume exspirácie.

Q. Nezamieňajte, nemiešajte ani nekombinujte reagencie zo súprav s rôznymi číslami hlavnej šarže. Testové kvapaliny môžu pochádzať z rôznych šarží. Kontroly a kalibrátor môžu pochádzať z rôznych šarží.

R. Zabráňte kontaminácii reagencií mikróbmi a nukleázami.

S. Uzavrite a uložte všetky reagencie na rozbor pri špecifikovaných teplotách. Výkonnosť rozboru môže byť ovplyvnená použitím nesprávne uskladnených reagencií na rozbor. Viac informácií nájdete v časti *Požiadavky na skladovanie a manipuláciu s reagentom* a *Postup testovania systému Panther*.

T. Žiadne reagencie na rozbor ani kvapaliny nekombinujte bez konkrétnych pokynov. Reagencie ani kvapaliny nedolievajte. Systém Panther overuje hladiny reagencií.

U. Niektoré reagencie tejto súpravy sú označené rizikovými a bezpečnostnými symbolmi.

Poznámka: *Oznámenie o nebezpečenstve odráža klasifikácie bezpečnostných údajov EÚ (SDS). Informácie o oznámeniach o nebezpečenstve, ktoré sú špecifické pre váš región, nájdete v SDS pre jednotlivé regióny v knižnici bezpečnostných údajov na adrese www.hologicsds.com. Bližšie informácie o symboloch nájdete vo vysvetlení symbolov na adrese www.hologic.com/package-inserts.*

Informácie EÚ o nebezpečenstve

—	**Amplifikačná reagencia** *CHLORID HOREČNATÝ 60 – 65 %* — H412 – Škodlivý pre vodné organizmy, s dlhodobými účinkami. P273 – Zabráňte uvoľneniu do životného prostredia. P501 – Zneškodnite obsah/nádobu prostredníctvom schváleného závodu na likvidáciu odpadu.
—	**Promotorová reagencia** *CHLORID HOREČNATÝ 60 – 65 %* — H412 – Škodlivý pre vodné organizmy, s dlhodobými účinkami. P273 – Zabráňte uvoľneniu do životného prostredia. P501 – Zneškodnite obsah/nádobu prostredníctvom schváleného závodu na likvidáciu odpadu.
—	**Enzymatická reagencia** *Triton X-100 1 – 5 %* *HEPES 1 – 5 %* — H412 – Škodlivý pre vodné organizmy, s dlhodobými účinkami. P273 – Zabráňte uvoľneniu do životného prostredia. P501 – Zneškodnite obsah/nádobu prostredníctvom schváleného závodu na likvidáciu odpadu.
	**Súprava kontrol HCV VL** *SÓDIUM AZID <1 %* — **NEBEZPEČENSTVO** H300 – Smrteľný po požití. H410 – Veľmi toxický pre vodné organizmy, s dlhodobými účinkami. P264 – Po manipulácii si starostlivo umyte tvár, ruky a akúkoľvek odhalenú pokožku. P273 – Zabráňte uvoľneniu do životného prostredia. P301 + P310 – PO POŽITÍ: Okamžite volajte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÉ CENTRUM/lekára. P321 – Odborné ošetrenie (pozri doplňujúce pokyny prvej pomoci na karte bezpečnostných údajov). P330 – Vypláchnite ústa. P391 – Zozbierajte uniknutý produkt.
—	**Súprava kalibrátorov HCV VL** *HEPES 15 – 20 %* *Soľ laurylsulfátu lítneho 5 – 10 %* *Hydroxid lítny, monohydrát 1 – 5 %* *Kyselina jantárová 1 – 5 %* — H412 – Škodlivý pre vodné organizmy, s dlhodobými účinkami. P273 – Zabráňte uvoľneniu do životného prostredia. P501 – Zneškodnite obsah/nádobu prostredníctvom schváleného závodu na likvidáciu odpadu.

—	**Rekonštitučný roztok na enzýmy** *Glycerol 20 – 25 %* *Triton X-100 5 – 10 %* *HEPES 1 – 5 %* — H412 – Škodlivý pre vodné organizmy, s dlhodobými účinkami. P273 – Zabráňte uvoľneniu do životného prostredia. P501 – Zneškodnite obsah/nádobu prostredníctvom schváleného závodu na likvidáciu odpadu.
—	**Reagencia na záchyt cieľa** *HEPES 15 – 20 %* *Soľ laurylsulfátu lítneho 5 – 10 %* *Hydroxid lítny, monohydrát 1 – 5 %* *Kyselina jantárová 1 – 5 %* — H412 – Škodlivý pre vodné organizmy, s dlhodobými účinkami. P273 – Zabráňte uvoľneniu do životného prostredia. P501 – Zneškodnite obsah/nádobu prostredníctvom schváleného závodu na likvidáciu odpadu.

Požiadavky na skladovanie a manipuláciu s reagentom

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

Reagencia	Uskladnenie neotvorených balení	Otvorená súprava (rekonštituovaná)	
		Skladovanie	Stabilita
Amplifikačná reagencia qHCV	2 °C až 8 °C		
Rekonštitučný roztok na amplifikáciu qHCV	2 °C až 8 °C	2 °C až 8 °C	30 dní[a]
Enzýmová reagencia qHCV	2 °C až 8 °C		
Rekonštitučný roztok na enzýmy qHCV	2 °C až 8 °C	2 °C až 8 °C	30 dní[a]
Promotorová reagencia qHCV	2 °C až 8 °C		
Rekonštitučný roztok promótora qHCV	2 °C až 8 °C	2 °C až 8 °C	30 dní[a]
Reagencia na záchyt cieľa qHCV	2 °C až 8 °C	2 °C až 8 °C	30 dní[a]
qHCV NC CONTROL – (negatívna kontrola)	-15 °C až -35 °C	15 °C až 30 °C	Jednorazová ampulka Použiť do 24 hodín
qHCV LPC CONTROL + (nízka pozitívna kontrola)	-15 °C až -35 °C	15 °C až 30 °C	Jednorazová ampulka Použiť do 24 hodín
qHCV HPC CONTROL + (vysoká pozitívna kontrola)	-15 °C až -35 °C	15 °C až 30 °C	Jednorazová ampulka Použiť do 24 hodín
qHCV PCAL (pozitívny kalibrátor)	-15 °C až -35 °C	15 °C až 30 °C	Jednorazová ampulka Použiť do 24 hodín

[a] Po odstránení zo systému Panther je nutné reagencie ihneď vrátiť do príslušných skladovacích teplôt.

B. Nepoužité rekonštituované reagencie a cieľovú záchytnú reagenciu (TCR) zlikvidujte po 30 dňoch alebo po dátume exspirácie šarže matrice, podľa toho, čo nastane skôr.

C. Reagencie uchovávané v systéme Panther majú stabilitu v prístroji 72 hodín. Reagencie je možné vložiť do systému Panther až 8-krát. Systém Panther zapisuje každé vloženie reagencií do protokolov.

D. Po rozmrazení kalibrátora musí byť roztok priehľadný, tzn. nie zakalený a bez precipitátov.



E. Promotorová reagencia a rekonštituovaná promotorová reagencia sú fotosenzitívne. Počas uskladnenia a prípravy na použitie chráňte tieto reagencie pred svetlom.

Odber vzoriek a skladovanie

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

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

Poznámka: *Na skladovanie odporúčame iba plastové sekundárne skúmavky.*

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

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

V prípade séra ponechajte pred ďalším spracovaním vytvoriť zrazeninu.

A. Odber vzoriek

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

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

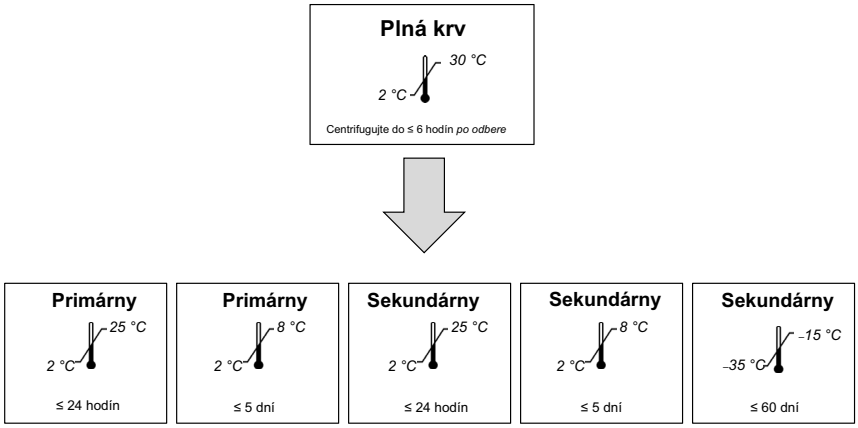
Ak nevykonáte testovanie ihneď, plazmu a sérum je možné skladovať v súlade so špecifikáciami nižšie. Pri prenose do sekundárnej skúmavky je možné plazmu alebo sérum zmraziť na teplotu –20 °C. Neprekračujte 3 cykly zmrazenia-rozmrazenia. Nezmrazujte vzorky v EDTA, ACD alebo sérových primárnych odberových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

B. Podmienky skladovania vzoriek

1. Vzorky plazmy s EDTA a ACD

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

   - v primárnej odberovej skúmavke alebo sekundárnej skúmavke pri teplote 2 °C až 25 °C po dobu až 24 hodín,
   - v primárnej odberovej skúmavke alebo sekundárnej skúmavke pri teplote 2 °C až 8 °C po dobu až 5 dní alebo
   - v sekundárnej skúmavke pri teplote –20 °C po dobu až 60 dní.

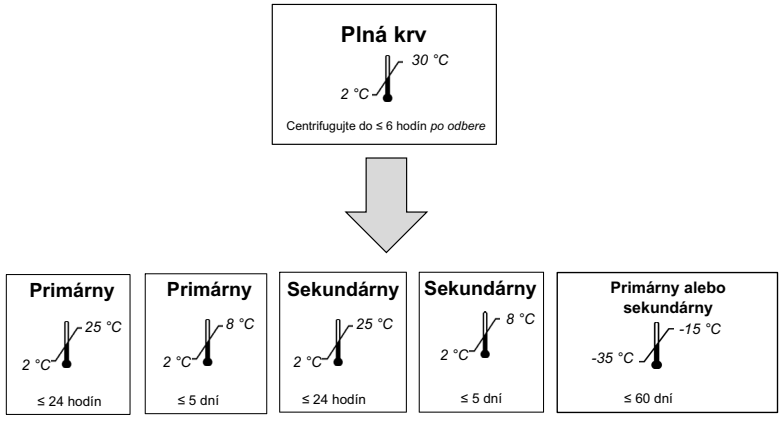


Obrázok 1. Podmienky skladovania pre skúmavky s EDTA/ACD

2. Vzorky PPT

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

   - v primárnej odberovej skúmavke alebo sekundárnej skúmavke pri teplote 2 °C až 25 °C po dobu až 24 hodín,
   - v primárnej odberovej skúmavke alebo sekundárnej skúmavke pri teplote 2 °C až 8 °C po dobu až 5 dní alebo
   - v primárnej odberovej skúmavke alebo sekundárnej skúmavke pri teplote –20 °C po dobu až 60 dní.

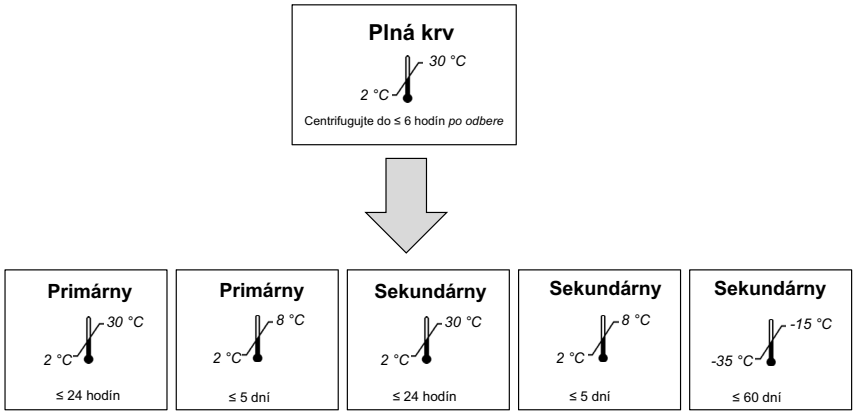


Obrázok 2. Podmienky skladovania pre PPT

3. Vzorky v sérových skúmavkách

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

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

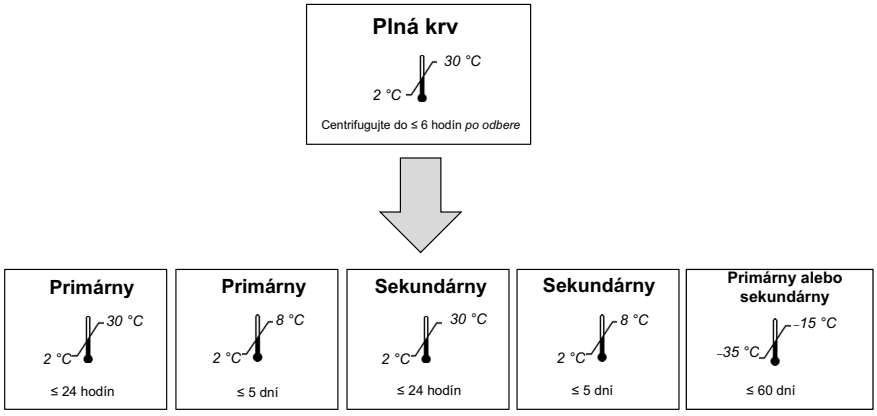


Obrázok 3. Podmienky skladovania pre sérové skúmavky

4. Vzorky SST

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

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



Obrázok 4. Podmienky skladovania pre SST

C. Dlhodobé skladovanie v zmrazenom stave

Vzorky plazmy alebo séra je možné skladovať pri teplote –65 °C až -70 °C až 60 dní v SAT.

D. Riedenie vzoriek plazmy a séra

Vzorky plazmy a séra je možné riediť v SAT alebo sekundárnej skúmavke na testovanie na systéme Panther. Viac informácií nájdete v časti *Postup testovania systému Panther*, krok E.5.

⚠ *Diagnostická interpretácia sa nesmie poskytnúť z výsledku „Nedetegované“ pre vzorky séra alebo plazmy, ktoré boli nariedené. Získajte novú neriedenú vzorku a zopakujte testovanie.*

Poznámka: *Ak je vzorka nariedená, je nutné test vykonať ihneď po riedení. Nezmrazujte nariedené vzorky.*

Vzorky v systéme Panther

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

Preprava preparátov

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

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

Systém Panther

Nižšie sú uvedené reagencie pre test Aptima HCV Quant Dx určené pre systém Panther. Identifikačné symboly reagencií sú uvedené aj vedľa názvu reagencií.

Poskytnuté reagenty a materiály

Súprava testu Aptima HCV Quant Dx, 100 testov, kat. č. PRD-03506
(1 krabica testu, 1 súprava kalibrátora a 1 súprava kontrol)
Ďalšie kalibrátory a kontroly je možné objednať samostatne. Nižšie nájdete príslušné katalógové čísla.

Krabica testu Aptima HCV Quant Dx
(po prijatí uchovávať pri teplote 2 °C až 8 °C)

Symbol	Komponent	Množstvo
A	**Amplifikačná reagencia qHCV** *Neinfekčné nukleové kyseliny sušené v pufrovanom roztoku.*	1 liekovka
E	**Enzýmová reagencia qHCV** *Reverzná transkriptáza a RNA polymeráza sušené v HEPES pufrovanom roztoku.*	1 liekovka
PRO	**Promotorová reagencia qHCV** *Neinfekčné nukleové kyseliny sušené v pufrovanom roztoku.*	1 liekovka
AR	**Rekonštitučný roztok na amplifikáciu qHCV** *Vodný roztok obsahujúci glycerol a konzervačné látky.*	1 x 7,2 ml
ER	**Rekonštitučný roztok na enzýmy qHCV** *Pufrovaný roztok HEPES obsahuje povrchovo aktívnu látku a glycerol.*	1 x 5,8 ml
PROR	**Rekonštitučný roztok promótora qHCV** *Vodný roztok obsahujúci glycerol a konzervačné látky.*	1 x 4,5 ml
TCR	**Reagencia na záchyt cieľa qHCV** *Nukleové kyseliny v pufrovanom fyziologickom roztoku obsahujúcom pevnú fázu, neinfekčné nukleové kyseliny a interný kalibrátor.*	1 x 72,0 ml
	Rekonštitučné objímky	3
	List hlavného čiarového kódu	1 list

Súprava kalibrátora Aptima HCV Quant Dx (kat. č. PRD-03507)
(po prijatí uchovávať pri teplote -15 °C až -35 °C)

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

Súprava kontrol Aptima HCV Quant Dx (kat. č. PRD-03508)
(po prijatí uchovávať pri teplote -15 °C až -35 °C)

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

Potrebné materiály predávané samostatne

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

Materiál	Kat. č.
Systém Panther™	303095
Systém Panther Fusion™	PRD-04172
Systém Panther™, kontinuálna kvapalina a odpad (Panther Plus)	PRD-06067
Súprava kontrol Aptima® HCV Quant Dx	PRD-03508
Súprava kalibrátora Aptima® HCV Quant Dx	PRD-03507
Súprava chodu Panther na testy v reálnom čase (iba na testy v reálnom čase)	PRD-03455 (5 000 testov)
Súprava testovacích kvapalín Aptima® (známa aj ako Univerzálna súprava kvapalín) *Obsahuje premývací roztok Aptima®, pufer na deaktivačnú kvapalinu Aptima® a olejovú reagenciu Aptima®*	303014 (1 000 testov)
Viacskúmavkové jednotky (MTU)	104772-02
Súprava odpadových vriec Panther™	902731
Kryt odpadkového koša Panther™	504405
Alebo súprava chodu Panther™ *(pri spracovávaní testov TMA nevykonávaných v reálnom čase súčasne s testami TMA v reálnom čase) obsahuje MTU, odpadové vrecia, kryty odpadkového koša, kvapaliny na automatickú detekciu a testovacie kvapaliny*	303096 (5 000 testov)
Špičky, 1 000 µl, filtrované, so snímaním kvapaliny, vodivé a jednorazové *Nie všetky produkty sú dostupné vo všetkých oblastiach. Informácie špecifické pre danú oblasť vám poskytne váš zástupca.*	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Bielidlo, 5 % až 8,25 % (0,7 M až 1,16 M) roztok chlórnanu sodného	—
Jednorazové bezprášková rukavice	—
Náhradné nepreniknuteľné uzávery	103036A
Náhradné uzávery na reagencie *Fľaše na rekonštitučný roztok pre amplifikačnú, enzýmovú a promotorovú reagenciu* *Fľaša TCR*	 CL0041 (100 uzáverov) CL0040 (100 uzáverov)
Plastové kryty na laboratórne stoly	—
Utierky nepúšťajúce vlas	—
Pipetovač	—
Špičky	—
Možnosti pre primárne odberové skúmavky: *13 mm x 100 mm* *13 mm x 75 mm* *16 mm x 100 mm*	 — — —
Centrifúga	—
Vortexová miešačka	—

Voliteľné materiály

Materiál	Kat. č.
Možnosti pre sekundárnu skúmavku:	
12 mm x 75 mm	—
13 mm x 100 mm	—
16 mm x 100 mm	—
Alikvotačné skúmavky vzorky Aptima (SATs) (balenie po 100 kusoch)	FAB-18184
Uzáver prepravnej skúmavky (balenie po 100 kusoch) *uzáver pre SAT*	504415
Riediaci prípravok na vzorky Aptima®	PRD-03003
Súprava riediaceho prípravku na vzorky Aptima® *Obsahuje riediaci prípravok na vzorky, 100 SAT a 100 uzáverov*	PRD-03478
Prenosové pipety	—
Komerčne dostupné panely	—
Vatové tyčinky s bavlnenou špičkou	—
Trepačka skúmaviek	PRD-03488

Postup testovania systému Panther

Poznámka: *Ďalšie informácie o postupoch nájdete v prevádzkovej príručke systému Panther/ Panther Fusion.*

A. Príprava pracovnej oblasti

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

B. Príprava kalibrátora a kontrol

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

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

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

   Poznámka: *Pri prevracaní kalibrátora a kontrol nevytvárajte nadmernú penu. Pena interferuje so snímaním hladiny v systéme Panther.*
2. Po rozmrazení obsahu skúmavky vysušte vnútro skúmavky čistou suchou jednorazovou utierkou.
3. Zatiaľ skúmavky neotvárajte, aby nedošlo ku kontaminácii.

C. Rekonštitúcia/príprava reagencií novej súpravy

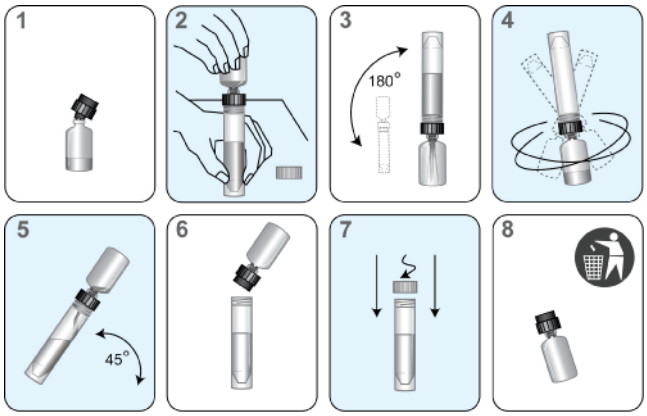
Poznámka: *Rekonštitúciu reagencií je nutné vykonať pred zahájením akýchkoľvek postupov na systéme Panther.*

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

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

f. Zahoďte rekonštitučnú objímku a sklenenú liekovku (Obrázok 5, krok 8).

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



Obrázok 5. Proces rekonštitúcie reagencie

D. Príprava reagencií pre predtým pripravené reagencie

1. Vytiahnite predtým pripravené reagencie zo skladovacieho priestoru (2 °C až 8 °C).
2. Predtým pripravené amplifikačné, enzýmové a promotorové reagencie a TCR musia dosiahnuť teplotu 15 °C až 30 °C pred začiatkom testu.
3. V prípade predtým pripraveného TCR postupujte pred vložením do systému podľa kroku C.1.
4. Vírením a prevrátením amplifikačnej, enzýmovej a promotorovej reagencie starostlivo premiešajte pred vložením do systému. Pri prevracaní reagencií zabráňte nadmernému peneniu.

   Možnosť: Predtým pripravené reagencie je možné pripraviť na trepačke nasledujúcim postupom: Vytiahnite reagencie zo skladovacieho priestoru (2 °C až 8 °C). Položte reagencie na trepačku a ponechajte pri teplote 15 °C až 30 °C zahriať minimálne 30 minút.

5. Fľašky reagentov nedopĺňajte. Systém Panther rozpozná a odmietne fľaše, ktoré boli doplnené.

E. Manipulácia so vzorkami

1. Skontrolujte, že spracované vzorky v primárnych skúmavkách alebo neriedené vzorky v sekundárnych skúmavkách boli adekvátne uskladnené podľa *Odber vzoriek a skladovanie*.
2. Uistite sa, že sú zmrazené vzorky adekvátne rozmrazené. Poriadne premiešajte rozmrazené vzorky v trepačke po dobu 3 až 5 sekúnd.
3. Pred spracovaním ponechajte vzorky dosiahnuť teplotu 15 °C až 30 °C. Ďalšie informácie o položkách v prístroji nájdete v časti *Vzorky v systéme Panther.*
4. Uistite sa, že každá primárna odberová skúmavka obsahuje až 1 200 µl vzorky alebo každá SAT obsahuje minimálne 700 µl vzorky. Tabuľka v časti *Odber vzoriek* identifikuje požiadavky na mŕtvy objem pre každý typ primárnej a sekundárnej skúmavky. Ak je nutné riedenie vzorky, preštudujte si ďalšie informácie v kroku E.5 nižšie.
5. Narieďte vzorku plazmy alebo séra v pomere 1 : 3 v SAT alebo 1 : 100 v sekundárnej skúmavke.

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

⚠ *Diagnostická interpretácia sa nesmie poskytnúť z výsledku „Nedetegované“ pre vzorky séra alebo plazmy, ktoré boli nariedené. Získajte novú neriedenú vzorku a zopakujte testovanie.*

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

a. Riedenie nízkoobjemových vzoriek

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

i. Vložte 240 µl vzorky do SAT.

ii. Pridajte 480 µl riediaceho prípravku na vzorky Aptima.

iii. Uzatvorte skúmavku.

iv. Premiešajte 5-násobným jemným prevrátením.

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

b. Riedenie vzoriek s vysokým titrom

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

i. Vložte 30 µl vzorky do SAT alebo sekundárnej skúmavky.

ii. Pridajte 2 970 µl riediaceho prípravku na vzorky Aptima.

iii. Uzatvorte skúmavku.

iv. Premiešajte 5-násobným jemným prevrátením.

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

Poznámka: *V prípade riedených vzoriek s čistými koncentráciami vyššími než ULoQ budú výsledky hlásené vo vedeckom formáte.*

6. Pred vložením vzoriek do stojana na vzorky centrifugujte každú vzorku pri odstredivej sile 1 000 až 3 000*g* počas 10 minút. Neodstraňujte uzávery. Bubliny v skúmavke interferujú so snímaním hladiny v systéme Panther.

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

F. Príprava systému

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

      Poznámka: *Zvláštnu pozornosť venujte prevencii šírenia kontaminácie formou aerosólu. Jemne uvoľnite uzávery na vzorkách.*

   b. Vložte skúmavku na vzorky do stojana na vzorky.

c. Zopakujte kroky 2.a a 2.b pre každú zostávajúcu vzorku.

d. Po vložení vzoriek do stojana na vzorky vytiahnite a zlikvidujte každý uzáver skúmavky na vzorky v jednom stojane na vzorky. Aby ste predišli kontaminácii, nemanipulujte uzáverom nad žiadnymi inými stojanmi na vzorky ani skúmavkami na vzorky.

e. V prípade potreby odstráňte prípadné bubliny alebo penu pomocou novej jednorazovej prenosovej pipety.

f. Po odstránení posledného uzáveru vložte stojan na vzorky do rezervoára na vzorky.

Poznámka: *Ak súčasne spracovávate ďalšie testy a typy vzoriek, zaistite zachytávač vzoriek pred vložením stojana na vzorky do rezervoára na vzorky.*

g. Zopakujte kroky 2.a až 2.f pre ďalší stojan na vzorky.

Poznámky k postupu

A. Kalibrátor a kontroly

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

B. Prášok rukavíc

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

Kontrola kvality

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

Kalibrácia testu

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

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

Negatívne a pozitívne kontroly

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

V priebehu spracovania sú softvérom systému Panther automaticky overované kritériá pre prijateľnosť kontrol. Aby boli výsledky platné, negatívna kontrola musí poskytnúť výsledok „Not Detected“ (Nedetegované) a pozitívne kontroly výsledky v rámci preddefinovaných parametrov (nominálny cieľ LPC: 2,36 $\log_{10}$ IU/ml, nominálny cieľ HPC: 5,36 $\log_{10}$ IU/ml). Ak majú akékoľvek kontroly neplatný výsledok, softvér automaticky zruší platnosť chodu. Vzorky v neplatnom chode je nutné znovu otestovať pomocou čerstvo pripraveného kalibrátora a čerstvo pripravených kontrol.

Interný kalibrátor/interná kontrola

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

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

Interpretácia výsledkov

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

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

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

Tabuľka 1: Interpretácia výsledkov

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

[a] Diagnostickú interpretáciu je možné poskytnúť zo vzoriek séra alebo plazmy, ktoré neboli nariedené.
[b] Hodnota je skrátená na dve desatinné miesta.
[c] Neplatné výsledky sa zobrazia modrým farebným fontom.

Kritériá prijateľnosti pre jednotlivé kontroly testu Aptima HCV Quant Dx uvádza Tabuľka 2.

Poznámka: *Rozsah výťažnosti uvedený nižšie sa posúva na základe priradenej hodnoty každej konkrétnej šarže. Pozrite si priradenú koncentráciu uvedenú na liste čiarových kódov kontrol dodávanom s každým balením kontrol.*

Tabuľka 2: Kritériá prijateľnosti rozsahu výťažnosti pre kontroly testu Aptima HCV Quant Dx

Komponent	Rozsah zachytenia pre platné chody
Negatívna kontrola	Nevzťahuje sa
Nízka pozitívna kontrola	+/-0,5 log_{10} IU/mL
Vysoká pozitívna kontrola	+/-0,5 log_{10} IU/mL

Obmedzenia

A. Použitie tohto rozboru je limitované na personál, ktorý je vyškolený ohľadom postupu. Nedodržanie pokynov uvedených v tomto príbalovom letáku môže viesť k chybným výsledkom.

B. Spoľahlivé výsledky závisia od adekvátneho odberu preparátov, transportu, uchovávania a spracovania.

C. Mutácie vo vysoko konzervovaných oblastiach vírusového genómu krytých primermi a/alebo sondami v teste Aptima HCV Quant, aj keď vzácne, môžu viesť k nedetegovaniu vírusu.

Analytický výkon

Limit detekcie (LoD) podľa 2. medzinárodného štandardu WHO

Limit detekcie (LoD) testu je definovaný ako koncentrácia HCV RNA detegovaná s pravdepodobnosťou 95 % alebo vyššou podľa CLSI EP17-A2.[18]

LoD bol stanovený testovaním panelov 2. medzinárodného štandardu WHO pre RNA vírusu hepatitídy C (NIBSC 96/798 genotyp 1) s riedením v HCV negatívnej ľudskej EDTA plazme a sére. Testovalo sa minimálne 36 replikátov každého riedenia s každou z troch šarží reagencií, minimálne 108 replikátov na riedenie. Bola vykonaná probit analýza s cieľom získať predikované limity detekcie. Hodnoty LoD sú výsledkom pre šaržu reagencií s najvyšším predikovaným limitom detekcie. 95 % LoD testu Aptima HCV Quant Dx podľa 2. medzinárodného štandardu WHO je 4,3 IU/ml pre plazmu a 3,9 IU/ml pre sérum.

Limit detekcie u rôznych genotypov HCV

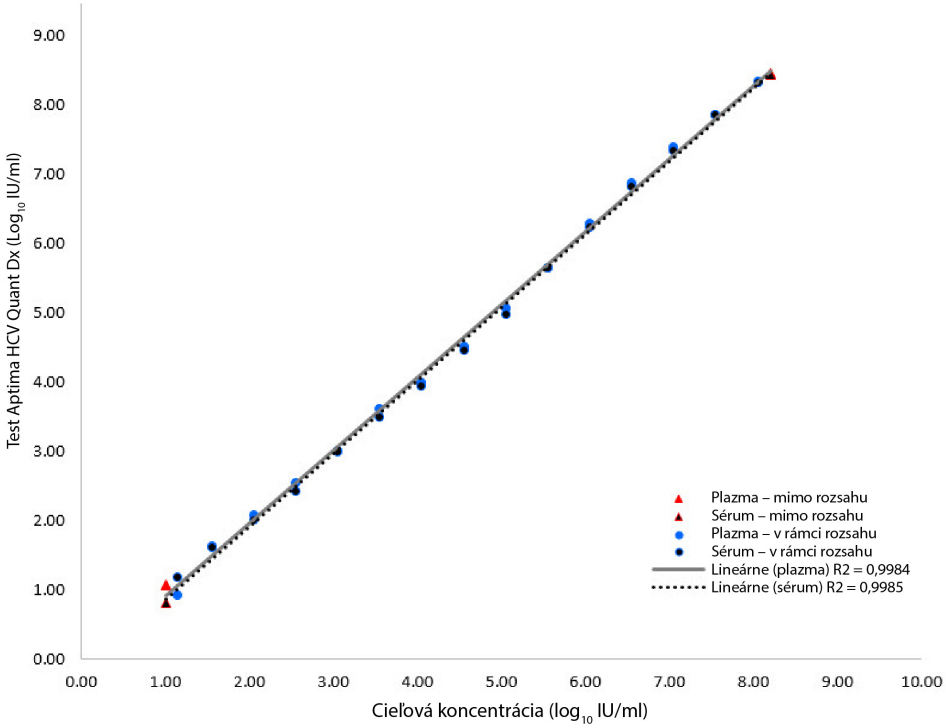
LoD bol stanovený testovaním riedení HCV pozitívnych klinických vzoriek genotypov 1, 2, 3, 4, 5 a 6 v HCV negatívnej ľudskej plazme a sére. Koncentrácie sa stanovili pomocou schváleného testu. Testovalo sa minimálne 20 replikátov každého člena panelu s každou z troch šarží reagencií, minimálne 60 replikátov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

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

Genotyp	Predikovaný limit detekcie	Koncentrácia (IU/ml)	
		Plazma	Sérum
1	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

Lineárny rozsah

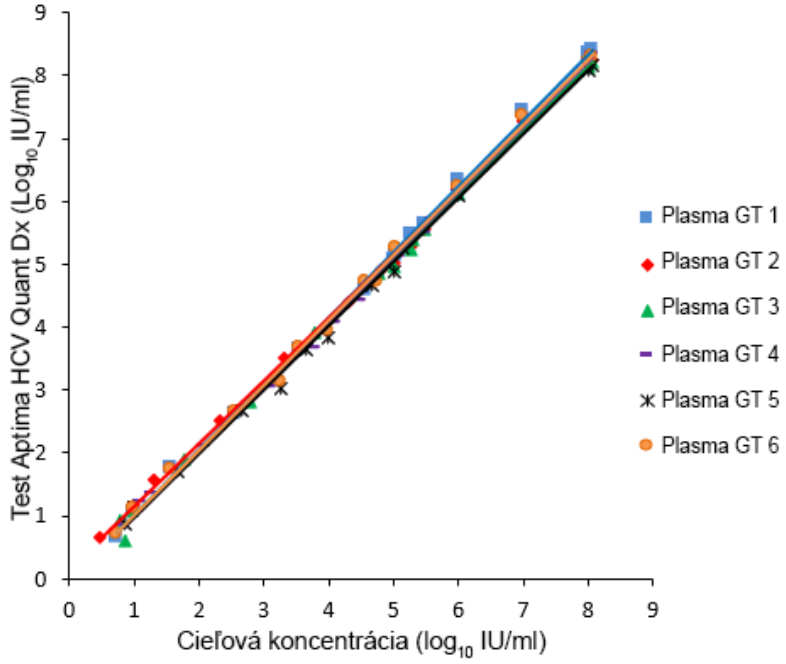
Lineárny rozsah bol stanovený testovaním panelov HCV 1a Armored RNA (aRNA) riedenej v HCV negatívnej ľudskej plazme a sére podľa normy CLSI EP06-A.[19] Rozsah koncentrácií panelov bol od 1,0 log_{10} IU/ml do 8,2 log_{10} IU/ml. Test Aptima HCV Quant Dx vykazoval linearitu v testovanom rozsahu, s horným limitom kvantifikácie (ULoQ) 8,0 log_{10} IU/ml, ako je to zobrazené v Obrázok 6.



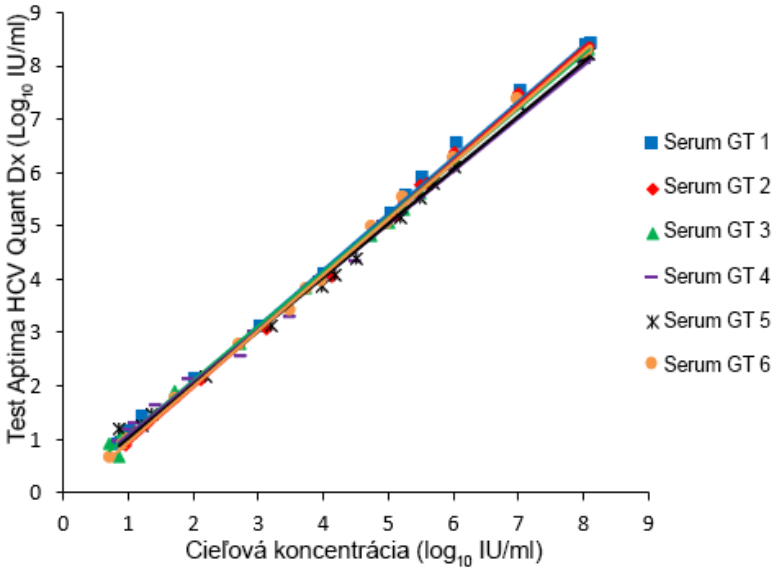
Obrázok 6. Linearita v plazme a sére

Linearita v prípade rôznych genotypov HCV

Linearita a lineárny rozsah genotypov HCV 1 (1a pre plazmu a 1b pre sérum) až 6 sa stanovili testovaním zriedených jednotlivých klinicky pozitívnych vzoriek, jednej pre každý genotyp HCV pre nižší rozsah testu v kombinácii s aRNA (HCV 1a) pre vyšší rozsah testu (nad 100 000 IU/ml). Pre všetky genotypy sa testovali riedenia v negatívnej ľudskej plazme aj séru. Linearita sa preukázala pre všetkých šesť genotypov pozdĺž testovaného rozsahu, ako uvádza Obrázok 7 pre plazmu a Obrázok 8 pre sérum.



Obrázok 7. Lineárny rozsah a linearita (plazma)



Obrázok 8. Lineárny rozsah a linearita (sérum)

Spodný limit kvantifikácie podľa 2. medzinárodného štandardu WHO

Spodný limit kvantifikácie (LLoQ) je definovaný ako najnižšia koncentrácia, pri ktorej je HCV RNA spoľahlivo kvantifikovaná v rámci celkovej chyby podľa normy CLSI EP17-A2.[18] Celková chyba sa odhadla pomocou dvoch metód: Celková analytická chyba (TAE) = |systémová chyba| + 2 SD a celková chyba (TE) = SQRT(2) x 2 SD. Celková chyba testu Aptima HCV Quant Dx bola nastavená na úroveň 1 $\log_{10}$ IU/ml (tzn. pri LLoQ je rozdiel medzi dvomi meraniami vyšší než 1 $\log_{10}$ IU/ml štatisticky významný) s cieľom zaistiť správnosť a presnosť meraní.

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

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

Šarža reagencie	Aptima HCV Quant Dx	Aptima HCV Quant Dx	SD	Systémová chyba	Vypočítaná hodnota TE	Vypočítaná hodnota 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 = smerodajná odchýlka

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

Šarža reagencie	Aptima HCV Quant Dx	Aptima HCV Quant Dx	SD	Systémová chyba	Vypočítaná hodnota TE	Vypočítaná hodnota 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 = smerodajná odchýlka

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

Šarža reagencie	LLoQ plazmy		LLoQ séra	
	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

Stanovenie spodného limitu kvantifikácie (LLoQ) u rôznych genotypov HCV

LLoQ bol stanovený testovaním riedení HCV pozitívnych klinických vzoriek genotypov 1, 2, 3, 4, 5 a 6 v HCV negatívnej ľudskej plazme a sére. Priradenie koncentrácie ku klinickým vzorkám bolo stanovené pomocou komparátorového testu. Testovalo sa minimálne tridsaťšesť (36) replikátov každého člena panelu s každou z troch šarží reagencií, minimálne 108 replikátov na člen panelu. Výsledky zo šarže reagencií s najvyššou koncentráciou rovnou alebo vyššou než LoD spĺňajúce požiadavky na TE a TAE vypočítané podľa normy CLSI EP 17-A2[18] sú uvedené v Tabuľka 7 pre plazmu a Tabuľka 8 pre sérum. V Tabuľka 7 a Tabuľka 8 nižšie je hlásený iba jeden výsledok vyšší ako LLoQ a menší ako LLoQ na genotyp, pretože tieto výsledky najviac odrážajú očakávaný LLoQ. LLoQ pre genotypy 1 až 6 v plazme a sére sú zhrnuté v Tabuľka 9. Genotyp 6 mal najvyšší LLoQ pre sérum v hodnote 10 IU/ml. Toto stanovilo celkový LLoQ pre test na úrovni 10 IU/ml.

Tabuľka 7: Stanovenie LLoQ v prípade rôznych genotypov v plazme

Genotyp	Aptima HCV Quant Dx[a] (IU/ml)	Aptima HCV Quant Dx[a] (log_{10} IU/ml)	SD (log_{10} IU/ml)	Systémová chyba (log_{10} IU/ml)	Vypočítaná hodnota TE (log_{10} IU/ml)	Vypočítaná hodnota 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 = smerodajná odchýlka

[a]Vykonali sa dodatočné úrovne, tieto údaje však nie sú uvedené v tabuľke.

Tabuľka 8: Stanovenie LLoQ u rôznych genotypov v sére

Genotyp	Aptima HCV Quant Dx[a] (IU/ml)	Aptima HCV Quant Dx[a] (log_{10} IU/ml)	SD (log_{10} IU/ml)	Systémová chyba (log_{10} IU/ml)	Vypočítaná hodnota TE (log_{10} IU/ml)	Vypočítaná hodnota 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 = smerodajná odchýlka

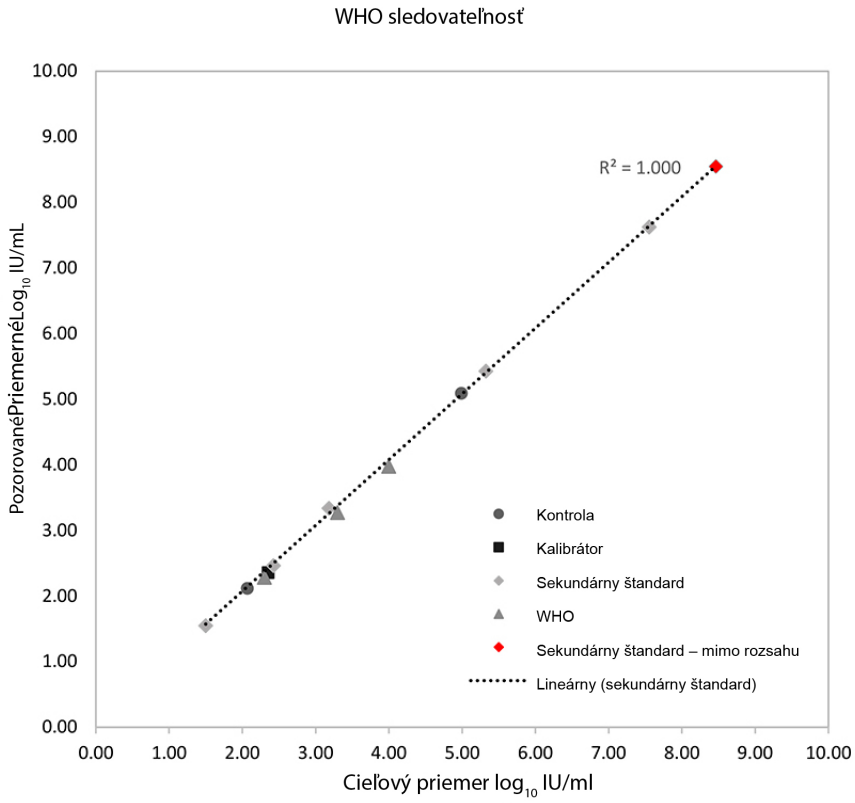
[a]Vykonali sa dodatočné úrovne, tieto údaje však nie sú uvedené v tabuľke.

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

HCV genotyp	LLoQ plazmy		LLoQ séra	
	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

Sledovateľnosť k štandardu WHO

Na stanovenie sledovateľnosti k štandardu WHO sa počas vývoja a výroby produktu používala séria sekundárnych štandardov so známymi koncentráciami. Koncentrácie testované pre štandard HCV WHO sa pohybovali medzi 4,00 a 2,30 log_{10} IU/ml, sekundárne štandardy mali koncentráciu v rozsahu 1,50 až 8,46 log_{10} IU/ml. Kontroly a kalibrátory testu Aptima HCV Quant Dx sa testovali spolu so sekundárnymi štandardmi a štandardom WHO. Všetky panely mali podobné výsledky a boli rozložené lineárne pozdĺž lineárneho rozsahu testu, ako zobrazuje Obrázok 9.



Obrázok 9. Sledovateľnosť medzi cieľovými koncentráciami 2. štandardu WHO pre HCV a pozorovanou koncentráciou v teste Aptima HCV Quant Dx

Presnosť

Panel presnosti Aptima HCV Quant Dx sa vytvoril zriedením klinickej plazmy pozitívnej na HCV a HCV 1a RNA v klinickej plazme negatívnej na HCV (dva najvyššie členy panelu boli aRNA). Sedem pozitívnych členov panelu dosahovalo rozsah testu (1,86 log_{10} IU/ml až 7,68 log_{10} IU/ml) a testovalo sa jedným operátorom v troch replikátoch na chod pomocou jednej pilotnej šarže reagencií na jednom systéme Panther v priebehu 21 testovacích dní (dva chody za deň).

Tabuľka 10 znázorňuje presnosť výsledkov testu (v $\log_{10}$ IU/ml) medzi chodmi, v rámci chodov a celkovo. Celková variabilita bola ≤ 0,14 u všetkých členov panelu, primárne spôsobená variabilitou v rámci spracovania (tzn. náhodná chyba).

Tabuľka 10: Presnosť testu Aptima HCV Quant Dx

N	Priemerná koncentrácia (IU/ml)	Priemerná koncentrácia ($\log_{10}$ IU/ml)	Medzi dňami SD	Medzi chodmi SD	V rámci chodov SD	Spolu 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 = smerodajná odchýlka

[a] Počet platných výsledkov v lineárnom rozsahu testu.

Poznámka: Variabilita spojená s niektorými faktormi môže byť numericky negatívna, k čomu môže dôjsť, ak je variabilita v dôsledku týchto faktorov veľmi malá. Keď k tomu dôjde, SD sa zobrazí ako 0,00.

Potenciálne interferujúce látky

Bola hodnotená náchylnosť testu Aptima HCV Quant Dx na interferenciu spôsobenú zvýšenými hladinami endogénnych látok alebo liečiv bežne predpisovaných pacientom infikovaným HCV. Testovali sa vzorky plazmy negatívne na HCV a vzorky s pridaným vírusom HCV do koncentrácie približne 15 IU/ml (1,2 $\log_{10}$ IU/ml) alebo 1995 IU/ml (3,3 $\log_{10}$ IU/ml) HCV RNA.

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

Klinické vzorky plazmy od pacientov so zvýšenými hladinami definovaných látok alebo od pacientov s ochoreniami (desať vzoriek na každú látku) uvedenými v Tabuľka 11 boli testované pomocou testu Aptima HCV Quant Dx. Nebola pozorovaná interferencia vo výkone testu.

Tabuľka 11: Testované typy klinických vzoriek

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

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

Tabuľka 12: Exogénne látky

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

Výkon s HCV negatívnymi vzorkami

Špecificita bola stanovená za použitia 198 čerstvých a 538 zmrazených HCV negatívnych klinických vzoriek. Celkovo sa pomocou schválených testov potvrdilo, že 370 vzoriek plazmy a 366 vzoriek séra je HCV negatívnych. Špecificita bola vypočítaná ako percentuálny pomer HCV negatívnych vzoriek s výsledkom „Not Detected“ (Nedetegované). HCV RNA nebola detegovaná u žiadnej zo 736 vzoriek. Špecificita bola 100 % (736/736, 95 % CI: 99,6 % – 100 %).

Tabuľka 13: Výkon v klinických HCV negatívnych vzorkách plazmy a séra

	Čerstvá plazma	Zmrazená plazma	Plazma Spolu	Čerstvé Sérum	Zmrazené sérum	Sérum Spolu	Kombinované
Valídne replikáty (n)	100	270	370	98	268	366	736
Nedetegované	100	270	370	98	268	366	736
Špecificita (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 spoľahlivosti

Analytická špecificita

Potenciálna krížová reaktivita s patogénmi uvedenými v Tabuľka 14 bola hodnotená u HCV negatívnej ľudskej plazmy v prítomnosti alebo absencii približne 15 IU/ml (1,2 $\log_{10}$ IU/ml) alebo 1995 IU/ml (3,3 $\log_{10}$ IU/ml) HCV DNA. Nebola pozorovaná žiadna krížová reaktivita. V prítomnosti patogénov nebola pozorovaná žiadna interferencia.

Tabuľka 14: Patogény testované na analytickú špecificitu

Patogén	Koncentrácia	
Vírus hepatitídy A	100 000	počet kópií/ml
Vírus hepatitídy B (HBV)	100 000	IU/ml[a]
Vírus hepatitídy G	1 470	genóm/ml
HIV-1	100 000	počet kópií/ml
HIV-2	100 000	PFU/ml[b]
Herpes simplex vírus 1 (HSV-1)	100 000	PFU/ml
Herpes simplex vírus 2 (HSV-2)	100 000	PFU/ml
Ľudský herpes vírus 6B	100 000	počet kópií/ml
Ľudský herpes vírus 8	2 667	TCID50 U/ml[c]
Ľudský T-bunkový lymfotropný vírus typu 1 (HTLV-1)	100 000	vp/ml[d]
Ľudský T-bunkový lymfotropný vírus typu 2 (HTLV-2)	100 000	vp/ml
Parvovirus B19	100 000	IU/ml
Západonílsky vírus	100 000	PFU/ml
Vírus dengue 1	100 000	PFU/ml
Vírus dengue 2	100 000	PFU/ml
Vírus dengue 3	100 000	PFU/ml
Vírus dengue 4	100 000	PFU/ml
Cytomegalovírus	100 000	PFU/ml
Vírus Epsteina a Barrovej	100 000	počet kópií/ml
Vírus osýpok	100 000	PFU/ml
Ľudský papilomavírus	100 000	buniek/ml
Adenovírus typ 5	100 000	TCID50 U/ml
Vírus influenzy A	100 000	TCID50 U/ml
Vírus japonskej encefalitídy	NA	NA
Vírus encefalitídy St. Louis	NA	NA
Vírus encefalitídy Murray Valley	2 643	LD50/ml[e]
Vírus žltej zimnice	100 000	buniek/ml

Patogén	Koncentrácia	
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	buniek/ml

[a]IU/ml = medzinárodné jednotky na ml

[b]PFU/ml = počet jednotiek tvoriacich plak na ml

[c]TCID50 U/ml = jednotky infekčnej dávky pre tkanivovú kultúru na ml

[d]vp/ml = viriónov na ml

[e]LD50/ml = letálna dávka na ml

[f]CFU/ml = počet jednotiek tvoriacich kolónie na ml

[g]IFU/ml = jednotky tvoriace inklúzie na ml

Klinické vzorky obsahujúce vírusy iné než HCV

Patogény uvedené v Tabuľka 15 prešli hodnotením pomocou individuálnych prirodzene infikovaných klinických vzoriek. Testovali sa v prítomnosti alebo absencii približne 15 IU/ml (1,2 $\log_{10}$ IU/ml) alebo 1995 IU/ml (3,3 $_{10}$ IU/ml) vírusu HCV. Nebola pozorovaná žiadna krížová reaktivita. Nebola pozorovaná žiadna interferencia.

Tabuľka 15: Klinické vzorky testované na analytickú špecificitu

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

Ekvivalencia matrice

Ekvivalencia matrice sa hodnotila u sedemdesiatichšiestich súborov vzoriek párovaných odberových skúmaviek na krv (sérové skúmavky, SST, PPT, ACD, K2 EDTA, K3 EDTA). Z týchto súborov vzoriek bolo 68 prirodzene infikovaných HCV pozitívnych súborov a 108 bolo HCV negatívnych súborov. Dvadsaťšesť zo 68 pozitívnych súborov bolo ďalej zriedených s 13 negatívnymi vzorkami párovaných odberových skúmaviek na krv v pomere 1 : 10, 1 : 100 a 1 : 1000 alebo 1 : 100, 1 : 10 000 a 1 : 100 000, s koncentráciami pozdĺž dynamického rozsahu testu (146 pozitívnych replikátov na odberovú skúmavku). Korelácia sa merala pomocou odberovej skúmavky na sérum ako komparátora.

Tabuľka 16: Štúdia ekvivalencie matrice

Odberová skúmavka na krv	Demingova regresia	95 % C.I. sklonu		95 % C.I. priesečníka		R^2	Priemerný rozdiel ($\log_{10}$)
		Spodný limit	Horný limit	Spodný limit	Horný limit		
SST	y = 1,00x - 0,01	0,99	1,01	-0,05	0,07	0,998	0,00
K2 EDTA	y = 1,01x - 0,03	0,99	1,02	-0,12	-0,07	0,995	0,00
K3 EDTA	y = 1,00x - 0,01	0,98	1,01	-0,10	0,07	0,996	-0,02
ACD	y = 1,00x - 0,14	0,99	1,01	-0,20	-0,08	0,997	-0,13
PPT	y = 1,00x - 0,01	0,98	1,01	-0,10	0,08	0,996	-0,01

Riedenie vzorky pomocou riediaceho prípravku na vzorky Aptima (1 : 3)

Na vyhodnotenie presnosti detekcie HCV RNA vo vzorkách zriedených pomocou riediacej plazmy alebo séra na vzorky Aptima boli vzorky od 1,67 log_{10} IU/ml do 6,34 log_{10} IU/ml zriedené v pomere 1 : 3 pomocou riediaceho prípravku na vzorky Aptima (240 µl vzorky skombinovanej s 480 µl riediaceho prípravku na vzorky Aptima). Každá vzorka bola trikrát testovaná čistá a nariedená (1 : 3). Testovanie sa vykonalo pomocou jednej šarže reagencií testu na jednom systéme Panther a s dvomi šaržami riediaceho prípravku na vzorky Aptima. Rozdiel medzi čistými a zriedenými výsledkami testov sa vypočítal pre každý súbor vzoriek, ako je uvedené v Tabuľka 17 pre plazmu a v Tabuľka 18 pre sérum.

Tabuľka 17: Súhrn porovnania vzorky plazmy s riediacou matricou v pomere 1 : 3 v log_{10} IU/ml

Matrica plazmy Priemerná hlásená koncentrácia (log_{10} IU/ml) n = 3	Riediaci prípravok Priemerná hlásená koncentrácia (log_{10} IU/ml) n = 6	Rozdiel Riediaci prípravok odčítaný od matrice plazmy (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]Výsledok z dvoch replikátov. Jeden výsledok „detegované“, ale nekvantifikované.
[b]Výsledok zo štyroch replikátov. Dva výsledky „detegované“, ale nekvantifikované.

Tabuľka 18: Súhrn porovnania vzorky séra s riediacou matricou v pomere 1 : 3 v log_{10} IU/ml

Matrica séra Priemerná hlásená koncentrácia (log_{10} IU/ml) n = 3	Riediaci prípravok Priemerná hlásená koncentrácia (log_{10} IU/ml) n = 6	Rozdiel Riediaci prípravok odčítaný od matrice séra (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]Výsledok z dvoch replikátov. Jeden výsledok „detegované“, ale nekvantifikované.

Riedenie vzorky pomocou riediaceho prípravku na vzorky Aptima (1 : 100)

Na posúdenie presnosti detekcie HCV RNA vo vzorkách plazmy alebo séra zriedených pomocou riediaceho prípravku na vzorky Aptima sa v triplikátoch testovalo päť vzoriek prirodzene infikovanej plazmy a päť vzoriek prirodzene infikovaného séra spolu s desiatimi vzorkami HCV negatívnej plazmy a séra, do ktorých bola pridaná HCV aRNA cielená nad ULoQ, 8 log_{10} IU/ml pri 8,30 log_{10} IU/ml. Tesne pred testovaním sa vykonalo riedenie 1 : 100 s jedným dielom vzorky a 99 dielmi riediaceho prípravku na vzorky Aptima. Testovanie sa vykonalo pomocou jednej šarže reagencií testu na jednom systéme Panther a s dvomi šaržami riediaceho prípravku na vzorky Aptima. Rozdiel medzi čistými a zriedenými výsledkami testov sa vypočítal pre každý súbor vzoriek, ako je uvedené v Tabuľka 19 pre plazmu a v Tabuľka 20 pre sérum.

Tabuľka 19: Súhrn porovnania vzorky plazmy s riediacou matricou v pomere 1 : 100 v log_{10} IU/ml

Matrica	Riedenie	Matrica plazmy Priemerná hlásená koncentrácia (log_{10} IU/ml) n = 3	Riediaci prípravok Priemerná hlásená koncentrácia (log_{10} IU/ml) n = 6	Rozdiel
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]Vzorka s pridanou HCV aRNA

Tabuľka 20: Súhrn porovnania vzorky séra s riediacou matricou v pomere 1 : 100 v log_{10} IU/ml

Matrica	Riedenie	Matrica séra Priemerná hlásená koncentrácia (log_{10} IU/ml) n = 3	Riediaci prípravok Priemerná hlásená koncentrácia (log_{10} IU/ml) n = 6	Rozdiel
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]Vzorka s pridanou HCV aRNA

[b]Výsledok dvoch z troch testovaných replikátov. Odstránený jeden mimoležiaci replikát.

Potvrdenie LLoQ u klinických vzoriek riedených v riediacom prípravku na vzorky

LLoQ testu Aptima HCV Quant sa potvrdil klinickými vzorkami s HCV genotypu 1 zriedenými v riediacom prípravku na vzorky Aptima. Vzorky sa pripravili v ľudskej plazme a sére negatívnych na HCV v koncentráciách 21, 30 a 45 IU/ml. Každý panel sa tesne pred testovaním zriedil v pomere 1 : 3 s riediacim prípravkom na vzorky Aptima do konečných koncentrácií približne 7, 10 a 15 IU/ml. Každý člen panelu sa testoval v tridsiatichšiestich (36) replikátoch s jednou šaržou reagencií v priebehu troch dní. Potvrdil sa LLoQ ≤ 10 IU/ml pre plazmu a sérum HCV zriedené v riediacom prípravku na vzorky Aptima, ako je to zobrazené v Tabuľka 21.

Tabuľka 21: Potvrdenie LLoQ – klinické vzorky v riediacom prípravku na vzorky Aptima

Matrica	Cieľová koncentrácia (IU/ml)	Cieľová koncentrácia (log_{10} IU/ml)	% Detegované	Aptima HCV Quant Dx (IU/ml)	Aptima HCV Quant Dx (log_{10} IU/ml)	SD (log_{10} IU/ml)	Systémová chyba (log_{10} IU/ml)	Vypočítaná hodnota TE (log_{10} IU/ml)	Vypočítaná hodnota 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

Presnosť riedených vzoriek

Panel presnosti Aptima HCV Quant Dx sa vytvoril zriedením klinickej plazmy pozitívnej na HCV a HCV RNA v klinickej plazme negatívnej na HCV. Tieto panely sa ďalej riedili v riediacom prípravku na vzorky Aptima. Pozitívne panely sa zriedili v riediacom prípravku na vzorky Aptima. Tieto panely sa testovali v troch replikátoch na chod jedným operátorom pomocou jednej pilotnej šarže reagencií na jednom systéme Panther v priebehu 21 testovacích dní (dva chody za deň).

Tabuľka 22 znázorňuje presnosť výsledkov testu (v $\log_{10}$ IU/ml) medzi chodmi, v rámci chodov, medzi dňami a celkovo. Celková variabilita bola ≤ 0,15 u všetkých členov panelu, primárne spôsobená variabilitou v rámci spracovania (tzn. náhodná chyba).

Tabuľka 22: Presnosť panelov riedených v riediacom prípravku na vzorky Aptima

Riedenie	N	Priemerná koncentrácia ($\log_{10}$ IU/ml)	Smerodajná odchýlka			
			Medzi dňami	Medzi chodmi	V rámci chodov	Spolu
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 výsledkov v lineárnom rozsahu testu

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

Prenos

Bola vykonaná štúdia za použitia doplnených panelov na troch systémoch Panther s cieľom potvrdiť, že systém Panther minimalizuje riziko falošne pozitívnych výsledkov vznikajúcich kontamináciou v dôsledku prenosu. Prenos bol hodnotený pomocou doplnených vzoriek plazmy s pridanou aRNA vo vysokom titri (7 $\log_{10}$ IU/ml) vmedzerných medzi HCV negatívne vzorky v šachovnicovom vzorci. Testovanie prebehlo v pätnástich chodoch. Celková miera prenosu bola 0,14 % (1/704)

Panel sérokonverzie

Bolo testovaných jedenásť súborov panelov sérokonverzie HCV, celkom 72 vzoriek. Výsledky testu Aptima HCV Quant Dx boli porovnané s výsledkami testu na protilátky proti HCV. Počet dní do prvého reaktívneho výsledku uvádza Tabuľka 23. Test Aptima HCV Quant Dx detegoval prítomnosť HCV v priemere o 20 dní skôr než protilátkové testy.

Tabuľka 23: Súhrn údajov panelu sérokonverzie

ID panelu	Počet testovaných členov panelu	Počet reaktívnych členov panelu			Dni do prvého reaktívneho výsledku			Rozdiel v dňoch do prvého reaktívneho výsledku (na základe dátumu odberu krvi)	
		Aptima HCV Quant Dx	Test protilátok proti HCV 1	Test protilátok proti HCV 2	Aptima HCV Quant Dx	Test protilátok proti HCV 1	Test protilátok proti HCV 2	Dní skôr než test protilátok proti HCV 1	Dní skôr než test protilátok proti HCV 2
PHV911	4	4	3	3	3[a]	14	14	11	11
PHV913	4	4	0	2	0	9[b]	7	9	7
PH919	7	4	3	3	25	28	28	3	3
PH920	9	9	7	6	0[c]	13	16	13	16
PH921	11	11	9	7	0	7	18	7	18
PH923	6	6	2	2	0	21	21	21	21
PH924	6	6	3	3	0	59	59	59	59
PH925	5	5	1	1	0	27	27	27	27
PH926	5	5	1	0	0	14	14[b]	14	14
6227	7	4	2	2	42	74	74	32	32
6229	8	8	4	3	0	17	20	17	20
Spolu	72	66	35	32			Priemerné	19,36	20,73
							Medián	14	18

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

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

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

[a] Vzorka z prvého odberu nebola testovaná, keďže nebola dostupná u predajcu.

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

[c] Vzorka z druhého odberu nebola testovaná, keďže nebola dostupná u predajcu.

Štúdia reprodukovateľnosti

Reprodukovateľnosť sa hodnotila na systéme Panther na troch externých miestach v USA. Testovanie vykonali na každom pracovisku dvaja operátori. Počas testovania vykonal každý operátor dva chody za deň v priebehu troch dní pomocou 3 šarží reagencií. Každý chod mal 3 replikáty každého člena panelu. Celkovo sa testovalo 108 replikátov každého člena panelu.

Reprodukovateľnosť sa testovala pomocou členov panelu vyrobených z HCV negatívnej plazmy. Pozitívne členy panelu boli pozitívne na HCV genotyp 1, genotyp 2 alebo genotyp 3. Koncentrácie HCV RNA pokrývali lineárny rozsah testu.

Tabuľka 24 uvádza reprodukovateľnosť a presnosť výsledkov testu pre každý pozitívny člen panelu medzi pracoviskami, medzi operátormi, medzi šaržami, medzi dňami, medzi chodmi, v rámci chodov a celkom a podiel replikátov s výsledkami mimo rozsahu podliehajúcemu hláseniu testu Aptima HCV Quant Dx.

Variačný koeficient sa vypočítal pomocou tejto rovnice, kde σ^2 je rozptyl vzoriek z údajov po transformácii $\log_{10}$.

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

Pre HCV negatívny člen panelu sa testovalo 108 replikátov a vo všetkých 108 replikátoch nebola HCV RNA detegovaná (negatívna zhoda = 100 %, 95 % CI: 96,6 % až 100 %). Pre všetky členy panelu pozitívne na HCV boli hodnoty zhody 100 %.

Tabuľka 24: Reprodukovateľnosť úrovní HCV RNA v teste Aptima HCV Quant Dx na systéme Panther u pozitívnych členov panelu

GT	Pozorovaný priemer			Medzi miestami	Medzi šaržami	Medzi operátormi/dňami[a]	Medzi chodmi	V rámci chodov	Spolu		
	N	IU/mL	Log_{10} IU/mL	SD (%CV)	SD (%CV)	SD (%CV)	SD (%CV)	SD (%CV)	SD (%CV)	Pod LLoQ n (%)	Nad 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 priemer			Medzi miestami	Medzi šaržami	Medzi operátormi/dňami[a]	Medzi chodmi	V rámci chodov	Spolu		
	N	IU/mL	Log_{10} IU/mL	SD (%CV)	SD (%CV)	SD (%CV)	SD (%CV)	SD (%CV)	SD (%CV)	Pod LLoQ n (%)	Nad 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)

% CV = lognormálny variačný koeficient, GT = genotyp, SD = smerodajná odchýlka (log_{10} IU/ml)

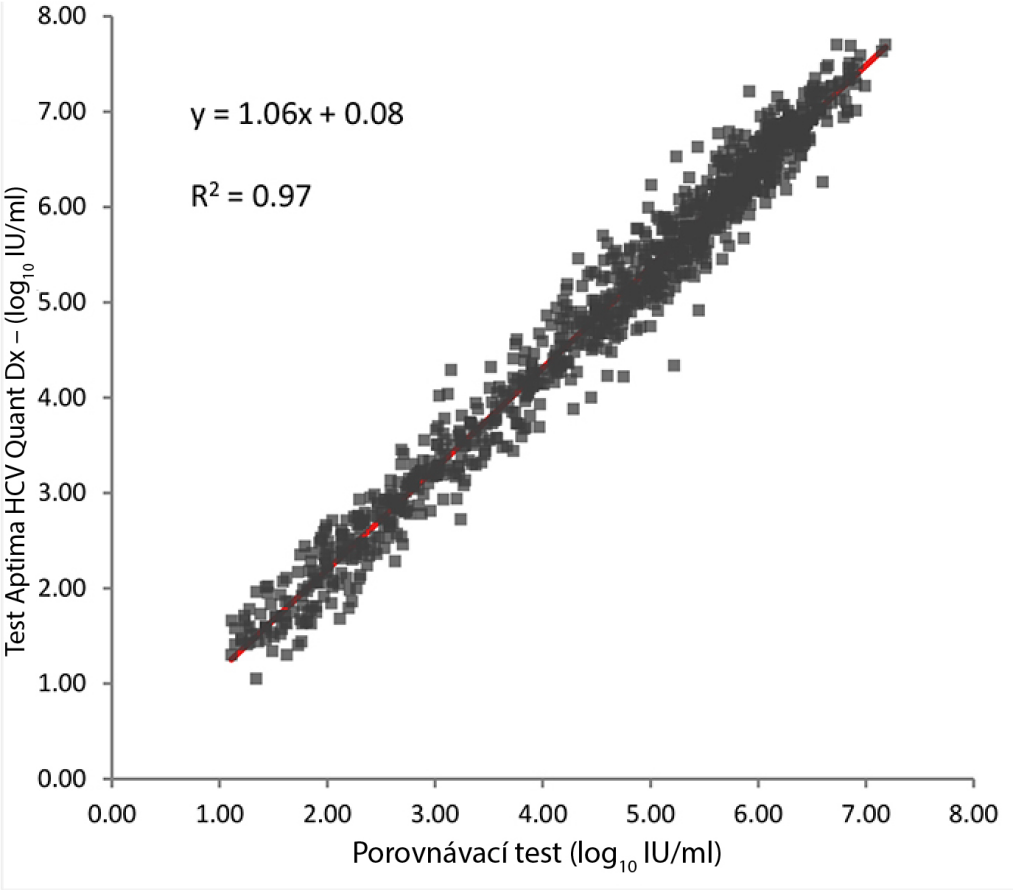
Poznámka: Variabilita niektorých faktorov môže byť číselne negatívna. Môže sa to stať, ak je variabilita spôsobená týmito faktormi veľmi malá. V týchto prípadoch sú SD a CV zobrazené ako 0.

[a] Hodnoty Medzi operátormi môžu byť ovplyvnené hodnotami Medzi dňami, preto sa odhady pre hodnoty Medzi operátormi a Medzi dňami zlučujú vo forme Medzi operátormi/dňami.

Klinický výkon

Korelácia metód

Výkon testu Aptima HCV Quant Dx bol hodnotený proti komparátorovému testu s označením CE testovaním neriedených klinických vzoriek od pacientov infikovaných HCV na troch systémoch Panther za použitia štyroch šarží reagencií. Celkom 1 058 vzoriek plazmy a séra (872 vzoriek plazmy, 186 vzoriek séra) zo všetkých genotypov HCV v lineárnom rozsahu spoločnom pre oba testy bolo použitých na lineárnu regresiu, ako je to zobrazené v Obrázok 10.



Obrázok 10. Korelácia medzi testom Aptima HCV Quant Dx a komparátorovým testom

Štúdia klinickej užitočnosti

Štúdia bola navrhnutá tak, aby preukázala klinickú užitočnosť odhadom vlastností účinnosti na dosiahnutie pretrvávajúcej virologickej odpovede (SVR) alebo nepretrvávajúcej virologickej odpovede (NSVR) v stanovených klinicky relevantných časových bodoch počas 8, 12 alebo 24-týždňovej antivírusovej liečby. V štúdii sa hodnotil aj vplyv kovariánt (t. j. vek, pohlavie, rasa, východisková hladina HCV RNA, prítomnosť alebo neprítomnosť cirhózy) na odpoveď SVR.

Vzorky boli prospektívne odobraté od účastníkov chronicky infikovaných vírusom HCV s genotypom 1, 2 a 3, ktorí začínali liečbu 8-, 12- alebo 24-týždňovou liečbou založenou na sofosbuvire s použitím schválených liekov FDA predpísaných v súlade so schváleným označením FDA a/alebo usmerneniami AASLD/IDSA pre liečbu HCV.[20,21] Do štúdie sa mohli zapojiť účastníci bez liečby HCV alebo účastníci so skúsenosťami s liečbou a účastníci bez cirhózy alebo s kompenzovanou cirhózou, podľa toho, čo sa vzťahuje na každý režim liečby.

Stanovenie vírusovej záťaže HCV RNA sa vykonalo na východiskovej úrovni, v týždni 1, týždni 2, týždni 4, týždni 8, týždni 12 a týždni 24 pomocou testu Aptima HCV Quant Dx. Koniec liečby (EOT) a výsledky následných kontrol po liečbe v týždni 4 a týždni 12 sa stanovili pomocou testu Aptima HCV Quant Dx a dvoch schválených kvantitatívnych testov HCV RNA. SVR bola definovaná ako úroveň HCV RNA < LLoQ stanovená schváleným kvantitatívnym testom na vzorke po liečbe v týždni 12.

Z 352 účastníkov zaradených z 35 klinických pracovísk v USA malo 274 účastníkov presvedčivý stav SVR a bolo možné ich vyhodnotiť na analýzu. 56 účastníkov nemalo hodnotiteľný stav SVR a neboli zaradení do analýzy. Ďalších 22 účastníkov malo presvedčivý stav SVR, ale neboli hodnotiteľní z dôvodu chýbajúcich alebo detegovaných výsledkov pred liečbou/východiskových výsledkov, všetkých výsledkov počas liečby < LLoQ, alebo z dôvodu, že genotypy neboli stanovené schváleným testom. V tejto štúdii 90,5 % (248/274) účastníkov dosiahlo SVR a 9,5 % (26/274) dosiahlo NSVR (počty podľa genotypu a DRA uvádza Tabuľka 31 až Tabuľka 33). Najvyššia východisková vírusová záťaž bola 7,58 $\log_{10}$ IU/ml stanovená testom Aptima HCV Quant Dx. Všetci hodnotení účastníci dokončili liečbu bez zlyhania liečby (napr. bez odpovede). Na troch testovacích miestach v USA sa testovalo celkovo 2449 vzoriek odobratých od každého účastníka v rôznych časových bodoch.

Tabuľka 25 uvádza demografiu účastníkov a klinické vlastnosti 274 hodnotiteľných účastníkov.

Tabuľka 25: Demografia a klinické vlastnosti

Vlastnosti		
Spolu	N	274
Pohlavie	Žena, n (%)	112 (40,9)
	Muž, n (%)	162 (59,1)
Vek (roky)	n	274
	Priemerné	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)
Etnická príslušnosť	n	274
	Hispánska alebo latinskoamerická, n (%)	65 (23,7)
	Iná ako hispánska alebo latinskoamerická, n (%)	202 (73,7)
	Neznáma, n (%)	6 (2,2)
	Odmietli uviesť, n (%)	1 (0,4)
Rasa[a]	n	274
	Biela, n (%)	223 (81,4)
	Čierna alebo afroamerická, n (%)	43 (15,7)
	Ázijská, n (%)	1 (0,4)
	Americký indián/pôvodný obyvateľ Aljašky, (%)	3 (1,1)
	Pôvodný obyvateľ ostrova Hawai/ostrovov v Pacifiku, n (%)	0 (0,0)
	Iná, n (%)	3 (1,1)
	Neznáma, n (%)	1 (0,4)
	Odmietli uviesť, 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)
Stav liečby HCV	n	274
	Bez liečby, n (%)	232 (84,7)
	So skúsenosťami, n (%)	42 (15,3)
	Po relapse, n (%)	32 (76,2)
	Nulová odpoveď, n (%)	1 (2,4)
	Žiadna odpoveď, n (%)	2 (4,8)
	Čiastočná odpoveď, n (%)	3 (7,1)
	Prielom, n (%)	1 (2,4)
	Rebound fenomén, n (%)	0 (0,0)
	Neznáma odpoveď na liečbu, n (%)	3 (7,1)
	Chýbajúci, n (%)	0 (0,0)
Stav cirhózy	n	274
	Cirhotický, n (%)	98 (35,8)
	Necirhotický, n (%)	176 (64,2)

[a] Účastníci môžu hlásiť viaceré rasy

Tabuľka 26 uvádza konečné priradenia liečebných režimov pre 274 hodnotiteľných účastníkov.

Tabuľka 26: Súhrn konečných priradení liečebných režimov účastníkov podľa genotypu

Priradenie liečebného režimu	Genotyp HCV n (%)		
	1	2	3
Sofosbuvir a peginterferón a ribavirín po dobu 12 týždňov	25 (15,8)	–	3 (6,0)
Sofosbuvir a simeprevir a/alebo ribavirín po dobu 12 týždňov	63 (39,9)	–	–
Sofosbuvir a simeprevir a/alebo ribavirín po dobu 24 týždňov	4 (2,5)	–	–
Sofosbuvir a ribavirín po dobu 12 týždňov	–	66 (100)	–
Sofosbuvir a ribavirín po dobu 24 týždňov	6 (3,8)	–	47 (94,0)
Ledipasvir a sofosbuvir po dobu 8 týždňov	14 (8,9)	–	–
Ledipasvir a sofosbuvir po dobu 12 týždňov	39 (24,7)	–	–
Ledipasvir a sofosbuvir po dobu 24 týždňov	7 (4,4)	–	–
Celkový počet spôsobilých účastníkov	158	66	50

Tabuľka 27 hodnotí súvislosť východiskových kovariánt (vek, rasa, pohlavie, východisková vírusová záťaž HCV [binárna premenná] a cirhotický stav) a SVR pomocou pomeru šancí (OR) pomocou jednorozmernej (neupravenej) logistickej regresnej analýzy. Výsledky 274 hodnotiteľných účastníkov boli hodnotené genotypom HCV. V prípade genotypov 1 a 2 mali cirhotickí účastníci menšiu pravdepodobnosť dosiahnutia SVR než necirhotickí účastníci (OR = 0,16 [95 % Wald CI: 0,04 až 0,63], P = 0,009 a OR = 0,13 [95 % Wald CI: 0,02 až 0,70], P = 0,017, v príslušnom poradí). Hodnoty 95 % CI pre ostatné kovarianty pre genotyp 1 a 2 a všetky kovarianty pre genotyp 3 zahŕňali hodnotu 1 a neboli štatisticky významné.

Tabuľka 27: Hodnotenie prediktorov východiskovej hodnoty SVR na východiskovej úrovni

GT	Kategória	N	Skupina	N (%)	Dosiahnutie SVR (%)	Pomer šancí (Wald 95 % CI) pomocou jednorozmernej analýzy LR	P hodnota
1	Vek	158	≥ 40 rokov	146 (92,4)	91,8	0 [0 – ∞)	Nepočítateľné
			< 40 rokov	12 (7,6)	100		
	Pohlavie	158	Muž	92 (58,2)	90,2	0,44 (0,11 – 1,69)	0,231
			Žena	66 (41,8)	95,5		
	Rasa	158	Biela	116 (73,4)	94,0	2,10 (0,63 – 7,03)	0,227
			Iná ako biela	42 (26,6)	88,1		
	Východisková vírusová záťaž HCV RNA[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		
	Stav cirhózy	158	Cirhóza	57 (36,1)	84,2	0,16 (0,04 – 0,63)	0,009
			Bez cirhózy	101 (63,9)	97,0		
2	Vek	66	≥ 40 rokov	60 (90,9)	88,3	1,51 (0,15 – 14,91)	0,722
			< 40 rokov	6 (9,1)	83,3		
	Pohlavie	66	Muž	36 (54,5)	86,1	0,69 (0,15 – 3,15)	0,631
			Žena	30 (45,5)	90,0		
	Rasa	66	Biela	61 (92,4)	86,9	0 [0 – ∞)	Nepočítateľné
			Iná ako biela	5 (7,6)	100		
	Východisková vírusová záťaž HCV RNA	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		
	Stav cirhózy	66	Cirhóza	22 (33,3)	72,7	0,13 (0,02 – 0,70)	0,017
			Bez cirhózy	44 (66,7)	95,5		
3	Vek	50	≥ 40 rokov	44 (88,0)	86,4	0 [0 – ∞)	NC
			< 40 rokov	6 (12,0)	100		
	Pohlavie	50	Muž	34 (68,0)	85,3	0,39 (0,04 – 3,62)	0,405
			Žena	16 (32,0)	93,8		
	Rasa	50	Biela	46 (92,0)	87,0	0 [0 – ∞)	Nepočítateľné
			Iná ako biela	4 (8,0)	100		
	Východisková vírusová záťaž HCV RNA[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		
	Stav cirhózy	50	Cirhóza	19 (38,0)	78,9	0,26 (0,04 – 1,58)	0,143
			Bez cirhózy	31 (62,0)	93,5		

CI = interval spoľahlivosti, GT = genotyp, LR = logistická regresia

[a]Kovariant východiskovej vírusovej záťaže HCV RNA nezahŕňa účastníkov, ktorí pred začiatkom liečby neposkytli kvantitatívnu vírusovú záťaž HCV RNA.

Odpoveď na antivírusovú liečbu

Vlastnosti výkonu testu boli stanovené pre osoby liečené určitými režimami DAA. Nie sú dostupné žiadne informácie o prediktívnej hodnote testu pri použití iných kombinovaných liečebných postupov DAA.

Definície:

Vírusová záťaž (VL) v týždni 1 = HCV RNA < LLoQ = 10 IU/ml v týždni 1 antivírusovej liečby

VL v týždni 2 = HCV RNA < LLoQ = 10 IU/ml v týždni 2 antivírusovej liečby

VL v týždni 4 = HCV RNA < LLoQ = 10 IU/ml v týždni 4 antivírusovej liečby

VL v týždni 8 = HCV RNA < LLoQ = 10 IU/ml v týždni 8 antivírusovej liečby

VL v týždni 8 (EOT): HCV RNA < LLoQ v týždni 8 antivírusovej liečby

VL v týždni 12 = HCV RNA < LLoQ = 10 IU/ml v týždni 12 antivírusovej liečby

VL v týždni 12 (EOT): HCV RNA < LLoQ v týždni 12 antivírusovej liečby

VL v týždni 24 (EOT): HCV RNA < LLoQ v týždni 24 antivírusovej liečby

Pretrvávajúca virologická odpoveď (SVR)12: HCV RNA < LLoQ v týždni 12 po dokončení antivírusovej liečby, merané nezávislým testom na HCV RNA.

Tabuľka 28 a Tabuľka 29 uvádzajú frekvenciu odpovede a chýbajúcej odpovede SVR v príslušnom poradí podľa genotypu a celkového liečebného režimu u účastníkov, ktorí sú cirhotickí, necirhotickí, bez liečby alebo so skúsenosťami s liečbou. Väčšina účastníkov dosiahla SVR naprieč genotypmi: 92,4 % genotyp 1, 87,9 % genotyp 2 a 88,0 % genotyp 3. Miery dosiahnutia SVR boli naprieč genotypmi všeobecne vyššie u necirhotických účastníkov než u cirhotických účastníkov a podobné medzi účastníkmi bez liečby a účastníkmi so skúsenosťami s liečbou.

Tabuľka 28: Frekvencia odpovede SVR podľa genotypu a liečebného režimu

GT	DRA	Účastníci reagujúci na SVR n (%)				
		Celkom	Cirhóza	Bez cirhózy	Bez predchádzajúcej liečby	So skúsenosťami s liečbou
1	Ledipasvir a sofosbuvir po dobu 8 týždňov	13/14 (92,9)	Nevzťahuje sa	13/14 (92,9)	13/14 (92,9)	Nevzťahuje sa
	Ledipasvir a sofosbuvir po dobu 12 týždňov	39/39 (100)	9/9 (100)	30/30 (100)	34/34 (100)	5/5 (100)
	Ledipasvir a sofosbuvir po dobu 24 týždňov	6/7 (85,7)	6/7 (85,7)	Nevzťahuje sa	Nevzťahuje sa	6/7 (85,7)
	Sofosbuvir a peginterferón a ribavirín po dobu 12 týždňov	24/25 (96,0)	7/7 (100)	17/18 (94,4)	22/23 (95,7)	2/2 (100)
	Sofosbuvir a ribavirín po dobu 24 týždňov	6/6 (100)	1/1 (100)	5/5 (100)	5/5 (100)	1/1 (100)
	Sofosbuvir a simeprevir a/alebo ribavirín po dobu 12 týždňov	54/63 (85,7)	21/29 (72,4)	33/34 (97,1)	45/54 (83,3)	9/9 (100)
	Sofosbuvir a simeprevir a/alebo ribavirín po dobu 24 týždňov	4/4 (100)	4/4 (100)	Nevzťahuje sa	2/2 (100)	2/2 (100)
2	Sofosbuvir a ribavirín po dobu 12 týždňov	58/66 (87,9)	16/22 (72,7)	42/44 (95,5)	53/60 (88,3)	5/6 (83,3)
3	Sofosbuvir a peginterferón a ribavirín po dobu 12 týždňov	3/3 (100)	3/3 (100)	Nevzťahuje sa	1/1 (100)	2/2 (100)
	Sofosbuvir a ribavirín po dobu 24 týždňov	41/47 (87,2)	12/16 (75,0)	29/31 (93,5)	35/39 (89,7)	6/8 (75,0)

DRA = priradenie liečebných režimov, GT = genotyp, Nevzťahuje sa = liečebný režim sa nevzťahuje na túto skupinu pacientov

Tabuľka 29: Frekvencia chýbajúcej odpovede SVR podľa genotypu a liečebného režimu

GT	DRA	Účastníci nereagujúci na SVR n (%)				
		Celkom	**Cirhóza**	**Bez cirhózy**	**Bez predchádzajúcej liečby**	**So skúsenosťami s liečbou**
1	Ledipasvir a sofosbuvir po dobu 8 týždňov	1/14 (7,1)	Nevzťahuje sa	1/14 (7,1)	1/14 (7,1)	Nevzťahuje sa
	Ledipasvir a sofosbuvir po dobu 12 týždňov	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 týždňov	1/7 (14,3)	1/7 (14,3)	Nevzťahuje sa	Nevzťahuje sa	1/7 (14,3)
	Sofosbuvir a peginterferón a ribavirín po dobu 12 týždňov	1/25 (4,0)	0/7 (0,0)	1/18 (5,6)	1/23 (4,3)	0/2 (0,0)
	Sofosbuvir a ribavirín po dobu 24 týždňov	0/6 (0,0)	0/1 (0,0)	0/5 (0,0)	0/5 (0,0)	0/1 (0,0)
	Sofosbuvir a simeprevir a/alebo ribavirín po dobu 12 týždňov	9/63 (14,3)	8/29 (27,6)	1/34 (2,9)	9/54 (16,7)	0/9 (0,0)
	Sofosbuvir a simeprevir a/alebo ribavirín po dobu 24 týždňov	0/4 (0,0)	0/4 (0,0)	Nevzťahuje sa	0/2 (0,0)	0/2 (0,0)
2	Sofosbuvir a ribavirín po dobu 12 týždňov	8/66 (12,1)	6/22 (27,3)	2/44 (4,5)	7/60 (11,7)	1/6 (16,7)
3	Sofosbuvir a peginterferón a ribavirín po dobu 12 týždňov	0/3 (0,0)	0/3 (0,0)	Nevzťahuje sa	0/1 (0,0)	0/2 (0,0)
	Sofosbuvir a ribavirín po dobu 24 týždňov	6/47 (12,8)	4/16 (25,0)	2/31 (6,5)	4/39 (10,3)	2/8 (25,0)

DRA = priradenie liečebných režimov, GT = genotyp, Nevzťahuje sa = liečebný režim sa nevzťahuje na túto skupinu pacientov

Tabuľka 30 uvádza percentuálne zastúpenie účastníkov s virologickou odpoveďou (definované ako výsledky testu Aptima HCV Quant Dx < LLoQ) pre každý genotyp a priradenie liečebného režimu počas každej návštevy v týždni počas liečby a po liečbe. Väčšina účastníkov naprieč genotypmi dosiahla SVR do týždňa 4 a všetci účastníci dosiahli SVR do týždňa 8.

Tabuľka 30: Pravdepodobnosť dosiahnutia SVR naprieč týždňami počas liečby a po liečbe

GT	DRA	N	Reagujúci na SVR % (n)	Nereagujúci na SVR % (n)	Percentuálne zastúpenie účastníkov s virologickou odpoveďou podľa návštevy[a] n (%)						
					Týždne					EOT	PT04
					1	2	4	8	12		
1	LDV + SOF (8 týždňov)	14	92,9 (13/14)	7,1 (1/14)	42,9 (6/14)	76,9 (10/13)	100 (14/14)	Nevzťahuje sa	Nevzťahuje sa	100 (14/14)	90 (9/10)
	LDV + SOF (12 týždňov)	39	100 (39/39)	0,0 (0/39)	11,1 (4/36)	52,6 % (20/38)	92,1 (35/38)	100 (36/36)	Nevzťahuje sa	100 (39/39)	100 (33/33)
	LDV + SOF (24 týždňov)	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 týždňov)	25	96,0 (24/25)	4,0 (1/25)	40,0 (10/25)	80,0 (20/25)	100 (25/25)	100 (25/25)	Nevzťahuje sa	100 (25/25)	100 (25/25)
	SOF + RBV (24 týždňov)	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 týždňov)	63	85,7 (54/63)	14,3 (9/63)	20,7 (12/58)	67,9 (38/56)	98,4 (62/63)	100 (57/57)	Nevzťahuje sa	96,6 (57/59)	90,0 (54/60)
	SOF + SIM + RBV (24 týždňov)	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 týždňov)	66	87,9 (58/66)	12,1 (8/66)	22,2 (12/54)	69,4 (43/62)	95,4 (62/65)	100 (64/64)	Nevzťahuje sa	98,5 (64/65)	93,5 (58/62)
3	SOF + PEG + RBV (12 týždňov)	3	100 (3/3)	0,0 (0/3)	33,3 (1/3)	100 (2/2)	100 (3/3)	100 (2/2)	Nevzťahuje sa	100 (3/3)	100 (3/3)
	SOF + RBV (24 týždňov)	47	87,2 (41/47)	12,8 (6/47)	20,9 (9/43)	70,5 (31/44)	100 (46/46)	100 (46/46)	100 (47/47)	100 (42/42)	89,1 (41/46)

DRA = priradenie liečebného režimu, EOT = koniec liečby, Nevzťahuje sa = nevzťahuje sa, pretože návšteva zodpovedá EOT pre danú liečbu alebo je mimo liečebného okna, PT04 = týždeň 4 po liečbe

[a]Vírusová odpoveď počas liečby a po liečbe definovaná ako < 10 IU/ml.

Poznámka: EOT nie je súčasťou týždňa liečby

U účastníkov s genotypom 1 malo 95,5% (150/157) hodnotených účastníkov vírusové odpovede počas liečby do týždňa 4. 7 účastníkov s genotypom 1, ktorí nedosiahli odpoveď do týždňa 4 (3 účastníci liečení pomocou LDV + SOF [12 týždňov], 2 účastníci liečení pomocou LDV + SOF [24 týždňov], 2 účastníci liečení pomocou SOF + RBV [24 týždňov] alebo SOF + SIM ± RBV [12 týždňov]) dosiahlo vírusovú odpoveď počas liečby do týždňa 8. Dvaja (2) účastníci liečení pomocou SOF + SIM ± RBV (12 týždňov) dosiahli do konca liečby relaps a 6 (1 účastník liečený pomocou LDF + SOF [8 týždňov], 1 účastník liečený pomocou LDF + SOF [24 týždňov] a 4 účastníci liečení pomocou SOF + SIM ± RBV [12 týždňov]) dosiahli relaps do týždňa 4 po liečbe.

U účastníkov s genotypom 2 malo 95,4% (62/65) hodnotených účastníkov vírusové odpovede počas liečby do týždňa 4. 3 účastníci s genotypom 2, ktorí nedosiahli odpoveď do týždňa 4, mali vírusovú odpoveď počas liečby do týždňa 8. Jeden (1) účastník liečený pomocou SOF + RBV (12 týždňov) dosiahol do konca liečby relaps a 4 účastníci s rovnakým priradením liečebného režimu dosiahlo relaps do týždňa 4 po liečbe.

U účastníkov s genotypom 3 malo 100% (49/49) hodnotených účastníkov vírusové odpovede počas liečby do týždňa 4. Žiadny (0) účastník nedosiahol relaps do konca liečby a 5 účastníkov liečených pomocou SOF + RBV (24 týždňov) dosiahlo relaps do týždňa 4 po liečbe.

Na základe výsledkov tejto štúdie sa môže test Aptima HCV Quant Dx používať ako pomôcka pri liečbe pacientov infikovaných HCV, ktorí podstupujú antivírusovú liečbu založenú na sofosbuvire, a môže sa používať na stanovenie odpovede a chýbajúcej odpovede SVR. Výsledky testu možno použiť na kvantitatívne meranie hladín HCV RNA v ľudskej plazme vo východiskovej úrovni a počas liečby.

Štúdia diagnostickej užitočnosti

Citlivosť sa hodnotila u 338 účastníkov pozitívnych na protilátky z populácie s vysokým rizikom. Tabuľka 31 uvádza demografiu účastníkov a klinické vlastnosti.

Tabuľka 31: Demografia a klinické vlastnosti u účastníkov pozitívnych na protilátky proti HCV

Vlastnosti		
Spolu	*N*	338
Pohlavie	Žena, n (%)	80 (23,7)
	Muž, n (%)	258 (76,3)
Vek (roky)	Priemerné	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/etnická príslušnosť[a]	Biela, n (%)	86 (25,4)
	Čierna, n (%)	118 (34,9)
	Ázijská, n (%)	1 (0,3)
	Hispánska, n (%)	123 (36,4)
	Zmiešané etniká, n (%)	4 (1,2)
	Iná, n (%)	10 (3,0)
	Neznáma, n (%)	0 (0,0)
Rizikové faktory[b]	Injekčné užívanie drog, n (%)	294 (87,0)
	Príjemcovia faktorov zrážania krvi vyrobených pred rokom 1990, n (%)	0 (0,0)
	Diagnostikovaní/liečení na hepatitídu, n (%)	172 (50,9)
	Diagnostikovaní/liečení na HIV, n (%)	13 (3,8)
	Väznenie v minulosti, n (%)	311 (92,0)
	Príjemcovia transfúzie krvi alebo krvných komponentov, n (%)	39 (11,5)
	Príjemcovia transplantátu, n (%)	0 (0,0)
	Hemodialýza, n (%)	3 (0,9)
	Trvalo zvýšené hladiny ALT, n (%)	2 (0,6)
	Narodený medzi 1945 a 1965, n (%)	192 (56,8)
Stav infekcie HCV	Pozitívny na HCV RNA, n (%)	259 (76,6)
	Negatívny na HCV RNA, n (%)	79 (23,4)

ALT = alanínaminotransferáza, HIV = vírus ľudskej imunodeficiencie

[a] Možné hlásiť viaceré rasy.

[b] Možné hlásiť viacero rizikových faktorov.

Vzorky sa testovali pomocou schváleného kvalitatívneho testu na HCV RNA, schváleného testu na protilátky proti HCV a testu Aptima HCV Quant Dx. Štúdia obsahovala 338 účastníkov reaktívnych na protilátky proti HCV. Podľa súčasných usmernení AASLD sa na potvrdenie pozitívneho stavu HCV infekcie po reakčnom výsledku testu na protilátky proti HCV má použiť testovanie NAAT schválené agentúrou FDA s úrovňou detekcie 25 IU/ml alebo nižšou[20]. Zhoda medzi stavom infekcie pacienta a výsledkami testu Aptima HCV Quant Dx bola stanovená pomocou medznej hodnoty 25 IU/ml. Vzorky < 25 IU/ml boli považované za „nedetegované“ a vzorky s výsledkami ≥ 25 IU/ml boli považované za „detegované“. Pozri Tabuľka 32.

Výsledky testu Aptima HCV Quant Dx sa porovnali so stavom infekcie pacienta na základe výsledkov schváleného testu na protilátky HCV a výsledkov schváleného kvalitatívneho testu na RNA. Stav infekcie pacienta sa považoval za pozitívny na HCV, ak oba schválené testy na protilátky proti HCV a schválený kvalitatívny test mali pozitívne výsledky. Stav infekcie pacienta sa považoval za HCV negatívny, ak schválený test na protilátky proti HCV mal nereaktívny výsledok.

Z 338 účastníkov s reaktívnymi výsledkami na protilátky proti HCV bolo 256 zistených testom Aptima HCV Quant Dx (% pozitívnej zhody = 98,8 %). Z troch účastníkov, u ktorých bola HCV RNA kvantifikovaná pod 25 IU/ml alebo nebola detegovaná, mali dvaja účastníci detegovaný, ale nekvantifikovaný výsledok (HCV RNA < 10 IU/ml) a jeden účastník mal kvantitatívny výsledok HCV RNA 12 IU/ml.

Tabuľka 32: Zhoda medzi výsledkami testu Aptima HCV Quant Dx a stavom infekcie pacienta s použitím medznej hodnoty 25 IU/ml

Aptima HCV Quant Dx Výsledok testu	**Stav infekcie pacienta**		**Spolu**
	HCV pozitívny	**HCV negatívny**	
Kvantifikovaný na HCV RNA v hodnote 25 IU/ml alebo vyššej	256	0	256
Kvantifikovaný na HCV RNA alebo detegovaný pod 25 IU/ml alebo nedetegovaný	3[a]	79	82
Spolu	259	79	338
% pozitívnej zhody (95 % skóre CI)	98,8 (96,7 – 99,6)	Nevzťahuje sa	Nevzťahuje sa
% negatívnej zhody (95 % skóre CI)	Nevzťahuje sa	100 (95,4 – 100)	Nevzťahuje sa

CI = interval spoľahlivosti, N/A = nevzťahuje sa

[a] Test Aptima HCV Quant Dx detegoval, ale nekvantifikoval HCV RNA (< 10 IU/ml) u dvoch účastníkov. Tretí účastník mal kvantifikovanú HCV RNA na 12 IU/ml.

Táto štúdia preukazuje klinickú užitočnosť testu Aptima HCV Quant Dx na správnu diagnostiku účastníkov s prebiehajúcou aktívnou infekciou HCV RNA a na ich odlíšenie od účastníkov s neaktívnymi infekciami v populácii s predchádzajúcou expozíciou vírusu HCV (sérológia HCV pozitívna na protilátky).

Krížová reaktivita u účastníkov s ochorením pečene, ktoré nesúvisí s vírusom HCV

Získali sa vzorky séra a plazmy (n = 214) od osôb s inými ochoreniami pečene (kde aktívna infekcia HCV nebola uvedená ako základná príčina). Vzorky sa otestovali schváleným testom proti HCV a schváleným kvalitatívnym testom na HCV RNA, aby sa potvrdilo, že vzorky sú HCV negatívne. Vyradilo sa sedemnásť (17) vzoriek pozitívnych na vírus HCV (s pozitívnymi výsledkami proti HCV a/alebo reaktívnymi kvalitatívnymi výsledkami testu na HCV RNA) a tri nespôsobilé vzorky. Testovanie pomocou testu Aptima HCV Quant Dx sa vykonalo na pracovisku pomocou troch šarží reagencií. Tabuľka 33 uvádza demografiu účastníkov a stav ochorenia pečene pre 194 hodnotiteľných účastníkov.

Tabuľka 33: Vlastnosti demografie a stavu ochorenia pečene účastníkov

Vlastnosti		Všetky
Spolu	N	194
Pohlavie	n	193
	Žena, n (%)	116 (60,1)
	Muž, n (%)	77 (39,9)
Vek (roky)	n	194
	Priemerné	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)
Etnická príslušnosť	n	194
	Hispánska alebo latinskoamerická, n (%)	9 (4,6)
	Iná ako hispánska alebo latinskoamerická, n (%)	147 (75,8)
	Neznáma, n (%)	38 (19,6)
	Odmietli uviesť, n (%)	0 (0,0)
Rasa[a]	n	194
	Biela, n (%)	122 (62,9)
	Čierna alebo afroamerická, n (%)	20 (10,3)
	Ázijská, n (%)	17 (8,8)
	Americký indián/pôvodný obyvateľ Aljašky, (%)	0 (0,0)
	Pôvodný obyvateľ ostrova Hawai/ostrovov v Pacifiku, n (%)	1 (0,5)
	Iná, n (%)	34 (17,5)
	Neznáma, n (%)	2 (1,0)
	Odmietli uviesť, n (%)	0 (0,0)
Ochorenie pečene[b]	n	194
	Autoimunitná hepatitída, n (%)	31 (16,0)
	Alkoholová choroba pečene, n (%)	51 (26,3)
	Chronická HBV, n (%)	34 (17,5)
	Primárna biliárna cirhóza, n (%)	37 (19,1)
	NASH, n (%)	39 (20,1)
	Viaceré hlásené ochorenia pečene, n (%)	2 (1,0)

HBV = vírus hepatitídy B, NASH = nealkoholová steatohepatitída

[a] Účastníci mohli hlásiť viaceré rasy.

[b] Účastníci s viacerými hlásenými ochoreniami pečene hlásili autoimunitnú hepatitídu a primárnu biliárnu cirhózu.

Tabuľka 34 uvádza špecificitu testu Aptima HCV Quant Dx podľa ochorenia pečene a rozloženia výsledkov testu Aptima HCV Quant Dx naprieč kategóriami vírusovej záťaže. Špecificita bola 100 % u účastníkov s hláseným chronickým vírusom hepatitídy B (HBV), primárnou biliárnou cirhózou, nealkoholovou steatohepatitídou (NASH) a viacerými ochoreniami pečene. HCV RNA sa detegovala vo veľmi nízkom množstve u 1 účastníka s autoimunitnou hepatitídou (< 10 IU/ml) a u 4 účastníkov s alkoholovou chorobou pečene (< 10 IU/ml u 3 účastníkov a 16 IU/ml u 1 účastníka). Jednému z 5 účastníkov bola detegovaná HCV RNA prostredníctvom schváleného kvantitatívneho testu na HCV.

Tabuľka 34: Špecificita testu Aptima HCV Quant Dx a rozloženie výsledkov u účastníkov negatívnych na protilátky proti HCV a na RNA s ochoreniami pečene nesúvisiacimi s HCV

Ochorenie pečene	Špecifickosť (%) 95 % CI[a]	Ne-detegované	< 10 IU/ml	10 až < 25 IU/ml	25 až 100 000 000 IU/ml	> 100 000 000 IU/ml	Spolu
Autoimunitná hepatitída	96,8 (83,8 – 99,4)	30 (96,8)	1 (3,2)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	31
Alkoholová choroba pečene	92,2 (81,5 – 96,9)	47 (92,2)	3 (5,9)[b]	1 (2,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	51
Chronická HBV	100 (89,8 – 100)	34 (100)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	34
Primárna biliárna cirhóza	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
Viaceré ochorenia pečene[c]	100 (34,2 – 100)	2 (100)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	2
Spolu	97,4 (94,1 – 98,9)	189 (97,4)	4 (2,1)	1 (0,5)	0 (0,0)	0 (0,0)	194

HBV = vírus hepatitídy B, NASH = nealkoholová steatohepatitída

[a] Skóre CI.

[b] Jednému účastníkovi bola detegovaná HCV RNA prostredníctvom kvantitatívneho testu na HCV schváleného agentúrou FDA.

[c] Účastníci mali autoimunitnú hepatitídu a primárnu biliárnu cirhózu.

Literatúra

1. Averhoff FM, Glass N and Holtzman D. Global Burden of Hepatitis C: Considerations for Healthcare Providers in the United States. Clinical Infectious Diseases 2012; 55 (S1): S10-15.
2. 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. Uverejnené na stránke hcvguidelines.org, navštívené 11. februára 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. Navštívené 1. marca 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.

Kontaktné informácie a história revízií



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

IVD

CE 2797

EC REP
Hologic BV
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

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

E-mailovú adresu a telefónne číslo na technickú podporu a zákaznícky servis špecifické pre vašu krajinu nájdete na stránkach www.hologic.com/support.

Závažné udalosti, ktoré sa vyskytli v Európskej únii v súvislosti s pomôckou, sa musia hlásiť výrobcovi a príslušnému orgánu členského štátu, v ktorom používateľ a/alebo pacient sídli.

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

Armored RNA je ochranná známka spoločnosti Asuragen, Inc.

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

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

©2016–2025 Hologic, Inc. Všetky práva vyhradené.

AW-28216-3201 Rev. 001

2025-12

História revízií	Dátum	Popis
AW-28216-3201 Rev. 001	December 2025	• Úvodné vydanie.