Test Aptima® HCV Quant Dx

Instrukcja użycia
Do zastosowania w diagnostyce *in vitro*.
Tylko na eksport poza USA

Informacje ogólne 2
Przeznaczenie 2
Podsumowanie i objaśnienie testu 2
Zasady procedury 3
Podsumowanie dotyczące bezpieczeństwa i skuteczności klinicznej 4
Ostrzeżenia i środki ostrożności 4
Wymagania dotyczące przechowywania odczynników i postępowania z nimi 7
Pobieranie i przechowywanie próbek 9
Próbki w Panther System 12
Transport próbek 12
Panther System 13
Dostarczone odczynniki i materiały 13
Materiały wymagane, ale dostępne osobno 15
Materiały opcjonalne 16
Procedura testu w aparacie Panther System 16
Uwagi dotyczące procedury 20
Kontrola jakości 22
Kalibracja testu 22
Kontrole ujemne i dodatnie 22
Kalibrator wewnętrzny / kontrola wewnętrzna 22
Interpretacja wyników 23
Ograniczenia 24
Skuteczność analityczna 25
Granica wykrywalności (LoD) przy zastosowaniu 2. Międzynarodowego Standardu WHO 25
Granica wykrywalności dla różnych genotypów HCV 25
Zakres liniowy 26
Liniowość według genotypów HCV 27
Dolna granica oznaczalności przy zastosowaniu 2. Międzynarodowego Standardu WHO 28
Określenie dolnej granicy oznaczalności (LLoQ) dla różnych genotypów HCV 29
Identyfikowalność według próbki wzorcowe WHO 31
Precyzja 32
Potencjalne substancje zakłócające 32
Wyniki dla próbek ujemnych w kierunku HCV 34
Swoistość analityczna 35
Próbki kliniczne zawierające wirusy inne niż HCV 36
Równoważność matrycy 36
Rozcieńczanie próbki przy użyciu rozcieńczalnika Aptima do próbek (1:3) 37
Rozcieńczanie próbki przy użyciu rozcieńczalnika Aptima do próbek (1:100) 38
Potwierdzenie LLoQ w próbkach klinicznych rozcieńczonych w rozcieńczalniku do próbek 39
Precyzja rozcieńczonych próbek 40
Przenoszenie 40
Panel serokonwersji 41
Badanie powtarzalności 41
Skuteczność kliniczna 43
Korelacja metod 43
Badanie użyteczności klinicznej 44
Reakcja na terapię przeciwwirusową 48
Badanie użyteczności diagnostycznej 51
Reaktywność krzyżowa u osób z chorobą wątroby niezwiązaną z HCV 53
Bibliografia 55
Dane kontaktowe i historia wersji 56

Informacje ogólne

Przeznaczenie

Test Aptima® HCV Quant Dx to test, który wykorzystuje technologię amplifikacji z mediacją transkrypcji w czasie rzeczywistym. Test ten jest stosowany zarówno do wykrywania, jak i ilościowego oznaczania RNA wirusa zapalenia wątroby typu C (HCV) w świeżej i zamrożonej surowicy ludzkiej oraz osoczu osób zakażonych wirusem HCV.

Osocze można przygotować w kwasie etylenodiaminotetraoctowym (EDTA), w roztworze antykoagulantu cytrynianu dekstrozy (ACD) oraz w probówkach do przygotowania osocza (PPT). Surowicę można przygotować w probówkach do surowicy lub w probówkach do separacji surowicy (SST). Próbki są badane przy użyciu systemu Panther™ do automatycznego przetwarzania próbek, amplifikacji, detekcji i oznaczania ilościowego. Próbki zawierające genotypy HCV od 1 do 6 zostały zweryfikowane pod kątem wykrywania i ilościowego oznaczania w teście.

Test Aptima HCV Quant Dx jest wskazany do stosowania jako pomoc w diagnostyce zakażenia wirusem HCV. Test może być stosowany do potwierdzenia aktywnego zakażenia HCV u pacjentów z dodatnim wynikiem badania przeciwciał HCV. Wykrycie RNA wirusa HCV wskazuje, że wirus się replikuje i dlatego stanowi dowód aktywnego zakażenia.

Test Aptima HCV Quant Dx jest wskazany do stosowania jako pomoc w prowadzeniu pacjentów zakażonych HCV poddawanych terapii lekami przeciwwirusowymi na HCV. Test mierzy poziom RNA wirusa HCV na początku, podczas leczenia i po zakończeniu leczenia w celu określenia trwałej odpowiedzi wirusologicznej (SVR). Wyniki testu Aptima HCV Quant Dx należy interpretować w kontekście wszystkich istotnych wyników badań klinicznych i laboratoryjnych.

Test Aptima HCV Quant Dx nie jest przeznaczony do stosowania jako test przesiewowy na obecność wirusa HCV we krwi lub produktach krwiopochodnych.

Podsumowanie i objaśnienie testu

HCV jest patogenem przenoszonym przez krew i stanowi obciążenie dla zdrowia publicznego na całym świecie, przy czym na świecie zakażonych jest do 170 milionów osób, a rocznie z powodu schorzeń związanych z HCV, w tym marskości i raka wątroby, umiera 350 000 osób.[1,2] HCV przenosi się poprzez kontakt z krwią, produktami krwiopochodnymi lub czynności potencjalnie związane z narażeniem przezskórnym.[3,4] Pod względem genetycznym HCV zawiera genom RNA o dodatniej nici, składający się z około 9500 nukleotydów, kodujący białka strukturalne (core, glikoproteiny E1 i E2, białko kanału jonowego p7) oraz białka niestrukturalne (NS2, NS3, NS4A/B, NS5A/B), przy czym te ostatnie są kluczowymi białkami replikacyjnymi wirusa i stanowią obiekty bezpośredniego działania leków przeciwwirusowych.[4,5] Dwa nieulegające translacji regiony (UTR) genomu, 5'UTR i 3'UTR, pełnią odpowiednio funkcje translacji genomu i replikacji/pakowania.[5] 5'UTR jest najbardziej konserwatywnym regionem genomowym we wszystkich sześciu głównych genotypach HCV.[6]

Klinicznie występuje duża częstość bezobjawowego zakażenia wirusem HCV, a przewlekłe zakażenie wirusem HCV występuje nawet u 75% pacjentów.[2] Algorytmy testów laboratoryjnych HCV wymagają rozpoznania aktywnego zakażenia HCV u osób z dodatnim wynikiem przeciwciał poprzez wykrywanie RNA wirusa HCV w osoczu lub surowicy, aby umożliwić odpowiednie powiązanie z opieką.[7,8,9]

Ilościowe oznaczanie RNA wirusa HCV (wiremii) odgrywa kluczową rolę w określaniu i monitorowaniu skuteczności leczenia HCV. Trwała odpowiedź wirusologiczna (SVR), definiowana jako niewykrywalne RNA wirusa HCV po skutecznej terapii, jest kluczowym markerem wyleczenia HCV.[10,11] W terapii opartej na interferonie, wczesna odpowiedź wirusologiczna

(EVR), definiowana jako spadek wiremii HCV o 2 log lub więcej po 12 tygodniach terapii oraz szybka odpowiedź wirusologiczna (RVR), definiowana jako niewykrywalne poziomy RNA wirusa HCV po 4 tygodniach terapii, okazały się być pozytywnymi wskaźnikami predykcyjnymi SVR.[10,12,13] Te markery kinetyki wirusa są wykorzystywane w podejściu ukierunkowanym na odpowiedź, dostosowującym opcje leczenia do przerwania lub przedłużenia terapii w celu osiągnięcia SVR.[14] Ponadto długoterminowe badania wykazały trwałość SVR po skutecznym leczeniu, a eradykacja wirusa zapobiega progresji choroby wątroby.[10]

W erze bezpośrednio działających leków przeciwwirusowych (DAA), ilościowe oznaczanie RNA wirusa HCV (wiremii) odgrywa kluczową rolę w określaniu i monitorowaniu skuteczności leczenia HCV. Trwałą odpowiedź wirusologiczną (SVR) definiuje się jako niewykrywalne RNA HCV (za pomocą testu, który o granicy wykrywalności < 25 j.m./mL) po leczeniu.[10,11] Najnowsze wytyczne AASLD sugerują oznaczanie HCV RNA nie tylko na początku leczenia, ale także okresowo w trakcie leczenia (czyli po 4 tygodniach) oraz 12 tygodniach po zakończeniu leczenia.[10,12,13]

Zasady procedury

Test Aptima HCV Quant Dx jest testem amplifikacji kwasów nukleinowych, który wykorzystuje technologię amplifikacji z mediacją transkrypcji (TMA) w czasie rzeczywistym do wykrywania i ilościowego oznaczania RNA wirusa HCV przed leczeniem w celu ułatwienia diagnozy lub ustalenia podstawowej wiremii, jak również do pomiaru odpowiedzi na leczenie i po leczeniu. Test celuje w konserwatywny region genomu HCV, wykrywając i oznaczając ilościowo genotypy 1, 2, 3, 4, 5 i 6. Test jest standaryzowany względem 2. Międzynarodowego Standardu WHO dla wirusa zapalenia wątroby typu C (kod NIBSC 96/798).[12]

Test Aptima HCV Quant Dx można podzielić na trzy podstawowe etapy, przy czym wszystkie odbywają się w pojedynczej probówce w aparacie Panther System: wychwyt cząsteczek szukanych, amplifikacja cząsteczek szukanych metodą TMA oraz detekcja produktów amplifikacji (amplikonów) wyznakowanymi fluorescencyjnie sondami (typu torch).

Podczas wychwytywania cząsteczek szukanych, z próbek izolowane jest RNA wirusa. Próbka jest poddawana działaniu detergentu w celu solubilizacji otoczki wirusowej, denaturacji białek i uwolnienia genomowego RNA wirusa. Oligonukleotydy wychwytujące hybrydyzują do wysoce konserwatywnych regionów RNA wirusa HCV, jeśli są one obecne w badanej próbce. Po hybrydyzacji cząsteczka szukana jest wychwytywana przez mikrocząstki magnetyczne, które następnie są oddzielane od próbki w polu magnetycznym. W celu usunięcia zbędnych składników z probówki reakcyjnej wykonywane są etapy płukania.

Amplifikacja cząsteczek szukanych jest wykonywana metodą TMA. Jest to metoda amplifikacji kwasów nukleinowych z mediacją transkrypcji, w której wykorzystywane są dwa enzymy – odwrotna transkryptaza wirusa białaczki mysiej Moloneya (Moloney murine leukemia virus, MMLV) oraz polimeraza RNA bakteriofaga T7. Odwrotna transkryptaza jest wykorzystywana do produkcji kopii DNA (zawierającej sekwencję promotora dla polimerazy RNA bakteriofaga T7) sekwencji szukanej. Polimeraza RNA bakteriofaga T7 produkuje liczne kopie amplikonu RNA na podstawie matrycy kopii DNA. Test Aptima HCV Quant Dx wykorzystuje metodę TMA do amplifikacji fragmentu 5'UTR genomu HCV. Amplifikacja tego regionu jest osiągana przy użyciu specyficznych starterów, które są zaprojektowane do amplifikacji genotypów HCV 1, 2, 3, 4, 5 i 6.

Detekcja następuje dzięki zastosowaniu sond jednoniciowego kwasu nukleinowego, które są obecne w czasie amplifikacji cząstki szukanej i ulegają swoistej hybrydyzacji z amplikonem w czasie rzeczywistym. Każda sonda typu torch składa się z fluoroforu i wygaszacza. Gdy sonda typu torch nie hybrydyzuje do amplikonu, wygaszacz znajduje się w pobliżu fluoroforu i tłumi fluorescencję. Gdy sonda wiąże się z amplikonem, wygaszacz jest odsuwany dalej od

fluoroforu i po wzbudzeniu przez źródło światła emituje sygnał o swoistej długości fali. Gdy więcej sond typu torch hybrydyzuje do amplikonu, generowany jest wyższy sygnał fluorescencyjny. Czas potrzebny do osiągnięcia przez sygnał fluorescencyjny określonego progu jest proporcjonalny do wyjściowego stężenia wirusa HCV. Każda reakcja posiada wewnętrzny kalibrator / kontrolę wewnętrzną (IC), która kontroluje zmiany w przetwarzaniu próbki, amplifikacji i wykrywaniu. Stężenie próbki jest określane przez oprogramowanie Panther System przy użyciu sygnałów wirusa HCV i IC dla każdej reakcji i porównanie ich z informacjami o kalibracji.

Podsumowanie dotyczące bezpieczeństwa i skuteczności klinicznej

SSP (Podsumowanie dotyczące bezpieczeństwa i działania, ang. Summary of Safety and Performance) jest dostępne w europejskiej bazie danych wyrobów medycznych (Eudamed), gdzie jest powiązane z identyfikatorami wyrobów (Basic UDI-DI). W celu zlokalizowania SSP testu Aptima HCV Quant Dx należy użyć podstawowego unikalnego identyfikatora wyrobu (Basic Unique Device Identifier, BUDI): 54200455DIAGAPTHCVAJ.

Ostrzeżenia i środki ostrożności

A. Do diagnostyki *in vitro*.

B. Do użycia przez profesjonalistów.

C. Aby zmniejszyć ryzyko uzyskania nieważnych wyników, przed wykonaniem testu w systemie Panther należy uważnie przeczytać całą ulotkę załączoną do opakowania oraz Instrukcję obsługi systemu *Panther*/*Panther Fusion*™.

D. W celu uzyskania dodatkowych szczegółowych ostrzeżeń, środków ostrożności i procedur kontroli kontaminacji, należy zapoznać się z *instrukcją obsługi systemu Panther/ Panther Fusion*.

Kwestie związane z laboratorium

E. UWAGA: Kontrole dla tego testu zawierają ludzkie osocze. Osocze jest niereaktywne w kierunku antygenu powierzchniowego zapalenia wątroby typu B (HBsAg), przeciwciał HCV, przeciwciał HIV-1 i HIV-2 oraz antygenu HIV podczas testowania zgodnie z procedurami zatwierdzonymi przez US Food and Drug Administration. Ponadto, osocze jest niereaktywne dla RNA wirusa HCV i RNA wirusa HIV-1 podczas testowania licencjonowanymi testami kwasów nukleinowych z wykorzystaniem pul próbek. Wszystkie materiały pochodzące z krwi ludzkiej powinny być uważane za potencjalnie zakaźne i powinny być traktowane z zastosowaniem uniwersalnych środków ostrożności.[14,15,16]

F. Procedurę tę powinien wykonywać wyłącznie personel odpowiednio przeszkolony w zakresie stosowania testu Aptima HCV Quant Dx oraz postępowania z materiałami potencjalnie zakaźnymi. Jeśli dojdzie do rozlania, natychmiast zdezynfekować zgodnie z odpowiednimi procedurami w miejscu pracy.

G. Stosować wyłącznie dostarczone lub określone jednorazowe wyposażenie laboratoryjne.

H. Przestrzegać rutynowych środków ostrożności stosowanych w laboratorium. Nie pipetować ustami. Nie jeść, nie pić i nie palić w wyznaczonych obszarach pracy. W czasie pracy z próbkami i odczynnikami zestawu nosić jednorazowe rękawiczki bezpudrowe, osłonę oczu oraz odzież laboratoryjną. Dokładnie umyć ręce po pracy z próbkami i odczynnikami zestawu.

I. Powierzchnie robocze, pipety i inne wyposażenie należy regularnie odkażać, stosując roztwór podchlorynu sodu w stężeniu od 2,5% do 3,5% (od 0,35 M do 0,5 M).

J. Wszelkie materiały, które miały w kontakt z próbkami i odczynnikami należy zutylizować

zgodnie z przepisami miejscowymi, krajowymi i federalnymi.[14,15,16,17] Należy dokładnie wyczyścić i zdezynfekować wszystkie powierzchnie robocze.

K. Kontrole zawierają azydek sodu jako środek konserwujący. Nie należy używać metalowych przewodów rurowych do przenoszenia odczynników. Jeżeli roztwory zawierające związki azydku sodu są usuwane do instalacji wodociągowej, należy je rozcieńczyć i spłukać dużą ilością bieżącej wody. Te środki ostrożności są zalecane w celu uniknięcia gromadzenia się osadów w metalowych przewodach rurowych, w których mogłyby powstać warunki wybuchowe.

L. Dobre standardowe praktyki dla laboratoriów molekularnych obejmują monitorowanie środowiska. Aby monitorować środowisko laboratorium, sugeruje się następującą procedurę:

1. Przygotować wymazówkę z końcówką bawełnianą i dołączyć do probówki do porcjowania próbek Aptima (SAT).
2. Odpowiednio oznakować każdą SAT.
3. Napełnić każdą SAT 1 mL rozcieńczalnika do próbek Aptima.
4. Aby pobrać próbki powierzchniowe, należy lekko zwilżyć wymazówkę wolną od nukleaz dejonizowaną wodą.
5. Wymazać powierzchnię zainteresowania, wykonując pionowe ruchy z góry na dół. Obrócić wymazówkę o około pół obrotu podczas wymazywania miejsca.
6. Natychmiast umieścić próbkę wymazu w probówce i delikatnie odwirować wymazówkę w rozcieńczalniku w celu wyodrębnienia potencjalnych materiałów wymazowych. Przycisnąć wymazówkę do boku probówki transportowej, aby wydobyć jak najwięcej płynu. Wyrzucić wymazówkę i zakręcić probówkę.
7. Powtórzyć czynności dla pozostałych próbek wymazu.
8. Zbadać wymaz przy pomocy testu molekularnego.

Kwestie dotyczące próbek

M. Próbki mogą być zakaźne. W czasie wykonywania tego testu przestrzegać uniwersalnych środków ostrożności [14,15,16]. Właściwą pracę oraz metody usuwania należy określić na podstawie lokalnych przepisów.[17] Test ten powinien wykonywać jedynie personel odpowiednio przeszkolony z zakresu testu Aptima HCV Quant Dx oraz z zakresu pracy z materiałem zakaźnym.

N. Podczas transportu próbek należy utrzymywać właściwe warunki przechowywania, aby zapewnić integralność próbek. Nie oceniono stabilności próbek w warunkach transportu innych niż zalecane.

O. Nie dopuszczać do zanieczyszczenia krzyżowego podczas etapów pracy z próbkami. Zachować szczególną ostrożność, aby uniknąć kontaminacji poprzez rozprzestrzenienie się aerozolu w czasie odkręcania lub zdejmowania zakrętek z próbek. W próbkach może występować niezwykle wysokie stężenie mikroorganizmów. Dopilnować, aby pojemniki na próbki nie kontaktowały się wzajemnie ze sobą i wyrzucać zużyte materiały tak, aby nie przenosić ich nad otwartymi pojemnikami. Zmienić rękawiczki, jeżeli miały kontakt z próbką.

Kwestie dotyczące testu

P. Nie używać zestawu odczynników, kalibratora lub kontroli po upływie ich terminu ważności.

Q. Nie wymieniać, nie mieszać ani nie łączyć odczynników analitycznych pochodzących z zestawów o różnych numerach partii głównej. Płyny do testu mogą pochodzić z partii o różnych numerach. Kontrole i kalibrator mogą pochodzić z partii o różnych numerach.

R. Unikać kontaminacji odczynników przez drobnoustroje i nukleazy.

S. Wszystkie odczynniki analityczne należy przechowywać zamknięte i w określonych temperaturach. W przypadku użycia odczynników testowych przechowywanych w niewłaściwych warunkach działanie testu może ulec zmianie. Zobacz *Wymagania dotyczące przechowywania odczynników i postępowania z nimi* oraz *Procedura testu w aparacie Panther System*, aby uzyskać więcej informacji.

T. Nie łączyć odczynników analitycznych ani płynów bez konkretnej instrukcji. Nie wolno dopełniać butelek z odczynnikami lub płynami. Aparat Panther System weryfikuje poziom odczynników.

U. Niektóre odczynniki w tym zestawie są oznakowane symbolami zagrożenia i bezpieczeństwa.

Uwaga: *Stosowane informacje dotyczące zagrożeń są określone przez klasyfikacje kart charakterystyki substancji (Safety Data Sheets, SDS) obowiązujące w UE. Informacje dotyczące zagrożeń występujących w konkretnym regionie opisano w kartach SDS właściwych dla regionów. Dokumenty te znajdują się w bibliotece kart charakterystyki pod adresem www.hologicsds.com. Więcej informacji na temat symboli zawiera legenda symboli dostępna pod adresem www.hologic.com/package-inserts.*

Informacje o zagrożeniach zgodne z wymogami UE	
—	**Odczynnik do amplifikacji** *CHLOREK MAGNEZU 60–65 %* — H412 – Działa szkodliwie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki. P273 – Unikać uwolnienia do środowiska. P501 – Zawartość/pojemnik usuwać do zatwierdzonego zakładu utylizacji odpadów.
—	**Odczynnik promotora** *CHLOREK MAGNEZU 60–65 %* — H412 – Działa szkodliwie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki. P273 – Unikać uwolnienia do środowiska. P501 – Zawartość/pojemnik usuwać do zatwierdzonego zakładu utylizacji odpadów.
—	**Odczynnik enzymatyczny** *Triton X-100 1–5 %* *HEPES 1–5 %* — H412 – Działa szkodliwie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki. P273 – Unikać uwolnienia do środowiska. P501 – Zawartość/pojemnik usuwać do zatwierdzonego zakładu utylizacji odpadów.
  	**Kontrole zestawu HCV VL** *AZYDEK SODU <1 %* — **NIEBEZPIECZEŃSTWO** H300 – Połknięcie grozi śmiercią. H410 – Działa bardzo toksycznie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki. P264 – Dokładnie umyć twarz, ręce i wszelkie narażone powierzchnie skóry po użyciu. P273 – Unikać uwolnienia do środowiska. P301 + P310 – W PRZYPADKU POŁKNIĘCIA: Natychmiast skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUĆ lub lekarzem. P321 – Zastosować określone leczenie (patrz dodatkowa instrukcja w zakresie pierwszej pomocy na etykiecie). P330 – Wypłukać usta. P391 – Zebrać wyciek.

—	**Kalibratory z zestawu HCV VL** *HEPES 15–20 %* *Sól litowa siarczanu laurylowego 5–10 %* *Wodorotlenek litu, monohydrat 1–5 %* *Kwas bursztynowy 1–5 %* — H412 – Działa szkodliwie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki. P273 – Unikać uwolnienia do środowiska. P501 – Zawartość/pojemnik usuwać do zatwierdzonego zakładu utylizacji odpadów.
—	**Roztwór do przygotowania odczynnika enzymatycznego** *Glicerol 20–25 %* *Triton X-100 5–10 %* *HEPES 1–5 %* — H412 – Działa szkodliwie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki. P273 – Unikać uwolnienia do środowiska. P501 – Zawartość/pojemnik usuwać do zatwierdzonego zakładu utylizacji odpadów.
—	**Odczynnik do wychwytywania cząstek szukanych** *HEPES 15–20 %* *Sól litowa siarczanu laurylowego 5–10 %* *Wodorotlenek litu, monohydrat 1–5 %* *Kwas bursztynowy 1–5 %* — H412 – Działa szkodliwie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki. P273 – Unikać uwolnienia do środowiska. P501 – Zawartość/pojemnik usuwać do zatwierdzonego zakładu utylizacji odpadów.

Wymagania dotyczące przechowywania odczynników i postępowania z nimi

A. W poniższej tabeli przedstawiono warunki przechowywania i stabilność odczynników, kontroli i kalibratora.

Odczynnik	Przechowywanie nieotwartych odczynników	Zestaw po otwarciu (po przygotowaniu odczynników)	
		Przechowywanie	Stabilność
Odczynnik do amplifikacji qHCV	2°C do 8°C		
Roztwór do przygotowania odczynnika amplifikacji qHCV	2°C do 8°C	2°C do 8°C	30 dni [a]
Odczynnik enzymatyczny qHCV	2°C do 8°C		
Roztwór do przygotowania odczynnika enzymatycznego qHCV	2°C do 8°C	2°C do 8°C	30 dni [a]
Odczynnik promotora qHCV	2°C do 8°C		
Roztwór do przygotowania odczynnika promotora qHCV	2°C do 8°C	2°C do 8°C	30 dni [a]
Odczynnik do wychwytywania cząsteczek szukanych qHCV	2°C do 8°C	2°C do 8°C	30 dni [a]
NC CONTROL – (kontrola ujemna) qHCV	-15°C do -35°C	15°C do 30°C	Fiolka jednorazowego użytku Zużyć w ciągu 24 godzin

LPC CONTROL + (kontrola niskododatnia) qHCV	-15°C do -35°C	15°C do 30°C	Fiolka jednorazowego użytku Zużyć w ciągu 24 godzin
HPC CONTROL + (kontrola wysokododatnia) qHCV	-15°C do -35°C	15°C do 30°C	Fiolka jednorazowego użytku Zużyć w ciągu 24 godzin
PCAL (kalibrator dodatni) qHCV	-15°C do -35°C	15°C do 30°C	Fiolka jednorazowego użytku Zużyć w ciągu 24 godzin

[a] Po wyjęciu odczynników z aparatu Panther System należy je niezwłocznie przenieść do miejsca o odpowiedniej temperaturze przechowywania.

B. Wyrzucić pozostałości odczynników po przygotowaniu, których nie wykorzystano, oraz odczynnik do wychwytywania cząstek szukanych (TCR) po 30 dniach lub po upływie daty ważności serii głównej, w zależności od tego, co nastąpi wcześniej.

C. Odczynniki przechowywane w aparacie Panther System charakteryzują się stabilnością wewnętrzną wynoszącą 72 godziny. Odczynniki można ładować do Panther System do 8 razy. Panther System rejestruje każde załadowanie odczynników.

D. Po rozmrożeniu kalibratora roztwór musi być klarowny, tzn. nie może być mętny ani nie mogą się w nim wytrącać osady.



E. Odczynnik promotora i przygotowany odczynnik promotora są wrażliwe na światło. Te odczynniki należy chronić przed światłem w trakcie przechowywania i przygotowania do stosowania.

Pobieranie i przechowywanie próbek

Uwaga: *Z wszystkimi próbkami należy obchodzić się tak, jak gdyby zawierały czynniki potencjalnie zakaźne. Przestrzegać uniwersalnych środków ostrożności.*

Uwaga: *Należy dopilnować, aby w czasie etapów pracy z próbkami unikać zanieczyszczenia krzyżowego. Należy na przykład wyrzucać zużyty materiał bez przemieszczania go nad otwartymi probówkami.*

Uwaga: *Do przechowywania zalecane są wyłącznie plastikowe probówki wtórne.*

Można użyć próbek krwi pełnej zebranych w poniższych szklanych lub plastikowych probówkach:

- Probówki zawierające kwas etylenodiaminotetraoctowy (EDTA) lub antykoagulant cytrynianu dekstrozy (ACD) lub
- Probówki do przygotowania osocza (PPT)
- Probówki z surowicą
- Probówki do separacji surowicy (SST)

W przypadku surowicy, należy pozwolić na utworzenie się skrzepu przed dalszą obróbką.

A. Pobieranie próbek

Krew pełna może być przechowywana w temperaturze od 2°C do 30°C i musi być odwirowana w ciągu 6 godzin od pobrania próbki. Oddzielić osocze lub surowicę od granulowanych krwinek czerwonych, postępując zgodnie z instrukcjami producenta używanej probówki. Osocze lub surowica mogą być badane w Panther System w probówce pierwotnej lub przeniesione do probówki dodatkowej, takiej jak probówka do porcjowania próbek Aptima. Aby uzyskać objętość reakcji 500 µL, minimalna objętość osocza lub surowicy w pierwotnych probówkach do pobierania próbek wynosi do 1200 µL, a w przypadku probówek dodatkowych minimalna objętość wynosi 700 µL. W poniższej tabeli określono wymagania dotyczące objętości martwej dla każdego typu probówki głównej i dodatkowej.

Probówka (rozmiar i typ)	Objętość martwa w Panther System
Probówka do porcjowania próbek Aptima (SAT)	0,2 mL
12x75 mm	0,5 mL
13x100 mm	0,5 mL
13x100 mm z żelem	0,3 mL
16x100 mm z żelem	0,7 mL

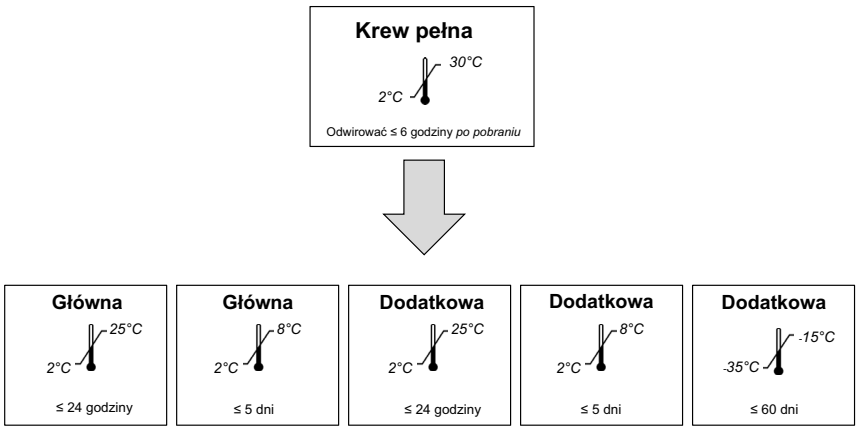
Jeżeli nie są testowane natychmiast, osocze i surowica mogą być przechowywane zgodnie z poniższymi specyfikacjami. Po przeniesieniu do probówki dodatkowej, osocze lub surowicę można zamrozić w temperaturze -20°C. Nie należy przekraczać 3 cykli zamrażania i rozmrażania. Nie zamrażać próbek w roztworach EDTA, ACD lub w pierwotnych probówkach do pobierania surowicy.

B. Warunki przechowywania próbek

1. Próbki osocza w EDTA i ACD

   Krew pełna może być przechowywana w temperaturze od 2°C do 30°C i musi być odwirowana w ciągu 6 godzin od pobrania próbki. Osocze można następnie przechowywać w jednym z następujących warunków:

   - W pierwotnej lub dodatkowej probówce do pobierania w temperaturze od 2°C do 25°C przez okres do 24 godzin,
   - W pierwotnej lub dodatkowej probówce do pobierania w temperaturze od 2°C do 8°C przez okres do 5 dni, lub
   - W probówce dodatkowej w temperaturze -20°C do 60 dni.

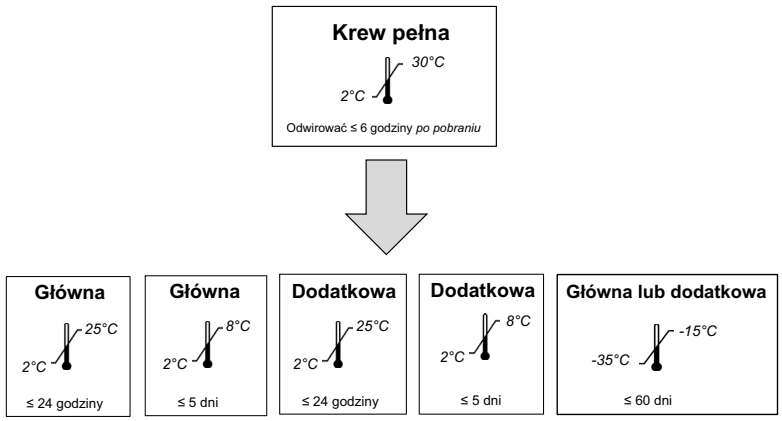


Rysunek 1. Warunki przechowywania probówek z EDTA/ACD

2. Próbki w probówkach PPT

   Krew pełna może być przechowywana w temperaturze od 2°C do 30°C i musi być odwirowana w ciągu 6 godzin od pobrania próbki. Osocze można następnie przechowywać w jednym z następujących warunków:

   - W pierwotnej lub dodatkowej probówce do pobierania w temperaturze od 2°C do 25°C przez okres do 24 godzin,
   - W pierwotnej lub dodatkowej probówce do pobierania w temperaturze od 2°C do 8°C przez okres do 5 dni, lub
   - W pierwotnej lub dodatkowej probówce do pobierania w temperaturze -20°C przez okres do 60 dni.

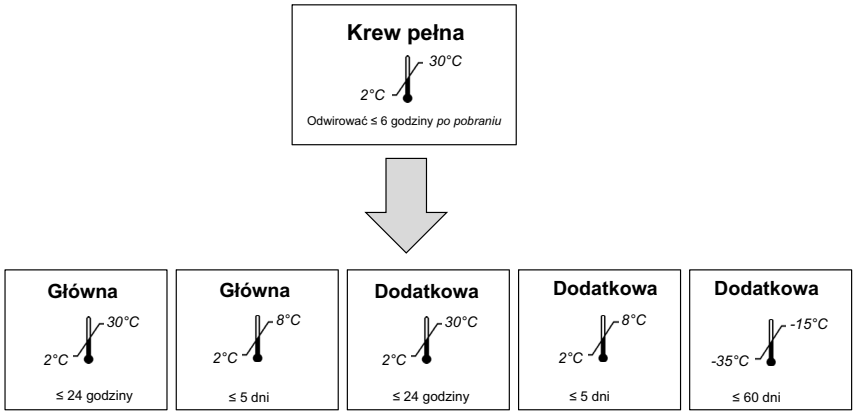


Rysunek 2. Warunki przechowywania dla probówek PPT

3. Próbki w probówkach z surowicą

   Krew pełna może być przechowywana w temperaturze od 2°C do 30°C i musi być odwirowana w ciągu 6 godzin od pobrania próbki. Surowicę można następnie przechowywać w jednym z następujących warunków:

   - W pierwotnej lub dodatkowej probówce do pobierania w temperaturze od 2°C do 30°C przez okres do 24 godzin,
   - W pierwotnej lub dodatkowej probówce do pobierania w temperaturze od 2°C do 8°C przez okres do 5 dni, lub
   - W probówce dodatkowej w temperaturze -20°C do 60 dni.

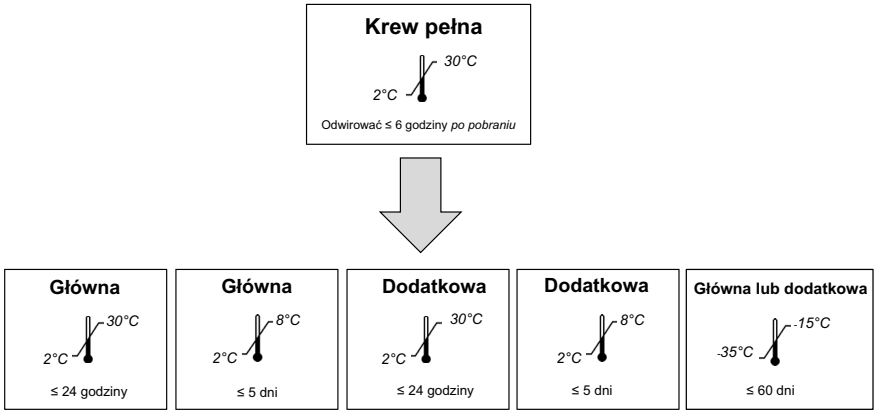


Rysunek 3. Warunki przechowywania probówek z surowicą

4. Próbki w probówkach SST

   Krew pełna może być przechowywana w temperaturze od 2°C do 30°C i musi być odwirowana w ciągu 6 godzin od pobrania próbki. Surowicę można następnie przechowywać w jednym z następujących warunków:

   - W pierwotnej lub dodatkowej probówce do pobierania w temperaturze od 2°C do 30°C przez okres do 24 godzin,
   - W pierwotnej lub dodatkowej probówce do pobierania w temperaturze od 2°C do 8°C przez okres do 5 dni, lub
   - W pierwotnej lub dodatkowej probówce do pobierania w temperaturze -20°C przez okres do 60 dni.



Rysunek 4. Warunki przechowywania dla probówek SST

C. Przechowywanie długotrwałe w zamrożeniu

Próbki osocza lub surowicy można przechowywać w temperaturze od -65°C do -70°C przez okres do 60 dni w probówkach SAT.

D. Rozcieńczanie próbek osocza i surowicy

Próbki osocza i surowicy można rozcieńczać w probówce SAT lub dodatkowej w celu wykonania testu w Panther System. Patrz *Procedura testu w aparacie Panther System*, etap E.5 poniżej, aby uzyskać więcej informacji.

⚠ *Interpretacja diagnostyczna nie powinna być wykonywana na podstawie próbek surowicy lub osocza, które nie zostały rozcieńczone. Należy uzyskać nową, nierozcieńczoną próbkę i powtórzyć badanie.*

Uwaga: *Jeżeli próbka zostanie rozcieńczona, powinna być badana natychmiast po rozcieńczeniu. Nie należy zamrażać rozcieńczonej próbki.*

Próbki w Panther System

Próbki można pozostawiać w Panther System bez zamknięcia na okres do 8 godzin. Próbki można wyjąć z Panther System i poddać badaniu, o ile całkowity czas przebywania w systemie nie przekracza 8 godzin przed pipetowaniem próbki przez Panther System.

Transport próbek

Zachować warunki przechowywania próbek zgodnie z opisem w *Pobieranie i przechowywanie próbek*.

Uwaga: *Próbki należy przesyłać zgodnie z odpowiednimi krajowymi, międzynarodowymi i regionalnymi przepisami transportowymi.*

Panther System

Odczynniki do testu Aptima HCV Quant Dx dla Panther System zostały wymienione poniżej. Obok nazwy odczynnika wymieniono także symbole identyfikujące odczynniki.

Dostarczone odczynniki i materiały

Zestaw testów Aptima HCV Quant Dx, 100 testów, kat. nr PRD-03506
(1 pudełko testów, 1 zestaw kalibratorów i 1 zestaw kontrolny)
Dodatkowe kalibratory i kontrole można zamówić oddzielnie. Poniżej przedstawiono odpowiednie numery katalogowe.

Pudełko z testami Aptima HCV Quant Dx
(po odbiorze przechowywać w temperaturze od 2°C do 8°C)

Symbol	Składnik	Ilość
A	**Odczynnik do amplifikacji qHCV** *Liofilizowane, niezakaźne kwasy nukleinowe w roztworze buforowanym.*	1 fiolka
E	**Odczynnik enzymatyczny qHCV** *Liofilizowana odwrotna transkryptaza i polimeraza RNA w roztworze buforowanym HEPES.*	1 fiolka
PRO	**Odczynnik promotora qHCV** *Liofilizowane, niezakaźne kwasy nukleinowe w roztworze buforowanym.*	1 fiolka
AR	**Roztwór do przygotowania odczynnika amplifikacji qHCV** *Wodny roztwór zawierający glicerol i środki konserwujące.*	1 x 7,2 mL
ER	**Roztwór do przygotowania odczynnika enzymatycznego qHCV** *Roztwór buforowany HEPES zawierający środek powierzchniowo czynny i glicerol.*	1 x 5,8 mL
PROR	**Roztwór do przygotowania odczynnika promotora qHCV** *Wodny roztwór zawierający glicerol i środki konserwujące.*	1 x 4,5 mL
TCR	**Odczynnik do wychwytywania cząsteczek szukanych qHCV** *Kwasy nukleinowe w buforowanym roztworze soli z fazą stałą, niezakaźne kwasy nukleinowe oraz kalibrator wewnętrzny.*	1 x 72,0 mL
	Kołnierze do przygotowania odczynników	3
	Karta z kodami kreskowymi serii głównych	1 karta

Zestaw kalibratorów Aptima HCV Quant Dx (nr kat. PRD-03507)
(po odbiorze przechowywać w temperaturze od -15°C do -35°C)

Symbol	Składnik	Ilość
PCAL	**Kalibrator dodatni qHCV** *Transkrypt w roztworze buforowanym.*	5 x 2,5 mL
	Etykieta z kodem kreskowym kalibratora	—

Zestaw kontrolny Aptima HCV Quant Dx(kat. PRD-03508)
(po odbiorze przechowywać w temperaturze od -15°C do -35°C)

Symbol	Składnik	Ilość
NC	**Kontrola ujemna qHCV** *HCV-ujemne defibrynowane osocze ludzkie zawierające gentamycynę i 0,2% azydku sodu jako środki konserwujące.*	5 x 0,8 mL
LPC	**Kontrola niskododatnia qHCV** *Niezakaźna kontrola wewnętrzna Armored RNA pod kątem wirusa HCV w defibrynowanym osoczu ludzkim zawierającym gentamycynę i 0,2% azydku sodu jako środki konserwujące.*	5 x 0,8 mL
HPC	**Kontrola wysokododatnia qHCV** *Niezakaźna kontrola wewnętrzna Armored RNA pod kątem wirusa HCV w defibrynowanym osoczu ludzkim zawierającym gentamycynę i 0,2% azydku sodu jako środki konserwujące.*	5 x 0,8 mL
	Etykieta z kodem kreskowym kontroli	—

Materiały wymagane, ale dostępne osobno

Uwaga: *Dostarczane materiały Hologic są zaopatrzone w następujące numery katalogowe, chyba że podano inne dane.*

Materiał	Nr kat.
Panther™ System	303095
Panther Fusion™ System	PRD-04172
Panther™ System, Continuous Fluid and Waste (Panther Plus)	PRD-06067
Zestaw kontrolny Aptima® HCV Quant Dx	PRD-03508
Zestaw kalibratora Aptima® HCV Quant Dx	PRD-03507
Zestaw Panther Run Kit for Real Time Assays do testów w czasie rzeczywistym (tylko do testów w czasie rzeczywistym)	PRD-03455 (5000 testów)
Zestaw płynów do testu Aptima® (znany także jako zestaw uniwersalnych płynów) *zawiera roztwór do płukania Aptima®, bufor do płynu dezaktywującego Aptima® oraz odczynnik olejowy Aptima®*	303014 (1000 testów)
Zestawy wieloprobówkowe (MTU)	104772-02
Zestaw torby na odpady Panther™	902731
Osłona pojemnika na odpady Panther™	504405
Albo zestaw wstępny do aparatu Panther™ System *(w przypadku wykonywania testów TMA nie w czasie rzeczywistym równolegle z testami TMA w czasie rzeczywistym) zawiera MTU, worki na odpady, pokrywy pojemników na odpady, odczynniki Auto Detect i płyny testowe*	303096 (5000 testów)
Końcówki, 1000 µl, z filtrami, z detekcją cieczy, przewodzące, jednorazowego użytku *Nie wszystkie produkty są dostępne we wszystkich regionach. W celu uzyskania informacji na temat dostępności produktu w wybranym regionie należy skontaktować się z odpowiednim przedstawicielem.*	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Wybielacz, roztwór podchlorynu sodu w stężeniu od 5% do 8,25% (od 0,7 M do 1,16 M)	—
Rękawiczki jednorazowe, bezpudrowe	—
Zapasowe zatyczki nieprzepuszczalne	103036A
Zakrętki zamienne na odczynniki *Butelki do przygotowania odczynników do amplifikacji, enzymatycznego i promotora* *Butelka TCR*	 CL0041 (100 zakrętek) CL0040 (100 zakrętek)
Wzmocnione plastikiem osłony stołu laboratoryjnego	—
Ściereczki bezpyłowe	—
Pipetor	—
Końcówki	—
Opcje pierwotnej probówki do pobierania próbek: *13 mm x 100 mm* *13 mm x 75 mm* *16 mm x 100 mm*	 — — —
Wirówka	—
Wstrząsarka	—

Materiały opcjonalne

Materiał	Nr kat.
Probówki dodatkowe w opcjach:	
12 mm x 75 mm	—
13 mm x 100 mm	—
16 mm x 100 mm	—
Probówki do porcjowania próbek Aptima (SAT) (opakowanie 100 szt.)	FAB-18184
Zakrętki probówek transportowych (opakowanie 100 szt.) *zakrętka do SAT*	504415
Rozcieńczalnik do próbek Aptima®	PRD-03003
Zestaw rozcieńczalnika do próbek Aptima® *zawiera rozcieńczalnik do próbek, 100 probówek SAT i 100 zakrętek*	PRD-03478
Pipety transportowe	—
Dostępne na rynku panele	—
Wymazówki z bawełnianą końcówką	—
Kołyska do probówek	PRD-03488

Procedura testu w aparacie Panther System

Uwaga: *Dodatkowe informacje o procedurze znajdują się w instrukcji obsługi systemu Panther/Panther Fusion System.*

A. Przygotowanie obszaru roboczego

1. Oczyścić powierzchnie robocze, na których będą przygotowywane odczynniki. Przetrzeć powierzchnie robocze roztworem podchlorynu sodu w stężeniu od 2,5% do 3,5% (od 0,35 M do 0,5 M). Roztwór podchlorynu sodu powinien mieć kontakt z powierzchniami przez co najmniej 1 minutę, a następnie należy je spłukać wodą dejonizowaną (DI). Nie wolno dopuszczać do wyschnięcia roztworu podchlorynu sodu. Zakryć powierzchnię stołu czystymi, wzmocnionymi plastikiem, chłonnymi osłonami stołu laboratoryjnego.
2. Oczyścić odrębną powierzchnię roboczą jako miejsce do przygotowania próbek. Postępować zgodnie z procedurą opisaną powyżej (etap A.1).
3. Wyczyścić wszystkie pipetory. Postępować zgodnie z procedurą czyszczenia opisaną powyżej (etap A.1).

B. Przygotowanie kalibratora i kontroli

Przed przystąpieniem do przetwarzania kalibrator i kontrole powinny osiągnąć temperaturę od 15°C do 30°C w sposób opisany poniżej:

1. Wyjąć kalibrator i kontrole z miejsca przechowywania (-15°C do -35°C) i umieścić w temperaturze 15°C do 30°C. Podczas całego procesu rozmrażania delikatnie odwracać każdą probówkę, aby dokładnie wymieszać próbki. Przed użyciem należy upewnić się, że zawartość probówki jest całkowicie rozmrożona.

   Opcja. Probówki z kalibratorem i kontrolą można umieścić na wytrząsarce do probówek w celu dokładnego wymieszania. Przed użyciem należy upewnić się, że zawartość probówki jest całkowicie rozmrożona.

   Uwaga: *Unikać tworzenia nadmiernej piany podczas odwracania kalibratora i kontroli. Piana negatywnie wpływa na wykrywanie poziomu przez Panther System.*

2. Po rozmrożeniu zawartości probówki osuszyć jej zewnętrzną część czystą, suchą ściereczką jednorazowego użytku.
3. Aby zapobiec kontaminacji, nie należy w tym momencie otwierać probówek.

C. Przygotowanie odczynników / przygotowanie nowego zestawu

Uwaga: *Przygotowanie odczynników należy przeprowadzić przed rozpoczęciem jakichkolwiek prac w aparacie Panther System.*

1. Aby przygotować odczynnik do wychwytania cząsteczek szukanych (TCR), należy wykonać poniższe czynności:
   a. Wyjąć TCR z miejsca przechowywania (2°C do 8°C). Sprawdź numer partii na butelce z TCR, aby upewnić się, że zgadza się on z numerem partii na Karcie kodów kreskowych głównej partii.
   b. Natychmiast 10 razy energicznie wstrząsnąć butelką TCR. Pozostawić butelkę TCR w temperaturze od 15°C do 30°C do ogrzania przez co najmniej 45 minut. W tym czasie należy odwirować i odwrócić butelkę TCR co najmniej co 10 minut.

      Opcja. Butelkę TCR można przygotować na wytrząsarce probówek, postępując zgodnie z poniższymi instrukcjami: Wyjąć TCR z miejsca przechowywania (2°C do 8°C) oraz natychmiast energicznie wstrząsnąć 10 razy. Umieścić butelkę TCR na wytrząsarce probówek i pozostawić TCR w temperaturze 15°C do 30°C do ogrzania przez co najmniej 45 minut.
   c. Przed użyciem należy upewnić się, że cały osad znajduje się w roztworze, a cząstki magnetyczne są zawieszone.
2. W celu odtworzenia odczynników amplifikacji, enzymatycznych i promotorów należy wykonać następujące czynności:
   a. Wyjąć liofilizowane odczynniki i odpowiednie roztwory do przygotowania z miejsca przechowywania (2°C do 8°C). Dopasować odpowiedni roztwór do każdego liofilizowanego odczynnika.
   b. Upewnić się, że roztwór do przygotowania i liofilizowany odczynnik mają etykiety w tym samym kolorze. Sprawdzić numery partii na karcie z kodami kreskowymi serii (partii) głównych, aby upewnić się, że sparowano odpowiednie odczynniki.
      i. Otworzyć fiolkę z liofilizowanym odczynnikiem, zdejmując metalową uszczelkę i gumowy korek.
      ii. Mocno włożyć karbowany koniec kołnierza do przygotowania odczynników (czarnego) na fiolkę (Rysunek 5, etap 1).
      iii. Otworzyć buteleczkę zawierającą odpowiedni roztwór do przygotowania i odłożyć zakrętkę na czystą, przykrytą powierzchnię roboczą.
      iv. Umieścić butelkę z roztworem do przygotowania na stabilnej powierzchni (np. na stole). Następnie odwrócić fiolkę z liofilizowanym odczynnikiem nad butelką z roztworem do przygotowania i mocno przymocować kołnierz do butelki z roztworem do przygotowania (Rysunek 5, etap 2).
      v. Powoli odwrócić połączone butelki (fiolka dołączona do butelki z roztworem), aby umożliwić spływanie roztworu do szklanej fiolki (Rysunek 5, etap 3).
      vi. Podnieść połączone butelki i mieszać je przez co najmniej 10 sekund (Rysunek 5, etap 4).
      vii. Odczekać co najmniej 30 minut, aby liofilizowany odczynnik przeszedł do roztworu.
      viii. Po przejściu liofilizowanego odczynnika do roztworu odwirować połączone butelki przez co najmniej 10 sekund, a następnie lekko wstrząsać roztworem w szklanej fiolce w przód i w tył w celu dokładnego wymieszania.

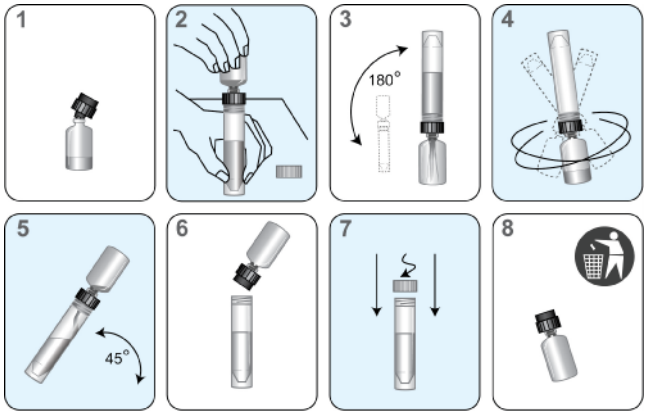
c. Ponownie powoli przechylić połączone butelki, aby umożliwić spłynięcie całego roztworu z powrotem do butelki z roztworem do przygotowywania odczynników (Rysunek 5, etap 5).

d. Ostrożnie zdjąć kołnierz do przygotowywania i szklaną fiolkę (Rysunek 5, etap 6).

e. Nałożyć zakrętkę na buteleczkę. Na etykiecie wpisać inicjały operatora i datę przygotowania odczynników (Rysunek 5, etap 7).

f. Wyrzucić kołnierz do przygotowania odczynników i szklaną fiolkę (Rysunek 5, etap 8).

Ostrzeżenie: *Unikać tworzenia nadmiernej piany podczas przygotowywania odczynników. Piana negatywnie wpływa na wykrywanie poziomu przez Panther System.*



Rysunek 5. Proces przygotowania odczynników

D. Przygotowanie odczynników dla odczynników przygotowanych wcześniej

1. Wyjąć wcześniej przygotowane odczynniki z miejsca przechowywania (2°C do 8°C).
2. Przed rozpoczęciem testu uprzednio przygotowane odczynniki amplifikacji, enzymatyczny, promotor i TCR muszą osiągnąć temperaturę pokojową od 15°C do 30°C.
3. W przypadku wcześniej przygotowanego TCR, przed załadowaniem do systemu należy wykonać etap C.1 powyżej.
4. Odwirować i odwrócić odczynniki amplifikacji, enzymatyczny i promotora, aby dokładnie wymieszać przed załadowaniem do systemu. Unikać tworzenia nadmiernej piany podczas odwracania odczynników.

   Opcja: Wcześniej przygotowane odczynniki można przygotować na kołysce do probówek, postępując zgodnie z następującymi instrukcjami: Wyjąć odczynniki z miejsca przechowywania (o temperaturze od 2 do 8°C). Umieścić odczynniki na kołysce do probówek i pozostawić w temperaturze od 15°C do 30°C do ogrzania przez co najmniej 30 minut.

5. Nie wolno dopełniać butelek z odczynnikami. Panther System rozpozna butelki po dopełnieniu i odrzuci je.

E. Obchodzenie się z próbkami

1. Należy upewnić się, że przetworzone próbki w probówkach pierwotnych lub nierozcieńczone próbki w probówkach dodatkowych były odpowiednio przechowywane, zgodnie z *Pobieranie i przechowywanie próbek*.
2. Upewnić się, że zamrożone próbki są dokładnie rozmrożone. Rozmrożone próbki należy wirować przez 3 do 5 sekund w celu dokładnego wymieszania.

3. Przed rozpoczęciem obróbki próbki powinny osiągnąć temperaturę od 15°C do 30°C. Dodatkowe informacje dotyczące systemu znajdują się w *Próbki w Panther System.*
4. Należy upewnić się, że każda pierwotna probówka do pobierania próbek zawiera do 1200 µL próbki lub każdy SAT zawiera co najmniej 700 µL próbki. W tabeli znajdującej się w sekcji *Pobieranie próbek* określono wymagania dotyczące objętości martwej dla każdego typu probówki pierwotnej i dodatkowej. Jeśli konieczne jest rozcieńczenie próbki, patrz etap E.5 poniżej, aby uzyskać więcej informacji.
5. Rozcieńczyć próbkę osocza lub surowicy w stosunku 1:3 w SAT lub 1:100 w probówce dodatkowej.

   Próbka może zostać rozcieńczona w probówce dodatkowej w celu wykonania testu w Panther System.

⚠ *Interpretacja diagnostyczna nie powinna być wykonywana na podstawie próbek surowicy lub osocza, które nie zostały rozcieńczone. Należy uzyskać nową, nierozcieńczoną próbkę i powtórzyć badanie.*

Uwaga: *Jeżeli próbka zostanie rozcieńczona, musi zostać zbadana natychmiast po rozcieńczeniu.*

a. Rozcieńczanie próbek o małej objętości

   Objętość próbek może zostać zwiększona do minimalnej wymaganej objętości (700 µL) przy użyciu rozcieńczalnika do próbek Aptima. Próbki o objętości co najmniej 240 µL można rozcieńczyć w dwóch częściach rozcieńczalnika do próbek (1:3) w następujący sposób:

   i. Umieścić 240 µL próbki w SAT.

   ii. Dodać 480 µL rozcieńczalnika do próbek Aptima.

   iii. Zakręcić probówkę.

   iv. Delikatnie odwrócić 5 razy, aby wymieszać.

   Próbki rozcieńczone w stosunku 1:3 mogą być badane przy użyciu opcji 1:3 Panther System (więcej informacji na ten temat znajduje się w *Instrukcji obsługi systemu Panther/Panther Fusion*). Oprogramowanie automatycznie poda dokładny wynik po zastosowaniu współczynnika rozcieńczenia. Próbki te zostaną oznaczone jako próbki rozcieńczone.

b. Rozcieńczanie próbek o wysokim mianie

   Jeżeli wynik próbki jest powyżej górnej granicy oznaczenia ilościowego (ULoQ), można ją rozcieńczyć 99 częściami rozcieńczalnika do próbek Aptima (1:100) w następujący sposób:

   i. Umieścić 30 µL próbki w SAT lub w probówce dodatkowej.

   ii. Dodać 2970 µL rozcieńczalnika do próbek Aptima.

   iii. Zakręcić probówkę.

   iv. Delikatnie odwrócić 5 razy, aby wymieszać.

   Próbki rozcieńczone w stosunku 1:100 mogą być badane przy użyciu opcji 1:100 Panther System (więcej informacji na ten temat znajduje się w *Instrukcji obsługi systemu Panther/Panther Fusion*). Oprogramowanie automatycznie poda dokładny wynik po zastosowaniu współczynnika rozcieńczenia. Próbki te zostaną oznaczone jako próbki rozcieńczone.

   Uwaga: *W przypadku rozcieńczonych próbek o stężeniach czystych większych niż ULoQ, wyniki będą podawane w notacji naukowej.*

6. Tuż przed umieszczeniem próbek w statywie na próbki odwirować każdą próbkę przy 1000–3000*g* przez 10 minut. Nie zdejmować zakrętek. Pęcherzyki powietrza w probówce wpływają negatywnie na wykrywanie poziomu przez system Panther System.

   informacje dotyczące ładowania statywu i zdjęcia zakrętki opisano w punkcie F poniższej części *Przygotowanie systemu*.2

F. Przygotowanie systemu

1. Skonfigurować system zgodnie z wytycznymi w *Instrukcji obsługi systemu Panther/ Panther Fusioni Uwagi dotyczące procedury*. Upewnić się, że stosowane są statywy na odczynniki i adaptery TCR o odpowiedniej wielkości.
2. Załadowanie próbek do statywów na próbki. Wykonać następujące czynności dla każdej probówki z próbką (próbka oraz, jeśli to konieczne, kalibrator i kontrole):
   a. Poluzować jedną zakrętkę próbówki na próbki, ale jeszcze jej nie zdejmować.

      Uwaga: *Zachować szczególną ostrożność, aby uniknąć kontaminacji poprzez rozprzestrzenienie się aerozolu. Delikatnie poluzować zakrętki na próbkach.*

   b. Załadować probówki na próbki do statywów na próbki.
   c. Powtórzyć etapy 2.a i 2.b dla każdej pozostałej próbki.
   d. Po załadowaniu próbek do statywu na próbki, zdjąć i wyrzucić każdą zakrętkę probówki na próbki z jednego statywu na próbki. Aby uniknąć kontaminacji, nie przenosić zakrętki nad innymi statywami na próbki lub probówkami na próbki.
   e. W razie potrzeby użyć nowej, jednorazowej pipety do usuwania pęcherzyków powietrza lub piany.
   f. Po zdjęciu ostatniej zakrętki, załadować statyw z próbkami do wnęki na próbki.

      Uwaga: *Jeśli jednocześnie przeprowadzane są inne testy i typy próbek, należy zabezpieczyć mocowniki próbek przed załadowaniem statywu na próbki do wnęki na próbki.*

   g. Potworzyć etapy 2.a do 2.f dla kolejnego statywu na próbki.

Uwagi dotyczące procedury

A. Kalibrator i kontrole

1. Probówki z kalibratorem dodatnim qHCV, kontrolą niskododatnią qHCV, kontrolą wysokododatnią qHCV i kontrolą ujemną qHCV można umieścić na dowolnej pozycji w statywie na próbki i w dowolnym torze wnęki na próbki w Panther System. Pipetowanie próbek pobranych od pacjentów rozpocznie się po spełnieniu jednego z dwóch następujących warunków:
   a. Kalibrator i kontrole są w trakcie przetwarzania przez system.
   b. Zarejestrowano w systemie ważne wyniki dla kalibratora i kontroli.
2. Po odpipetowaniu probówek z kalibratorem i kontrolami oraz obróbce pod kątem zestawu odczynników analitycznych Aptima HCV Quant Dx próbki można badać powiązanym, przygotowanym zestawem w okresie do 24 godzin, **o ile nie wystąpiły następujące sytuacje**:
   a. Wyniki kalibratora lub kontroli są nieważne.
   b. Z systemu wyjęto powiązany zestaw odczynników analitycznych.
   c. Przekroczono granice stabilności powiązanego zestawu odczynników analitycznych.

3. Kalibrator i każda probówka kontrolna mogą być użyte tylko raz. Próby użycia probówki więcej niż jeden raz mogą prowadzić do błędów przetwarzania.

B. Puder z rękawiczek

Podobnie jak w przypadku każdego systemu odczynników nadmiar pudru na niektórych rękawiczkach może spowodować zanieczyszczenie otwartych probówek. Zaleca się stosować rękawiczki bezpudrowe.

Kontrola jakości

Operator może unieważnić wyniki serii lub próbki w przypadku zaobserwowania i udokumentowania problemów technicznych, związanych z operatorem lub aparatem w trakcie testu. W takim przypadku próbki należy ponownie przebadać.

Kalibracja testu

Aby wygenerować ważne wyniki, należy wykonać kalibrację testu. Pojedynczy kalibrator dodatni jest wykonywany w trzech seriach za każdym razem, gdy do Panther System ładowany jest zestaw odczynników. Raz ustalona kalibracja jest ważna przez okres do 24 godzin. Oprogramowanie Panther System alarmuje operatora, gdy wymagana jest kalibracja. Operator skanuje współczynnik kalibracji znajdujący się na arkuszu kodów kreskowych partii głównej dostarczanym z każdym zestawem odczynników.

Podczas przetwarzania kryteria akceptacji kalibratora są automatycznie weryfikowane przez Panther System. Jeśli ważny jest wynik mniej niż dwóch replikatów kalibratora, oprogramowanie automatycznie unieważnia serię. Próbki w unieważnionej serii muszą być ponownie przebadane przy użyciu świeżo przygotowanego kalibratora i świeżo przygotowanych kontroli.

Kontrole ujemne i dodatnie

Aby wygenerować ważne wyniki, należy przetestować zestaw kontrolny testu. Należy przetestować jeden replikat kontroli ujemnej, kontroli niskododatniej i kontroli wysokododatniej za każdym razem, gdy do Panther System ładowany jest zestaw odczynników. Raz ustalone kontrole są ważne przez okres do 24 godzin. Oprogramowanie Panther System alarmuje operatora, gdy wymagane są kontrole.

Podczas przetwarzania kryteria akceptacji kontroli są automatycznie weryfikowane przez Panther System. Aby wygenerować ważne wyniki, kontrola ujemna musi dawać wynik „Nie wykryto”, a kontrole dodatnie muszą dawać wyniki mieszczące się we wcześniej zdefiniowanych parametrach (Nominalna ilość cząstek szukanych LPC: 2,36 $\log_{10}$ j.m./mL, Nominalna ilość cząstek szukanych HPC: 5,36 $\log_{10}$ j.m./mL. Jeśli którakolwiek z kontroli ma nieważny wynik, oprogramowanie automatycznie unieważnia serię. Próbki w unieważnionej serii muszą być ponownie przebadane przy użyciu świeżo przygotowanego kalibratora i świeżo przygotowanych kontroli.

Kalibrator wewnętrzny / kontrola wewnętrzna

Każda próbka zawiera wewnętrzny kalibrator / kontrolę wewnętrzną (IC). W trakcie przetwarzania kryteria akceptacji IC są automatycznie weryfikowane przez oprogramowanie Panther System. Jeżeli wynik IC jest nieważny, wynik próbki jest unieważniony. Każda próbka z nieważnym wynikiem IC musi zostać ponownie przebadana w celu uzyskania ważnego wyniku.

Oprogramowanie Panther System umożliwia przeprowadzenie dokładnej weryfikacji procesów, gdy procedury są wykonywane zgodnie z instrukcjami zawartymi w tej ulotce dołączonej do opakowania oraz w *Instrukcji obsługi aparatu Panther/Panther Fusion System*.

Interpretacja wyników

Panther System automatycznie określa stężenie RNA wirusa HCV dla próbek i kontroli poprzez porównanie wyników z krzywą kalibracyjną. Stężenia RNA wirusa HCV podawane są w j.m./mL i log_{10} j.m./mL. Interpretacja wyników przedstawiona jest w Tabela 1. Jeżeli dla rozcieńczonych próbek stosowane jest rozcieńczenie 1:3 lub 1:100, Panther System automatycznie oblicza stężenie RNA HCV dla czystej próbki poprzez pomnożenie rozcieńczonego stężenia przez współczynnik rozcieńczenia, a rozcieńczone próbki są oznaczane jako rozcieńczone.

Uwaga: *W przypadku rozcieńczonych próbek, wyniki oznaczone jako „Nie wykryto" lub „wykryto < 10" mogą być generowane przez rozcieńczenie próbki o stężeniu powyżej, ale blisko LoD (granicy wykrywalności) lub LLoQ (dolnej granicy oznaczalności). Zaleca się pobranie i przebadanie innej czystej próbki, jeśli nie uzyskano wyniku ilościowego.*

Panther System nie dostarcza wyników jakościowych (tj. „Reaktywny" lub „Niereaktywny") do użytku diagnostycznego. Operator musi zinterpretować zgłoszone stężenie RNA wirusa HCV na wynik jakościowy (Tabela 1). Próbki z wynikami „Nie wykryto" są niereaktywne dla RNA wirusa HCV. Próbki z wynikami oznaczonymi jako „Wykryto < 10" z wynikami oznaczonymi w zakresie liniowym oraz > 100 000 000 (górna granica oznaczalności) wskazują, że wykryto RNA wirusa HCV i te próbki są reaktywne dla RNA wirusa HCV.

Tabela 1: Interpretacja wyniku

Zgłoszony wynik testu Aptima HCV Quant Dx		**Interpretacja stężenia RNA wirusa HCV**	**Interpretacja jakościowa diagnostyki użytkownika[a]**
j.m./mL	**Wartość Log_{10}[b]**		
Nie wykryto	Nie wykryto	Nie wykryto RNA wirusa HCV.	Niereaktywna w kierunku RNA wirusa HCV
Wykryto < 10	< 1,00	Wykryto RNA wirusa HCV, ale poziom poniżej LLoQ.	Reaktywna w kierunku RNA wirusa HCV
od 10 do 100 000 000	od 1,00 do 8,00	Stężenie RNA wirusa HCV mieści się w zakresie liniowym od 10 do 100 000 000 j.m./mL	Reaktywna w kierunku RNA wirusa HCV
> 100 000 000	> 8,00	Stężenie RNA wirusa HCV jest powyżej ULoQ	Reaktywna w kierunku RNA wirusa HCV
Nieważny[c]	Nieważny[c]	Wystąpił błąd w czasie tworzenia wyniku. Należy ponownie przetestować próbki	Nieważny

[a] Interpretacja diagnostyczna może być dokonana na podstawie próbek surowicy lub osocza, które nie zostały rozcieńczone.
[b] Wartość jest ograniczana do dwóch miejsc po przecinku.
[c] Nieważne wyniki są wyświetlane niebieską czcionką.

Kryteria akceptacji dla każdej z kontroli testu Aptima HCV Quant Dx przedstawia Tabela 2.

Uwaga: *Wymieniony poniżej zakres odzysku zmienia się w zależności od przypisanej wartości każdej konkretnej partii. Należy zapoznać się z przypisanymi stężeniami wymienionymi w ulotce z arkuszem kodów kreskowych kontroli dołączonej do każdego pudełka z kontrolami.*

Tabela 2: Kryteria akceptacji dla zakresu odzysku dla kontroli testu Aptima HCV Quant Dx

Składnik	**Zakres odzysku dla ważnych serii**
Kontrola ujemna	ND.
Kontrola niskododatnia	+/- 0,5 log_{10} IU/mL
Kontrola wysokododatnia	+/- 0,5 log_{10} IU/mL

Ograniczenia

A. Niniejszy test powinien być wykonywany wyłącznie przez osoby przeszkolone w zakresie procedury testowej. Nieprzestrzeganie instrukcji przedstawionych w niniejszej ulotce załączonej do opakowania może spowodować uzyskanie błędnych wyników.

B. Wiarygodne wyniki zależą od właściwego pobrania próbek, ich transportu, przechowywania i przetwarzania.

C. Choć rzadko, mutacje w wysoce konserwatywnych regionach genomu wirusowego objętych starterami i/lub sondami w teście Aptima HCV Quant Dx mogą powodować zaniżenie ilości lub niewykrycie wirusa.

Skuteczność analityczna

Granica wykrywalności (LoD) przy zastosowaniu 2. Międzynarodowego Standardu WHO

Granica wykrywalności (LoD) testu jest definiowana jako stężenie RNA wirusa HCV, które jest wykrywane z 95% lub większym prawdopodobieństwem zgodnie z CLSI EP17-A2.[18]

LoD określono poprzez badanie paneli 2. Międzynarodowego Standardu WHO RNA wirusa zapalenia wątroby typu C (NIBSC 96/798 genotyp 1) rozcieńczonego w osoczu EDTA i surowicy ludzkiej ujemnych w kierunku wirusa HCV. Zbadano co najmniej 36 replikatów każdego rozcieńczenia z każdą z trzech partii odczynników, co daje co najmniej 108 replikatów na rozcieńczenie. Przeprowadzono analizę probitową w celu wygenerowania przewidywanych granic wykrywalności. Wartości LoD to wyniki z partii odczynnika o najwyższej przewidywanej granicy wykrywalności. 95% LoD dla testu Aptima HCV Quant Dx wykorzystującego 2. Międzynarodowy Standard WHO wynosi 4,3 j.m./mL dla osocza i 3,9 j.m./mL dla surowicy.

Granica wykrywalności dla różnych genotypów HCV

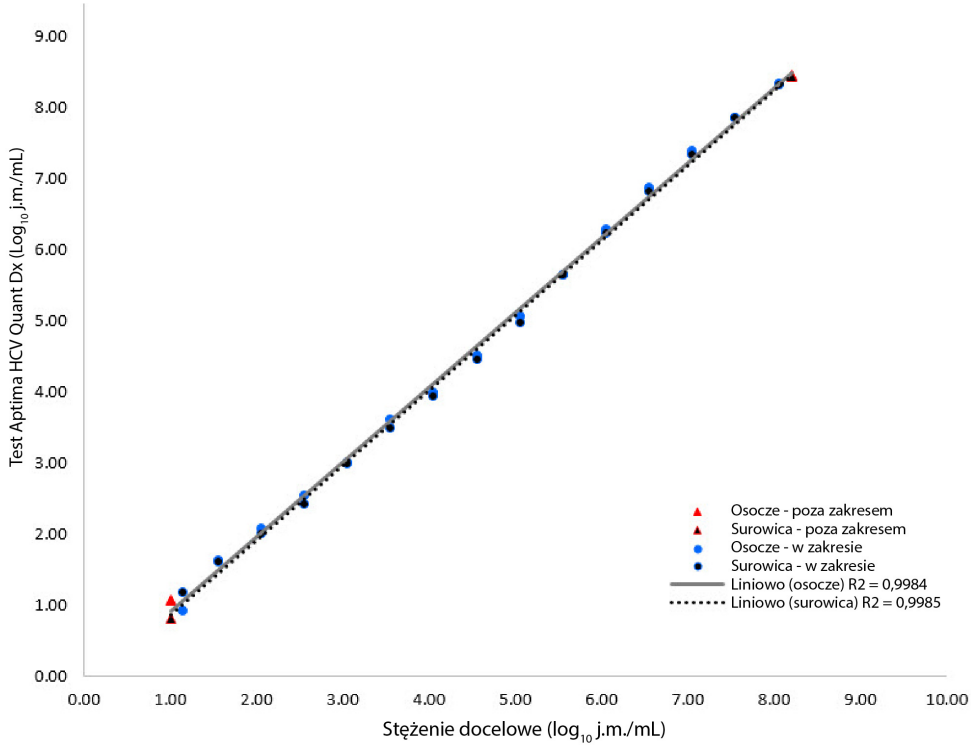
LoD została określona poprzez badanie rozcieńczeń próbek klinicznych HCV-dodatnich dla genotypów 1, 2, 3, 4, 5 i 6 w ludzkim osoczu i surowicy ujemnych w kierunku HCV. Stężenia oznaczono przy użyciu zatwierdzonego testu. Przebadano co najmniej 20 replikatów każdego elementu panelu przy użyciu każdej z trzech serii odczynników, co daje co najmniej 60 replikatów dla każdego elementu panelu. Przeprowadzono analizę probitową w celu wygenerowania 95% przewidywanych granic wykrywalności. Wartości LoD przedstawione w Tabela 3 to wyniki z partii odczynnika o najwyższej przewidywanej granicy wykrywalności.

Tabela 3: Granica wykrywalności dla różnych genotypów HCV przy użyciu próbek klinicznych

Genotyp	Przewidywana granica wykrywalności	Stężenie (j.m./mL)	
		Osocze	Surowica
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

Zakres liniowy

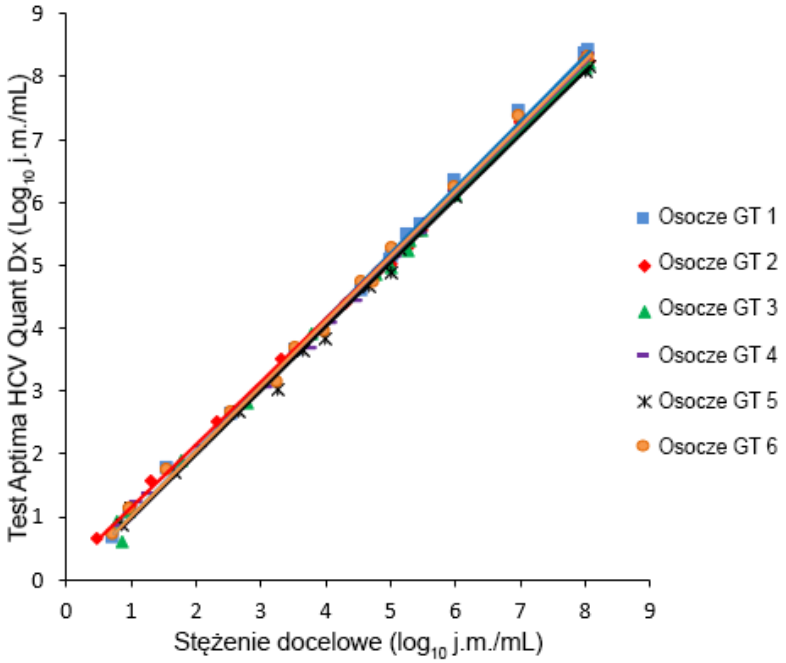
Zakres liniowy został ustalony poprzez badanie paneli Armored RNA wirusa HCV 1a (aRNA) rozcieńczonego w ludzkim osoczu i surowicy ujemnych w kierunku HCV zgodnie z CLSI EP06-A.[19] Panele miały stężenie od 1,0 log_{10} j.m./mL do 8,2 log_{10} j.m./mL. Test Aptima HCV Quant Dx wykazał liniowość w całym badanym zakresie, z górną granicą oznaczalności (ULoQ) wynoszącą 8,0 log_{10} j.m./mL, jak pokazano na Rysunek 6.



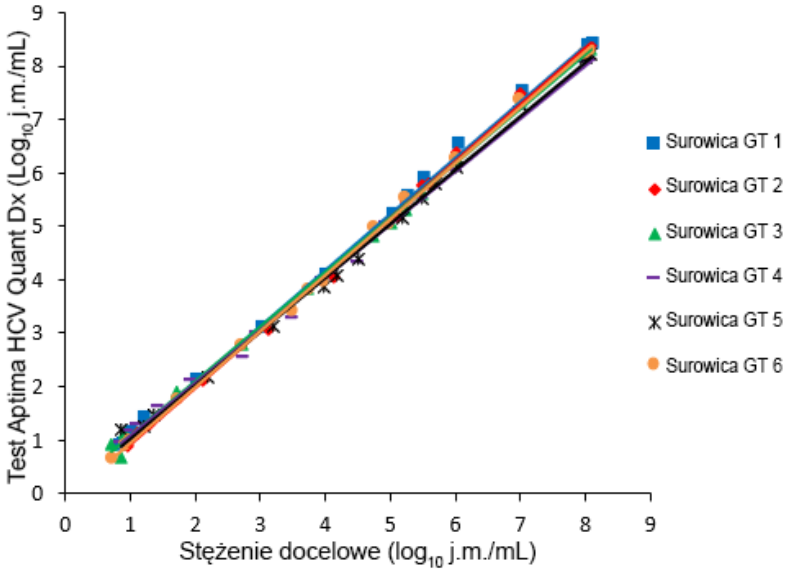
Rysunek 6. Liniowość w osoczu i surowicy

Liniowość według genotypów HCV

Liniowość i zakres liniowy genotypów HCV od 1 (1a dla osocza i 1b dla surowicy) do 6 ustalono przez przetestowanie rozcieńczonych pojedynczych wyników klinicznych dodatnich, po jednym dla każdego genotypu HCV dla dolnego zakresu testu w połączeniu z aRNA (HCV 1a) dla wyższego zakresu testu (powyżej 100 000 j.m./ml). Rozcieńczenia zarówno w ujemnym osoczu jak i surowicy ludzkiej były testowane dla wszystkich genotypów. Wykazano liniowość dla wszystkich sześciu genotypów w całym badanym zakresie, jak pokazano na Rysunek 7 dla osocza i Rysunek 8 dla surowicy.



Rysunek 7. Zakres liniowy i liniowość (osocze)



Rysunek 8. Zakres liniowy i liniowość (surowica)

Dolna granica oznaczalności przy zastosowaniu 2. Międzynarodowego Standardu WHO

Dolna granica oznaczalności (LLoQ) jest definiowana jako najniższe stężenie, przy którym RNA wirusa HCV jest wiarygodnie oznaczane ilościowo w ramach błędu całkowitego, zgodnie z CLSI EP17-A2.[18] Błąd całkowity został oszacowany za pomocą dwóch metod: Całkowity błąd analityczny (TAE) = |obciążenie| + 2SD, a Całkowity błąd (TE) = SQRT(2) x 2SD. Aby zapewnić dokładność i precyzję pomiarów, błąd całkowity testu Aptima HCV Quant Dx został ustalony na poziomie 1 $\log_{10}$ j.m./mL (tj. w LLoQ różnica między dwoma pomiarami większa niż 1 $\log_{10}$ j.m./mL jest statystycznie istotna).

LLoQ określono poprzez badanie paneli 2. Międzynarodowego Standardu WHO RNA wirusa zapalenia wątroby typu C (NIBSC 96/798, genotyp 1) rozcieńczonego w osoczu i surowicy ludzkiej ujemnych w kierunku wirusa HCV. Zbadano trzydzieści sześć (36) replikatów każdego rozcieńczenia z każdą z trzech partii odczynników, co daje co najmniej 108 replikatów na rozcieńczenie. Wyniki z partii odczynnika o najwyższym stężeniu równym lub większym niż LoD oraz spełniającym wymagania TE i TAE przedstawiono w Tabela 4 dla osocza i Tabela 5 dla surowicy. LLoQ dla 2. Międzynarodowego Standardu WHO wynosi 7 j.m./mL (0,82 $\log_{10}$ j.m./mL) dla osocza i 9 j.m./mL (0,93 $\log_{10}$ j.m./mL) dla surowicy, jak podsumowano w Tabela 6. LLoQ został ustalony dla wszystkich genotypów (patrz *Określenie dolnej granicy oznaczalności (LLoQ) dla różnych genotypów HCV*). Te dane genotypów ustaliły ogólną wartość LLoQ dla testu na 10 j.m./mL.

Tabela 4: LLoQ przy zastosowaniu 2. Międzynarodowego Standardu WHO wirusa HCV rozcieńczonego w osoczu

Partia odczynników	Aptima HCV Quant Dx	Aptima HCV Quant Dx	SD	Obciążenie	Obliczone TE	Obliczone TAE
	(j.m./mL)	($\log_{10}$ j.m./mL)	($\log_{10}$ j.m./mL)	($\log_{10}$ j.m./mL)	($\log_{10}$ j.m./mL)	($\log_{10}$ j.m./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 = odchylenie standardowe

Tabela 5: LLoQ przy zastosowaniu 2. Międzynarodowego Standardu WHO wirusa HCV rozcieńczonego w surowicy

Partia odczynników	Aptima HCV Quant Dx	Aptima HCV Quant Dx	SD	Obciążenie	Obliczone TE	Obliczone TAE
	(j.m./mL)	($\log_{10}$ j.m./mL)	($\log_{10}$ j.m./mL)	($\log_{10}$ j.m./mL)	($\log_{10}$ j.m./mL)	($\log_{10}$ j.m./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 = odchylenie standardowe

Tabela 6: Podsumowanie LLoQ przy zastosowaniu 2. Międzynarodowego Standardu WHO dla HCV

Partia odczynników	LLoQ osocza		LLoQ surowicy	
	j.m./mL	log_{10} j.m./mL	j.m./mL	log_{10} j.m./mL
1	5	0,73	8	0,93
2	7	0,82	8	0,89
3	6	0,76	5	0,71

Określenie dolnej granicy oznaczalności (LLoQ) dla różnych genotypów HCV

LLoQ określona poprzez badanie rozcieńczeń próbek klinicznych HCV-dodatnich dla genotypów 1, 2, 3, 4, 5 i 6 w ludzkim osoczu i surowicy ujemnych w kierunku HCV. Przypisanie stężenia dla próbek klinicznych zostało określone przy użyciu testu porównawczego. Przebadano trzydzieści sześć (36) replikatów każdego elementu panelu przy użyciu każdej z trzech serii odczynników, co daje co najmniej 108 replikatów dla każdego elementu panelu. Wyniki z partii odczynnika o najwyższym stężeniu równym lub większym niż LoD oraz spełniającym wymagania TE i TAE, obliczone zgodnie z wymaganiami CLSI EP 17-A2,[18] przedstawiono w Tabela 7 dla osocza i Tabela 8 dla surowicy. Podaje się tylko jeden wynik większy i mniejszy niż dolna granica oznaczalności (LLoQ) na genotyp Tabela 7 i Tabela 8 poniżej, ponieważ te wyniki najlepiej odzwierciedlają oczekiwane LLoQ. Podsumowanie dolnej granicy oznaczalności (LLoQ) dla genotypów 1 do 6 w osoczu i surowicy zawiera Tabela 9. Genotyp 6 miał najwyższą dolną granicę oznaczalności (LLoQ) dla surowicy wynoszącą 10 j.m./mL. Ustaliło to ogólną wartość LLoQ dla testu na 10 j.m./mL.

Tabela 7: Określenie LLoQ w osoczu w zależności od genotypu

Genotyp	Aptima HCV Quant Dx[a] (j.m./mL)	Aptima HCV Quant Dx[a] (log_{10} j.m./mL)	SD (log_{10} j.m./mL)	Obciążenie (log_{10} j.m./mL)	Obliczony TE (log_{10} j.m./mL)	Obliczony TAE (log_{10} j.m./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 = odchylenie standardowe

[a]Przeprowadzono dodatkowe poziomy, ale te dane nie zostały podane w tabeli.

Tabela 8: Określenie LLoQ w surowicy w zależności od genotypu

Genotyp	Aptima HCV Quant Dx[a] (j.m./mL)	Aptima HCV Quant Dx[a] (log_{10} j.m./mL)	SD (log_{10} j.m./mL)	Obciążenie (log_{10} j.m./mL)	Obliczony TE (log_{10} j.m./mL)	Obliczony TAE (log_{10} j.m./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 = odchylenie standardowe

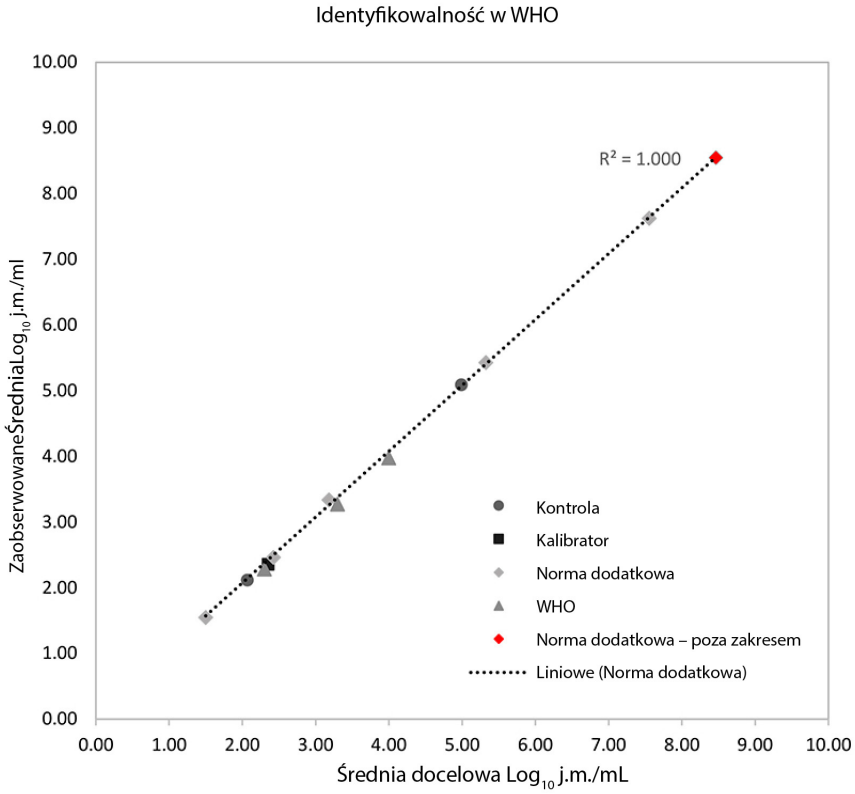
[a]Przeprowadzono dodatkowe poziomy, ale te dane nie zostały podane w tabeli.

Tabela 9: Podsumowanie LLoQ w osoczu i surowicy w zależności od genotypu

Genotyp HCV	LLoQ osocza		LLoQ surowicy	
	j.m./mL	log_{10} j.m./mL	j.m./mL	log_{10} j.m./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

Identyfikowalność według próbki wzorcowe WHO

W trakcie opracowywania i wytwarzania produktu stosowano serię wzorców wtórnych o znanych stężeniach, aby zapewnić identyfikowalność z próbką wzorcową WHO. Stężenia badane wg normy WHO dla HCV wynosiły od 4,00 do 2,30 log_{10} j.m./mL, normy wtórne miały stężenie od 1,50 do 8,46 log_{10} j.m./mL. Kontrole i kalibratory testu Aptima HCV Quant Dx zostały również przetestowane wraz z wzorcami wtórnymi i próbką wzorcową WHO. Wszystkie panele miały podobne wyniki i rozkładały się liniowo w zakresie liniowym testu, jak przedstawiono w Rysunek 9.



Rysunek 9. Identyfikowalność pomiędzy docelowymi stężeniami 2. normy WHO dla HCV a obserwowanymi stężeniami z testu Aptima HCV Quant Dx

Precyzja

Panel precyzji Aptima HCV Quant Dx został zbudowany przez rozcieńczenie osocza klinicznego HCV-dodatniego i aRNA HCV 1a w osoczu klinicznym HCV-ujemnym (dwa najwyższe elementy panelu to aRNA). Siedem dodatnich elementów panelu obejmowało zakres testu (stężenia docelowe od 1,86 $\log_{10}$ j.m./mL do 7,68 $\log_{10}$ j.m./mL) i było testowanych w trzech replikatach na jedną serię przez jednego operatora, przy użyciu trzech partii odczynników na jednym aparacie Panther System w ciągu 21 dni, dwie serie dziennie.

Tabela 10 przedstawia precyzję wyników testów (w $\log_{10}$ j.m./mL) pomiędzy seriami, w obrębie serii i ogólnie. Całkowita zmienność dla wszystkich elementów panelu wyniosła ≤ 0,14, wynikała ona głównie ze zmienności wewnątrz serii (tj. błędu losowego).

Tabela 10: Precyzja testu Aptima HCV Quant Dx

N	Średnie stężenie (j.m./mL)	Średnie stężenie ($\log_{10}$ j.m./mL)	Pomiędzy dniami SD	Pomiędzy seriami SD	W ramach serii SD	Ogółem 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	1950	3,29	0,00	0,07	0,05	0,08
126	8128	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]	47863009	7,68	0,05	0,05	0,06	0,09

SD = odchylenie standardowe

[a] Liczba ważnych wyników w zakresie liniowym testu.

Uwaga: Zmienność w przypadku niektórych czynników może być liczbowo ujemna, co może mieć miejsce jeśli zmienność w wyniku tych czynników jest bardzo niska. W takich przypadkach wartości SD przedstawiono jako 0,00.

Potencjalne substancje zakłócające

Oceniono podatność testu Aptima HCV Quant Dx na zakłócenia spowodowane podwyższonym poziomem substancji endogennych lub lekami powszechnie przepisywanymi osobom zakażonym wirusem HCV. Badano próbki osocza ujemne pod względem HCV oraz próbki z domieszką HCV o stężeniu około 15 j.m./mL (1,2 $\log_{10}$ j.m./mL) i 1995 j.m./mL (3,3 $\log_{10}$ j.m./mL) RNA wirusa HCV.

Nie zaobserwowano interferencji w wynikach testu w obecności albuminy (90 mg/mL), hemoglobiny (5 mg/mL), trójglicerydów (30 mg/mL) lub niezwiązanej bilirubiny (0,2 mg/mL).

Próbki osocza pobrane od pacjentów z podwyższonym poziomem zdefiniowanych substancji lub od pacjentów z chorobami, po dziesięć próbek dla każdej substancji, wymienionymi w Tabela 11 zostały przebadane przy użyciu testu Aptima HCV Quant Dx. Nie zaobserwowano żadnych zakłóceń w przeprowadzaniu testu.

Tabela 11: Badane typy próbek klinicznych

	Typy próbek klinicznych
1	Czynnik reumatoidalny (RF)
2	Przeciwciała przeciwjądrowe (ANA)
3	Przeciwciała anty-Jo-1 (JO-1)
4	Toczeń rumieniowaty (SLE)
5	Reumatoidalne zapalenie stawów (RA)
6	Stwardnienie rozsiane (MS)
7	Hiperglobulinemia
8	Podwyższona aminotransferaza alaninowa (ALT)
9	Podwyższona aminotransferaza asparaginianowa (AST)
10	Alkoholowa marskość wątroby (AC)
11	Szpiczak plazmocytowy (MM)
12	Lipemia (podwyższony poziom lipidów)
13	Żółtaczka (podwyższona bilirubina)
14	Hemoliza (podwyższona hemoglobina)
15	Podwyższony poziom albumin białkowych
16	Przeciwciała HBV
17	Przeciwciała HIV-1
18	Przeciwciała HIV-2

Nie zaobserwowano interferencji wyników testu w obecności substancji egzogennych wymienionych w Tabela 12 w stężeniach co najmniej trzykrotnie większych niż C_{max} (ludzkie osocze).

Tabela 12: Substancje egzogenne

Pula substancji egzogennych	Badane substancje egzogenne
1	Telaprewir, klarytromycyna, interferon alfa-2a, dolutegrawir, azytromycyna
2	Symeprewir, sofosbuwir
3	Efawirenz, boceprewir, pegylowany interferon alfa-2b, emtrycytabina, raltegrawir, amoksycylina
4	Siarczan abakawiru, rybawiryna, dazabuwir, rylpiwiryna, ryfampina/ryfampicyna
5	Lopinawir, tenofowir, lamiwudyna, walgancyklowir
6	Heparyna, EDTA, cytrynian sodu

Wyniki dla próbek ujemnych w kierunku HCV

Swoistość określono na podstawie 198 świeżych i 538 zamrożonych próbek klinicznych ujemnych w kierunku HCV. W sumie 370 próbek osocza i 366 próbek surowicy potwierdzono jako ujemne w kierunku HCV z zastosowaniem zatwierdzonych testów. Swoistość została obliczona jako procent próbek ujemnych w kierunku HCV z wynikami „Nie wykryto". W 736 próbkach nie wykryto RNA wirusa HCV. Swoistość wyniosła 100% (736/736, 95-procentowy przedział ufności: 99,6–100%).

Tabela 13: Wyniki w próbkach ujemnych w kierunku HCV dla próbek klinicznych osocza i surowicy

	Świeże osocze	Zamrożone osocze	Osocze Ogółem	Świeża Surowica	Zamrożona surowica	Surowica Ogółem	Połączone
Ważne replikaty (n)	100	270	370	98	268	366	736
Nie wykryto	100	270	370	98	268	366	736
Swoistość (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 = Przedział ufności

Swoistość analityczna

Potencjalna reaktywność krzyżowa z patogenami wymienionymi w Tabela 14 została oceniona w ludzkim HCV-ujemnym osoczu w obecności lub nieobecności około 15 j.m./mL (1,2 $\log_{10}$ j.m./mL) i 1995 (3,3 $\log_{10}$ j.m./mL) HCV. Nie zaobserwowano reaktywności krzyżowej. W obecności patogenów nie zaobserwowano żadnych zakłóceń.

Tabela 14: Patogeny badane pod kątem swoistości analitycznej

Patogen	Stężenie	
Wirus zapalenia wątroby typu A	100 000	kopii/mL
Wirusowe zapalenie wątroby typu B (HBV)	100 000	j.m./mL[a]
Wirus zapalenia wątroby typu G	1470	genom/mL
HIV-1	100 000	kopii/mL
HIV-2	100 000	PFU/mL[b]
Wirus opryszczki pospolitej typu 1 (HSV-1)	100 000	PFU/mL
Wirus opryszczki pospolitej typu 2 (HSV-2)	100 000	PFU/mL
Ludzki herpeswirus typu 6B	100 000	kopii/mL
Ludzki herpeswirus typu 8	2667	TCID50 U/mL[c]
Ludzki wirus T-limfotropowy typu 1 (HTLV-1)	100 000	vp/mL[d]
Ludzki wirus T-limfotropowy typu 2 (HTLV-2)	100 000	vp/mL
Parwowirus B19	100 000	j.m./mL
Wirus Zachodniego Nilu	100 000	PFU/mL
Wirus dengi typu 1	100 000	PFU/mL
Wirus dengi typu 2	100 000	PFU/mL
Wirus dengi typu 3	100 000	PFU/mL
Wirus dengi typu 4	100 000	PFU/mL
Cytomegalowirus	100 000	PFU/mL
Wirus Epsteina-Barr	100 000	kopii/mL
Wirus różyczki	100 000	PFU/mL
Ludzki wirus brodawczaka (Papillomavirus)	100 000	komórek/mL
Adenowirus typu 5	100 000	TCID50 U/mL
Wirus grypy A	100 000	TCID50 U/mL
Wirus japońskiego zapalenia mózgu koni	Nd.	Nd.
Wirus zapalenia mózgu St. Louis	Nd.	Nd.
Wirus zapalenia mózgu doliny Murray	2643	LD50/mL[e]
Wirus żółtej gorączki	100 000	komórek/mL

Patogen	Stężenie	
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	komórek/mL

[a] j.m./mL = Jednostki międzynarodowe na mL

[b] PFU/mL = Jednostki tworzące łysinki na mL

[c] TCID50 U/mL = Jednostki dawki zakaźnej dla hodowli tkankowej na mL

[d] vp/mL = Cząstki wirusowe na mL

[e] LD50/mL = Dawka śmiertelna na mL

[f] CFU/mL = Jednostki tworzące kolonie na mL

[g] IFU/mL = Jednostki tworzące wtręty na mL

Próbki kliniczne zawierające wirusy inne niż HCV

Patogeny wymienione w Tabela 15 zostały ocenione poprzez uzyskanie pojedynczych naturalnie zakażonych próbek klinicznych. Testowano je w obecności lub nieobecności około 15 j.m./mL (1,2 log_{10} j.m./mL) lub 1995 j.m./mL (3,3 log_{10} j.m./mL) wirusa HCV. Nie zaobserwowano reaktywności krzyżowej. Nie zaobserwowano żadnych zakłóceń.

Tabela 15: Próbki kliniczne badane pod kątem swoistości analitycznej

Mikroorganizm	Matryca	N (dawcy)
HBV	Surowica	5
HBV	Osocze	5
Wirus dengi	Osocze	10
Wirus zapalenia wątroby typu A	Osocze	10
HTLV-1	Osocze	10
HTLV-2	Osocze	10
HIV-1	Osocze	10
Wirus Zachodniego Nilu	Osocze	10

Równoważność matrycy

Sto siedemdziesiąt sześć zestawów próbek z dopasowanych probówek do pobierania krwi (probówek surowicy, SST, PPT, ACD, K2 EDTA, K3 EDTA) oceniono pod kątem równoważności matrycy. Z tych zestawów próbek 68 było naturalnie zakażonymi próbkami HCV-dodatnimi, a 108 było zestawami HCV-ujemnymi. Dwadzieścia sześć z 68 próbek dodatnich następnie rozcieńczono 13 ujemnymi próbkami dopasowanych probówek do pobierania krwi w stosunku 1:10, 1:100 i 1:1000 lub 1:100, 1:10 000 i 1:100 000, ze stężeniami w całym zakresie dynamicznym testu (146 dodatnich replikatów na probówkę do pobierania próbek). Korelację mierzono stosując jako komparator probówkę do pobierania surowicy.

Tabela 16: Badanie równoważności matrycy

Probówka do pobierania krwi	Regresja Deminga	95% CI nachylenia		95% CI punktu przecięcia		R^2	Średnia różnica (log_{10})
		Dolna granica	Górna granica	Dolna granica	Górna granica		
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

Rozcieńczanie próbki przy użyciu rozcieńczalnika Aptima do próbek (1:3)

Aby ocenić dokładność wykrywania RNA wirusa HCV w próbkach osocza lub surowicy rozcieńczonych rozcieńczalnikiem do próbek Aptima, próbki, które obejmowały zakres od 1.67 log_{10} j.m./mL do 6.34 log_{10} j.m./mL, rozcieńczono 1:3 rozcieńczalnikiem do próbek Aptima (np. 240 µL próbki połączono z 480 µL rozcieńczalnika do próbek Aptima). Każda próbka była badana w postaci czystej i rozcieńczonej (1:3) w trzech replikatach. Testy przeprowadzono przy użyciu jednej partii odczynników do testów na jednym systemie Panther System z dwoma partiami rozcieńczalnika do próbek Aptima. Różnicę między wynikami testów dla czystej i rozcieńczonej próbki obliczono dla każdego zestawu próbek, jak pokazano na Tabela 17 dla osocza i Tabela 18 dla surowicy.

Tabela 17: Zestawienie porównawcze log_{10} j.m./mL próbek osocza w matrycy rozcieńczeń 1:3

Matryca osocza Średnie zgłoszone stężenie (log_{10} j.m./mL) n = 3	Rozcieńczalnik Średnie zgłoszone stężenie (log_{10} j.m./mL) n = 6	Różnica Rozcieńczalnik z matrycy osocza (log_{10} j.m./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]Wynik z dwóch replikatów Jeden wynik „Wykryto”, ale nie oznaczono ilościowo.
[b]Wynik z czterech replikatów. Dwa wyniki „Wykryto”, ale nie oznaczono ilościowo.

Tabela 18: Zestawienie porównawcze Log_{10} j.m./mL próbek surowicy w matrycy rozcieńczeń 1:3

Matryca surowicy Średnie zgłoszone stężenie (log_{10} j.m./mL) n = 3	Rozcieńczalnik Średnie zgłoszone stężenie (log_{10} j.m./mL) n = 6	Różnica Rozcieńczalnik z matrycy surowicy (log_{10} j.m./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]Wynik z dwóch replikatów Jeden wynik „Wykryto”, ale nie oznaczono ilościowo.

Rozcieńczanie próbki przy użyciu rozcieńczalnika Aptima do próbek (1:100)

Do oceny dokładności wykrywania RNA wirusa HCV w próbkach osocza lub surowicy rozcieńczonych rozcieńczalnikiem do próbek Aptima, pięć naturalnie zakażonych próbek osocza i pięć naturalnie zakażonych próbek surowicy, wraz z dziesięcioma próbkami, z których każda zawierała osocze HCV-ujemne i surowicę wzbogaconą aRNA HCV ukierunkowanym powyżej ULoQ, 8 log_{10} j.m./mL przy 8,30 log_{10} j.m./mL zbadano w trzech powtórzeniach. Rozcieńczenie 1:100 z jednej części próbki i 99 części rozcieńczalnika do próbek Aptima wykonano tuż przed badaniem. Testy przeprowadzono przy użyciu jednej partii odczynników do testów na jednym systemie Panther System z dwoma partiami rozcieńczalnika do próbek Aptima. Różnicę między wynikami testów dla czystej i rozcieńczonej próbki obliczono dla każdego zestawu próbek, jak pokazano na Tabela 19 dla osocza i Tabela 20 dla surowicy.

Tabela 19: Zestawienie porównawcze Log_{10} j.m./mL próbek osocza w matrycy rozcieńczeń 1:100

Matryca	Rozcieńczenie	Matryca osocza Średnie zgłoszone stężenie (log_{10} j.m./mL) n = 3	Rozcieńczalnik Średnie zgłoszone stężenie (log_{10} j.m./mL) n = 6	Różnica
Osocze	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]Próbka wzbogacona

Tabela 20: Zestawienie porównawcze Log_{10} j.m./mL próbek surowicy w matrycy rozcieńczeń 1:100

Matryca	Rozcieńczenie	Matryca surowicy Średnie zgłoszone stężenie (log_{10} j.m./mL) n = 3	Rozcieńczalnik Średnie zgłoszone stężenie (log_{10} j.m./mL) n = 6	Różnica
Surowica	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]Próbka wzbogacona

[b]Wynik z dwóch z trzech badanych replikatów. Usunięto jeden odstający replikat.

Potwierdzenie LLoQ w próbkach klinicznych rozcieńczonych w rozcieńczalniku do próbek

LLoQ testu Aptima HCV Quant zostało potwierdzone przy użyciu próbek klinicznych genotypu 1 wirusa HCV rozcieńczonych w rozcieńczalniku do próbek Aptima. Próbki przygotowano w osoczu i surowicy ludzkiej ujemnej pod względem HCV w stężeniu 21, 30 i 45 j.m./mL. Każdy panel został rozcieńczony w stosunku 1:3 w rozcieńczalniku do próbek Aptima tuż przed badaniem, aby uzyskać końcowe stężenia około 7, 10 i 15 j.m./mL. W ciągu trzech dni przebadano łącznie trzydzieści sześć (36) replikatów (powtórzeń) każdego elementu panelu przy użyciu jednej partii odczynników. Potwierdzono LLoQ ≤ 10 j.m./mL dla osocza i surowicy z HCV rozcieńczonych w rozcieńczalniku do próbek Aptima, jak pokazano w Tabela 21.

Tabela 21: Potwierdzenie LLoQ – próbki kliniczne w rozcieńczalniku do próbek Aptima

Matryca	Stężenie docelowe (j.m./mL)	Stężenie docelowe (log_{10} j.m./mL)	% Wykryto	Aptima HCV Quant Dx (j.m./mL)	Aptima HCV Quant Dx (log_{10} j.m./mL)	SD (log_{10} j.m./mL)	Obciążenie (log_{10} j.m./mL)	Obliczony TE (log_{10} j.m./mL)	Obliczony TAE (log_{10} j.m./mL)
Osocze	7	0,85	100%	9	0,94	0,25	0,10	0,71	0,60
Surowica	7	0,85	100%	9	0,96	0,21	0,12	0,60	0,54

Precyzja rozcieńczonych próbek

Precyzyjny panel Aptima HCV Quant Dx został zbudowany przez rozcieńczenie osocza klinicznego HCV-dodatniego i aRNA HCV w osoczu klinicznym HCV-ujemnym. Następnie rozcieńczano je w rozcieńczalniku do próbek Aptima Panele dodatnie zostały rozcieńczone w rozcieńczalniku do próbek Aptima. Zostały one przetestowane w trzech replikatach na serię przez jednego operatora, przy użyciu jednej pilotowej partii odczynników na jednym aparacie Panther System w ciągu 21 dni testowych, po dwie serie dziennie.

Tabela 22 przedstawia precyzję wyników testów (w $\log_{10}$ j.m./mL) pomiędzy seriami, w obrębie serii, pomiędzy dniami i ogólnie. Całkowita zmienność dla wszystkich elementów panelu wyniosła ≤ 0,15, wynikała ona głównie ze zmienności wewnątrz serii (tj. błędu losowego).

Tabela 22: Precyzja paneli rozcieńczonych w rozcieńczalniku do próbek Aptima

Rozcieńczenie	N	Stężenie średnie ($\log_{10}$ j./m./mL)	Odchylenie standardowe			
			Pomiędzy dniami	Pomiędzy seriami	W ramach serii	Ogółem
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] Liczba ważnych wyników w zakresie liniowym testu

Uwaga: *Zmienność w przypadku niektórych czynników może być liczbowo ujemna, co może mieć miejsce, jeśli zmienność w wyniku tych czynników jest bardzo niska. W takich przypadkach wartości SD i CV przedstawiono jako 0.*

Przenoszenie

Aby ustalić, że Panther System minimalizuje ryzyko fałszywie dodatnich wyników wynikających z zanieczyszczenia przez przeniesienie, przeprowadzono badanie z wykorzystaniem paneli z domieszkami na trzech aparatach Panther System. Przenoszenie zostało ocenione przy użyciu próbek osocza z wysokim mianem z domieszką aRNA wirusa HCV (7 $\log_{10}$ j.m./ml), przeplatanych pomiędzy próbkami HCV-ujemnymi w układzie szachownicy. Testy przeprowadzono w piętnastu seriach. Ogólny wskaźnik przenoszenia wyniósł 0,14% (1/704)

Panel serokonwersji

Przebadano jedenaście zestawów paneli serokonwersji HCV, łącznie 72 próbki. Wyniki testu Aptima HCV Quant Dx zostały porównane z wynikami testów na obecność przeciwciał HCV. Liczba dni do pierwszego wyniku reaktywnego jest podana w Tabela 23. Test Aptima HCV Quant Dx wykrywa obecność HCV średnio o 20 dni wcześniej niż testy na obecność przeciwciał.

Tabela 23: Podsumowanie danych dla panelu serokonwersji

ID panelu	Liczba przebadanych elementów panelu	Liczba reaktywnych elementów panelu			Dni do pierwszego reaktywnego wyniku			Różnica w dniach do pierwszego wyniku reaktywnego (na podstawie daty pobrania krwi)	
		Aptima HCV Quant Dx	Test 1 na przeciwciała HCV	Test 2 na przeciwciała HCV	Aptima HCV Quant Dx	Test 1 na przeciwciała HCV	Test 2 na przeciwciała HCV	Dni wcześniej niż test 1 na przeciwciała HCV	Dni wcześniej niż test 2 na przeciwciała HCV
PHV911	4	4	3	3	3[a]	14	14	11	11
PHV913	4	4	0	2	0	9[b]	7	9	7
PH919	7	4	3	3	25	28	28	3	3
PH920	9	9	7	6	0[c]	13	16	13	16
PH921	11	11	9	7	0	7	18	7	18
PH923	6	6	2	2	0	21	21	21	21
PH924	6	6	3	3	0	59	59	59	59
PH925	5	5	1	1	0	27	27	27	27
PH926	5	5	1	0	0	14	14[b]	14	14
6227	7	4	2	2	42	74	74	32	32
6229	8	8	4	3	0	17	20	17	20
Ogółem	72	66	35	32			Średnia	19,36	20,73
							Mediana	14	18

Test 1 na przeciwciała HCV wykonano przy użyciu testu Abbot Prism HCV

Test 2 na przeciwciała HCV wykonano przy użyciu testu Ortho Enhanced SAVE, z następującymi wyjątkami:

Panele 6227 i 6229, które były badane przy użyciu testu Ortho ELISA Anti-HCV 3.0

[a] Krwi z pierwszego pobrania nie badano z powodu niedostępności próbki od dawcy.

[b] Wszystkie próbki krwi w tym panelu były niereaktywne w kierunku przeciwciał HCV. Ostatni dzień pobrania krwi został użyty jako „Dni do pierwszego reaktywnego wyniku".

[c] Krwi z drugiego pobrania nie badano z powodu niedostępności próbki od dawcy

Badanie powtarzalności

Powtarzalność została oceniona na systemie Panther System w trzech zewnętrznych placówkach w USA. W każdym ośrodku testy przeprowadzało dwóch operatorów. Każdy operator wykonywał dwie serie testów dziennie w okresie trzech dni, korzystając z 3 partii odczynników. W ramach każdej serii testów badano 3 powtórzenia każdego członka panelu. W sumie przebadano 108 powtórzeń każdego elementu panelu.

Odtwarzalność testowano przy użyciu elementów panelu przygotowanych z osocza HCV-ujemnego. Dodatnie elementy panelu były dodatnie tylko w kierunku genotypu HCV 1, genotypu 2 lub genotypu 3. Stężenia RNA wirusa HCV mieściły się w zakresie liniowym testu.

Tabela 24 pokazuje powtarzalność i precyzję wyników testu dla każdego dodatniego elementu panelu między ośrodkami, pomiędzy operatorami, pomiędzy seriami, pomiędzy dniami, pomiędzy seriami, w obrębie serii i ogólnie, a także odsetka replikatów z wynikami poza zgłaszalnym zakresem testu Aptima HCV Quant Dx.

Współczynnik zmienności obliczono przy użyciu następującego równania, gdzie σ^2 jest wariancją próby danych po transformacji $\log_{10}$.

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

W przypadku elementu HCV-ujemnego panelu, przetestowano 108 replkatów i we wszystkich 108 replikatach nie wykryto RNA wirusa HCV (zgodność ujemna = 100%, 95% CI: Od 96,6% do 100%). Dla wszystkich HCV-dodatnich elementów panelu wartości zgodności wynosiły 100%.

Tabela 24: Powtarzalność poziomów RNA wirusa HCV w teście Aptima HCV Quant Dx w Panther System w dodatnich elementach panelu

GT	N	Zaobserwowana średnia		Między ośrodkami	Między partiami	Między operatorami/dniami[a]	Między seriami	W obrębie serii	Ogółem	Poniżej LLoQ n (%)	Powyżej ULoQ n (%)
		IU/mL	Log_{10} IU/mL	SD (%CV)	SD (%CV)	SD (%CV)	SD (%CV)	SD (%CV)	SD (%CV)		
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)

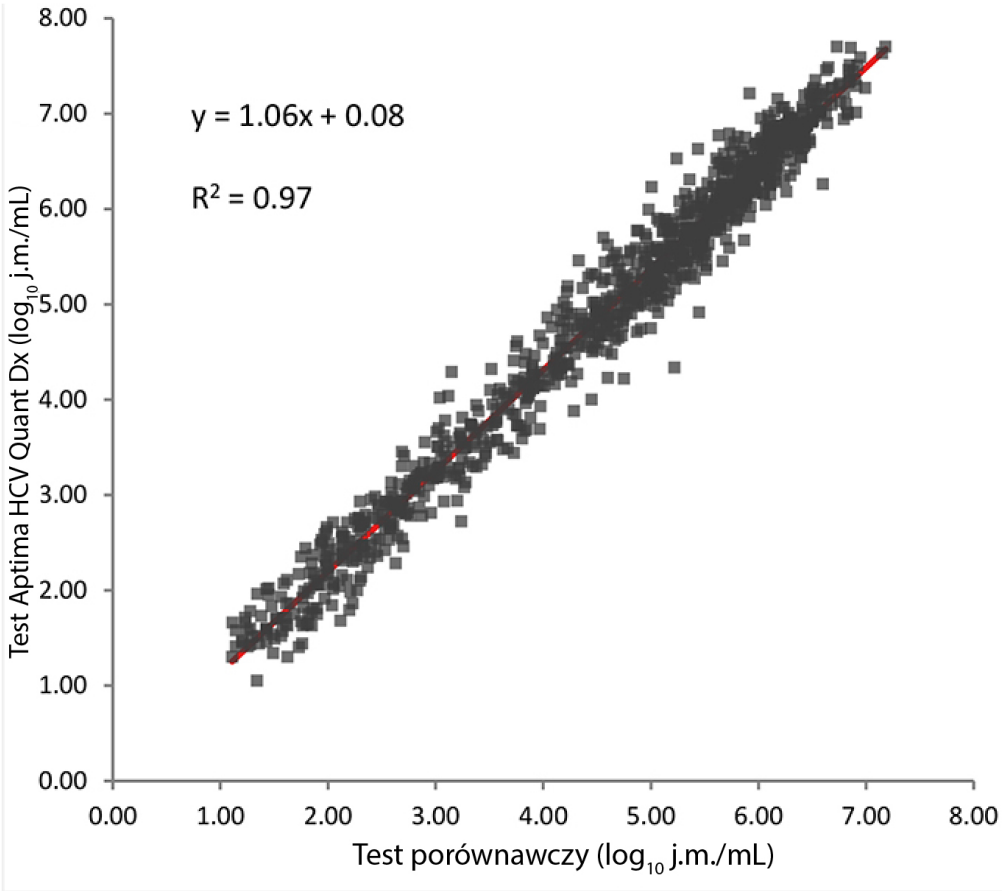
GT	N	Zaobserwowana średnia		Między ośrodkami	Między seriami	Między operatorami/dniami[a]	Między seriami	W obrębie serii	Ogółem	Poniżej LLoQ n (%)	Powyżej ULoQ n (%)
		IU/mL	Log_{10} IU/mL	SD (%CV)	SD (%CV)	SD (%CV)	SD (%CV)	SD (%CV)	SD (%CV)		
3	107	8,6	0,9	0,049 (11,32)	0,103 (24,05)	0,056 (12,95)	0,000 (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 = współczynnik zmienności logarytmu naturalnego, GT = genotyp, SD = odchylenie standardowe (log_{10} j.m./mL)
Uwaga: Zmienność w przypadku niektórych czynników może być liczbowo ujemna. Może to nastąpić wtedy, gdy zmienność wywołana tymi czynnikami jest bardzo niska. W takich przypadkach wartości SD i CV przedstawiono jako 0.
[a] Wartości Między operatorami mogą być skorelowane z wartościami Między dniami, dlatego szacunki Między operatorami i Między dniami są łączone w ramach wartości Między operatorami/Dniami.

Skuteczność kliniczna

Korelacja metod

Skuteczność testu Aptima HCV Quant Dx została oceniona w porównaniu z testem porównawczym posiadającym znak CE poprzez testowanie nierozcieńczonych klinicznych próbek od pacjentów zakażonych HCV na trzech aparatach Panther System przy użyciu czterech serii odczynników. Do regresji liniowej użyto 1058 próbek osocza i surowicy (872 osocza, 186 surowicy) wszystkich genotypów HCV w zakresie liniowym wspólnym dla obu testów, jak pokazano w Rysunek 10.



Rysunek 10. Korelacja pomiędzy testem Aptima HCV Quant Dx a testem porównawczym

Badanie użyteczności klinicznej

Celem badania było wykazanie przydatności klinicznej poprzez oszacowanie charakterystyki działania umożliwiającej osiągnięcie trwałej odpowiedzi wirusologicznej (SVR) lub nieutrzymującej się odpowiedzi wirusologicznej (NSVR) w ustalonych klinicznie istotnych punktach czasowych w okresie 8-, 12- lub 24-tygodniowego leczenia przeciwwirusowego. W badaniu oceniano również wpływ zmiennych towarzyszących (czyli wieku, płci, rasy, wyjściowego poziomu RNA wirusa HCV, obecności lub braku marskości wątroby) na odpowiedź SVR.

Próbki pobrano prospektywnie od pacjentów z genotypem 1, 2 i 3 przewlekle zakażonych HCV, którzy rozpoczynali leczenie 8-, 12- lub 24-tygodniową terapią opartą na sofosbuwirze przy użyciu leków zatwierdzonych przez FDA, przepisanych zgodnie z zatwierdzonymi przez FDA etykietami i/lub wytycznymi AASLD/IDSA dotyczącymi leczenia.[20,21] Osoby wcześniej nieleczone lub leczone na HCV oraz osoby bez marskości wątroby lub z wyrównaną marskością wątroby kwalifikowały się odpowiednio do każdego schematu leczenia.

Miano wirusa HCV RNA oznaczano na początku badania, w 1., 2., 4., 8., 12. i 24. tygodniu za pomocą testu Aptima HCV Quant Dx. Koniec leczenia (EOT) oraz wyniki kontrolne po tygodniu 4 i 12 po leczeniu określono za pomocą testu Aptima HCV Quant Dx i oraz dwóch zatwierdzonych ilościowych testów HCV RNA. SVR zdefiniowano jako poziom HCV RNA < LLoQ oznaczony za pomocą zatwierdzonego testu ilościowego dla próbki pobranej po 12 tygodniach leczenia.

Z 352 pacjentów zarejestrowanych z 35 ośrodków klinicznych w USA, 274 pacjentów miało rozstrzygający status SVR i nadawało się do oceny w analizie. 56 pacjentów miało status SVR bez możliwości oceny i nie zostało uwzględnionych w analizie. Dodatkowych 22 pacjentów miało rozstrzygający status SVR, ale nie można ich było poddać ocenie ze względu na brak wyników przed leczeniem/wyników wyjściowych, wszystkie wyniki w trakcie leczenia < LLoQ lub nie wykryto, lub nie ustalono genotypów za pomocą zatwierdzonego testu. W tym badaniu, 90,5% (248/274) pacjentów osiągnęło status SVR a 9,5% (26/274) osiągnęło status NSVR (patrz Tabela 31 do Tabela 33 dla liczba według genotypu i DRA). Najwyższe wyjściowe miano wirusa wynosiło 7,58 $\log_{10}$ j.m./mL, co oznaczona za pomocą testu Aptima HCV Quant Dx. Wszyscy zakwalifikowani do oceny pacjenci ukończyli leczenie, bez niepowodzeń w trakcie leczenia (np. braku odpowiedzi). Łącznie 2449 próbek pobranych w różnych punktach czasowych od każdego pacjenta przetestowano w trzech ośrodkach badawczych w USA.

Tabela 25 przedstawia dane demograficzne pacjentów i charakterystykę kliniczną 274 badanych pacjentów.

Tabela 25: Demografia i charakterystyka kliniczna

Charakterystyka		
Ogółem	N	274
Płeć	Żeńska, n (%)	112 (40,9)
	Męska, n (%)	162 (59,1)
Wiek (lata)	n	274
	Średnia	55,1
	Mediana	56,0
	SD	10,40
	Wartość minimalna	23
	Wartość maksymalna	83
	21–49, n (%)	61 (22,3)
	50–70, n (%)	203 (74,1)
	>70, n (%)	10 (3,6)
Pochodzenie etniczne	n	274
	Latynos lub Latynoskie, (%)	65 (23,7)
	Nie Latynos lub nie Latynoskie, (%)	202 (73,7)
	Nieznane, n (%)	6 (2,2)
	Odmowa udzielenia odp., n (%)	1 (0,4)
Rasa[a]	n	274
	Biała, n (%)	223 (81,4)
	Czarnoskóry lub Afroamerykanin, n (%)	43 (15,7)
	Azjata, n (%)	1 (0,4)
	Rdzenny mieszkaniec Ameryki/rdzenny mieszkaniec Alaski, n (%)	3 (1,1)
	Rdzenny mieszkaniec Hawajów/ mieszkaniec Wysp Pacyfiku, n (%)	0 (0,0)
	Inna, n (%)	3 (1,1)
	Nieznane, n (%)	1 (0,4)
	Odmowa udzielenia odp., 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)
Status leczenia HCV	n	274
	Wcześniej nieleczone, n (%)	232 (84,7)
	Wcześniej leczone, n (%)	42 (15,3)
	Z nawrotem, n (%)	32 (76,2)
	Brak odpowiedzi, n (%)	1 (2,4)
	Bez odpowiedzi, n (%)	2 (4,8)
	Częściowa odpowiedź, n (%)	3 (7,1)
	Przełom, n (%)	1 (2,4)
	Odbicie, n (%)	0 (0,0)
	Odpowiedź na leczenie nieznana, n (%)	3 (7,1)
	Brak, n (%)	0 (0,0)
Stan marskości wątroby	n	274
	Marskość wątroby, n (%)	98 (35,8)
	Brak marskości wątroby, n (%)	176 (64,2)

[a] Badani mogą zgłaszać wiele ras

Tabela 26 przedstawia ostateczne przydziały schematów leczenia dla 274 pacjentów, którzy kwalifikowali się do oceny.

Tabela 26: Podsumowanie ostatecznych przypisań schematu lekowego pacjentów według genotypu

Przypisanie schematu lekowego	Genotyp HCV n (%)		
	1	2	3
Sofosbuwir i peginterferon oraz rybawiryna przez 12 tygodni	25 (15,8)	-	3 (6,0)
Sofosbuwir i symeprewir i/lub rybawiryna przez 12 tygodni	63 (39,9)	-	-
Sofosbuwir i symeprewir i/lub rybawiryna przez 24 tygodni	4 (2,5)	-	-
Sofosbuwir i rybawiryna przez 12 tygodni	-	66 (100)	-
Sofosbuwir i rybawiryna przez 24 tygodni	6 (3,8)	-	47 (94,0)
Ledypaswir i sofosbuwir przez 8 tygodni	14 (8,9)	-	-
Ledypaswir i sofosbuwir przez 12 tygodni	39 (24,7)	-	-
Ledypaswir i sofosbuwir przez 24 tygodnie	7 (4,4)	-	-
Łączna liczba kwalifikujących się pacjentów	158	66	50

Tabela 27 ocenia powiązanie wyjściowych zmiennych towarzyszących (wiek, rasa, płeć, wyjściowe miano wirusa HCV [zmienna binarna] i stan marskości wątroby) i SVR przy użyciu ilorazu szans (OR) z jednoczynnikową (nieskorygowaną) analizą regresji logistycznej. Wyniki dla 274 osób, które można było zakwalifikować do oceny, oceniono według genotypu HCV. W przypadku genotypów 1 i 2 osoby z marskością wątroby miały mniejsze prawdopodobieństwo osiągnięcia SVR niż osoby bez marskości wątroby (OR=0,16 [95% Wald CI: odpowiednio od 0,04 do 0,63], P=0,009 a OR=0,13 [95% Wald CI: od 0,02 do 0,70], P=0,017). Wartości 95% CI dla innych zmiennych towarzyszących dla genotypu 1 i 2 oraz wszystkich zmiennych towarzyszących dla genotypu 3 zawierały wartość 1 i nie były istotne statystycznie.

Tabela 27: Ocena wyjściowych predyktorów SVR na początku badania

GT	Kategoria	N	Grupowanie	N (%)	Procent Osiąganie SVR	Iloraz szans (OR) (Wald 95% CI) Zastosowanie jednowymiarowej analizy LR	Wartość P
1	Wiek	158	≥ 40 lat	146 (92,4)	91,8	0 [0 – ∞)	Brak możliwości obliczenia
			< 40 lat	12 (7,6)	100		
	Płeć	158	Mężczyzna	92 (58,2)	90,2	0,44 (0,11–1,69)	0,231
			Kobieta	66 (41,8)	95,5		
	Rasa	158	Biały	116 (73,4)	94,0	2,10 (0,63–7,03)	0,227
			Niebiały	42 (26,6)	88,1		
	Wyjściowe miano RNA wirusa HCV[a]	156	> 740 000 j.m./mL	111 (71,2)	92,8	1,26 (0,36–4,40)	0,721
			≤ 740 000 j.m./mL	45 (28,8)	91,1		
	Stan marskości wątroby	158	Marskość wątroby	57 (36,1)	84,2	0,16 (0,04–0,63)	0,009
			Inne niż marskość wątroby	101 (63,9)	97,0		
2	Wiek	66	≥ 40 lat	60 (90,9)	88,3	1,51 (0,15–14,91)	0,722
			< 40 lat	6 (9,1)	83,3		
	Płeć	66	Mężczyzna	36 (54,5)	86,1	0,69 (0,15–3,15)	0,631
			Kobieta	30 (45,5)	90,0		
	Rasa	66	Biały	61 (92,4)	86,9	0 [0 – ∞)	Brak możliwości obliczenia
			Niebiały	5 (7,6)	100		
	Wyjściowe miano RNA wirusa HCV	66	> 740 000 j.m./mL	44 (66,7)	84,1	0,25 (0,03–2,19)	0,211
			≤ 740 000 j.m./mL	22 (33,3)	95,5		
	Stan marskości wątroby	66	Marskość wątroby	22 (33,3)	72,7	0,13 (0,02–0,70)	0,017
			Inne niż marskość wątroby	44 (66,7)	95,5		
3	Wiek	50	≥ 40 lat	44 (88,0)	86,4	0 [0 – ∞)	NC
			< 40 lat	6 (12,0)	100		
	Płeć	50	Mężczyzna	34 (68,0)	85,3	0,39 (0,04–3,62)	0,405
			Kobieta	16 (32,0)	93,8		
	Rasa	50	Biały	46 (92,0)	87,0	0 [0 – ∞)	Brak możliwości obliczenia
			Niebiały	4 (8,0)	100		
	Wyjściowe miano RNA wirusa HCV[a]	49	> 740 000 j.m./mL	30 (61,2)	83,3	0,28 (0,03–2,59)	0,261
			≤ 740 000 j.m./mL	19 (38,8)	94,7		
	Stan marskości wątroby	50	Marskość wątroby	19 (38,0)	78,9	0,26 (0,04–1,58)	0,143
			Inne niż marskość wątroby	31 (62,0)	93,5		

CI = przedział ufności, GT = genotyp, LR = regresja logistyczna

[a]Współzmienna wyjściowego miana RNA wirusa HCV nie obejmuje osób, u których nie wykonano ilościowego oznaczenia miana RNA wirusa HCV przed rozpoczęciem leczenia.

Reakcja na terapię przeciwwirusową

Charakterystykę działania testu ustalono dla osób leczonych określonymi schematami DAA. Nie są dostępne informacje na temat wartości predykcyjnej testu w przypadku stosowania innych kombinacji leczenia DAA.

Definicje:

Miano wirusa w 1. tygodniu (VL) = HCV RNA < LLoQ = 10 j.m./mL w 1. tygodniu leczenia przeciwwirusowego

Miano wirusa w 2. tygodniu (VL) = HCV RNA < LLoQ = 10 j.m./mL w 2. tygodniu leczenia przeciwwirusowego

Miano wirusa w 4. tygodniu (VL) = HCV RNA < LLoQ = 10 j.m./mL w 4. tygodniu leczenia przeciwwirusowego

Miano wirusa w 8. tygodniu (VL) = HCV RNA < LLoQ = 10 j.m./mL w 8. tygodniu leczenia przeciwwirusowego

Tydzień 8 VL (EOT): HCV RNA < LLoQ w 8. tygodniu leczenia przeciwwirusowego

Miano wirusa w 12. tygodniu (VL) = HCV RNA < LLoQ = 10 j.m./mL w 12. tygodniu leczenia przeciwwirusowego

Tydzień 12 VL (EOT): HCV RNA < LLoQ w 12. tygodniu leczenia przeciwwirusowego

Tydzień 24 VL (EOT): HCV RNA < LLoQ w 24. tygodniu leczenia przeciwwirusowego

Trwała odpowiedź wirusologiczna (SVR)12: HCV RNA < LLoQ w 12. tygodniu po zakończeniu leczenia przeciwwirusowego, mierzona niezależnym testem HCV RNA.

Tabela 28 i Tabela 29 przedstawiają częstość odpowiedzi SVR i braku odpowiedzi, odpowiednio, w zależności od genotypu i schematu leczenia ogólnie oraz u pacjentów z marskością wątroby, osób bez marskości wątroby, wcześniej nieleczonych i leczonych wcześniej. Większość badanych osiągnęło SVR we wszystkich genotypach: 92,4% genotyp 1, 87,9% genotyp 2 i 88,0% genotyp 3. We wszystkich genotypach, wskaźniki SVR były na ogół wyższe u pacjentów bez marskości wątroby niż u pacjentów z marskością wątroby i podobne u pacjentów wcześniej nieleczonych i pacjentów leczonych wcześniej.

Tabela 28: Częstość odpowiedzi SVR według genotypu i schematu leczenia

GT	DRA	SVR pacjenci z odpowiedzią n (%)				
		Ogółem	Marskość wątroby	Inne niż marskość wątroby	Nieleczeni	Leczeni
1	Ledypaswir i sofosbuwir przez 8 tygodni	13/14 (92,9)	ND.	13/14 (92,9)	13/14 (92,9)	ND.
	Ledypaswir i sofosbuwir przez 12 tygodni	39/39 (100)	9/9 (100)	30/30 (100)	34/34 (100)	5/5 (100)
	Ledypaswir i sofosbuwir przez 24 tygodni	6/7 (85,7)	6/7 (85,7)	ND.	ND.	6/7 (85,7)
	Sofosbuwir i peginterferon oraz rybawiryna przez 12 tygodni	24/25 96,0)	7/7 (100)	17/18 (94,4)	22/23 (95,7)	2/2 (100)
	Sofosbuwir i rybawiryna przez 24 tygodni	6/6 (100)	1/1 (100)	5/5 (100)	5/5 (100)	1/1 (100)
	Sofosbuwir i symeprewir i/lub rybawiryna przez 12 tygodni	54/63 (85,7)	21/29 (72,4)	33/34 (97,1)	45/54 (83,3)	9/9 (100)
	Sofosbuwir i symeprewir i/lub rybawiryna przez 24 tygodni	4/4 (100)	4/4 (100)	ND.	2/2 (100)	2/2 (100)
2	Sofosbuwir i rybawiryna przez 12 tygodni	58/66 (87,9)	16/22 (72,7)	42/44 (95,5)	53/60 (88,3)	5/6 (83,3)
3	Sofosbuwir i peginterferon oraz rybawiryna przez 12 tygodni	3/3 (100)	3/3 (100)	ND.	1/1 (100)	2/2 (100)
	Sofosbuwir i rybawiryna przez 24 tygodni	41/47 (87,2)	12/16 (75,0)	29/31 (93,5)	35/39 (89,7)	6/8 (75,0)

DRA = przypisanie schematu leczenia, GT = genotyp, ND. = schemat leczenia nie dotyczy tej grupy pacjentów

Tabela 29: Częstość braku odpowiedzi SVR według genotypu i schematu leczenia

GT	DRA	SVR pacjenci bez odpowiedzi n (%)				
		Ogółem	**Marskość wątroby**	**Inne niż marskość wątroby**	**Nieleczeni**	**Leczeni**
1	Ledypaswir i sofosbuwir przez 8 tygodni	1/14 (7,1)	ND.	1/14 (7,1)	1/14 (7,1)	ND.
	Ledypaswir i sofosbuwir przez 12 tygodni	0/39 (0,0)	0/9 (0,0)	0/30 (0,0)	0/34 (0,0)	0/5 (0,0)
	Ledypaswir i sofosbuwir przez 24 tygodni	1/7 (14,3)	1/7 (14,3)	ND.	ND.	1/7 (14,3)
	Sofosbuwir i peginterferon oraz rybawiryna przez 12 tygodni	1/25 (4,0)	0/7 (0,0)	1/18 (5,6)	1/23 (4,3)	0/2 (0,0)
	Sofosbuwir i rybawiryna przez 24 tygodni	0/6 (0,0)	0/1 (0,0)	0/5 (0,0)	0/5 (0,0)	0/1 (0,0)
	Sofosbuwir i symeprewir i/lub rybawiryna przez 12 tygodni	9/63 (14,3)	8/29 (27,6)	1/34 (2,9)	9/54 (16,7)	0/9 (0,0)
	Sofosbuwir i symeprewir i/lub rybawiryna przez 24 tygodni	0/4 (0,0)	0/4 (0,0)	ND.	0/2 (0,0)	0/2 (0,0)
2	Sofosbuwir i rybawiryna przez 12 tygodni	8/66 (12,1)	6/22 (27,3)	2/44 (4,5)	7/60 (11,7)	1/6 (16,7)
3	Sofosbuwir i peginterferon oraz rybawiryna przez 12 tygodni	0/3 (0,0)	0/3 (0,0)	ND.	0/1 (0,0)	0/2 (0,0)
	Sofosbuwir i rybawiryna przez 24 tygodni	6/47 (12,8)	4/16 (25,0)	2/31 (6,5)	4/39 (10,3)	2/8 (25,0)

DRA = przypisanie schematu leczenia, GT = genotyp, ND. = schemat leczenia nie dotyczy tej grupy pacjentów

Tabela 30 pokazuje procent pacjentów z odpowiedzią wirusologiczną (zdefiniowanych jako wyniki testu Aptima HCV Quant Dx < LLoQ) dla każdego przypisania genotypu i schematu leczenia podczas każdej tygodniowej wizyty w trakcie i po leczeniu. Większość pacjentów osiągnęła SVR do 4. tygodnia dla wszystkich genotypów, a wszyscy pacjenci osiągnęli SVR do 8. tygodnia.

Tabela 30: Prawdopodobieństwo osiągnięcia SVR w tygodniach leczenia i po leczeniu

GT	DRA	N	SVR z odpowiedzią % (n)	SVR bez odpowiedzi % (n)	Odsetek pacjentów z odpowiedzią wirusologiczną na wizytę[a] n (%)						
					Tygodnie/Tygodni					Koniec badania	PT04
					1	2	4	8	12		
1	LDV + SOF (8 tygodni)	14	92,9 (13/14)	7,1 (1/14)	42,9 (6/14)	76,9 (10/13)	100 (14/14)	ND.	ND.	100 (14/14)	90 (9/10)
	LDV + SOF (12 tygodni)	39	100 (39/39)	0,0 (0/39)	11,1 (4/36)	52,6% (20/38)	92,1 (35/38)	100 (36/36)	ND.	100 (39/39)	100 (33/33)
	LDV + SOF (24 tygodni)	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 tygodni)	25	96,0 (24/25)	4,0 (1/25)	40,0 (10/25)	80,0 (20/25)	100 (25/25)	100 (25/25)	ND.	100 (25/25)	100 (25/25)
	SOF+RBV (24 tygodni)	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 tygodni)	63	85,7 (54/63)	14,3 (9/63)	20,7 (12/58)	67,9 (38/56)	98,4 (62/63)	100 (57/57)	ND.	96,6 (57/59)	90,0 (54/60)
	SOF+SIM+RBV (24 tygodni)	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 tygodni)	66	87,9 (58/66)	12,1 (8/66)	22,2 (12/54)	69,4 (43/62)	95,4 (62/65)	100 (64/64)	ND.	98,5 (64/65)	93,5 (58/62)
3	SOF+PEG+RBV (12 tygodni)	3	100 (3/3)	0,0 (0/3)	33,3 (1/3)	100 (2/2)	100 (3/3)	100 (2/2)	ND.	100 (3/3)	100 (3/3)
	SOF+RBV (24 tygodni)	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= przypisanie schematu leczenia, EOT= koniec leczenia, ND.= nie dotyczy, ponieważ wizyta odpowiada EOT dla danego leczenia lub wykracza poza okno leczenia, PT04 = 4. tydzień po leczeniu

[a]Odpowiedź wirusologiczna w trakcie leczenia i po leczeniu zdefiniowana jako < 10 j.m./mL.

Uwaga: EOT nie jest wliczony w tydzień leczenia

Dla pacjentów z genotypem 1, 95,5% (150/157) ocenianych pacjentów miało odpowiedź wirusologiczną w trakcie leczenia do 4. tygodnia. 7 pacjentów z genotypem 1, które nie odpowiedziały w ciągu tygodnia 4 (3 pacjentów leczonych LDV + SOF [12 tygodni], 2 pacjentów leczonych LDV + SOF [24 tygodnie], 1 pacjent każdy leczony SOF + RBV [24 tygodnie] lub SOF + SIM ± RBV [12 tygodni]) rozwinęły odpowiedzi wirusologiczne na leczenie do 8. tygodnia. Dwóch (2) pacjentów leczonych SOF + SIM ± RBV (12 tygodni) miały nawrót choroby przed końcem leczenia a 6 (1 pacjent leczony LDF + SOF [8 tygodni], 1 pacjent leczony LDF + SOF [24 tygodni], i 4 pacjentów leczonych SOF + SIM ± RBV [12 tygodni]), miały nawrót choroby przed końcem tygodniem 4 po leczeniu.

Dla pacjentów z genotypem 2, 95,4% (62/65) ocenianych pacjentów miało odpowiedź wirusologiczną w trakcie leczenia do 4. tygodnia. 3 pacjentów z genotypem 2, którzy nie zareagowali do 4. tygodnia, miało odpowiedź wirusową na leczenie do 8. tygodnia. Jeden (1) pacjent leczony SOF + RBV (12 tygodni) miał nawrót choroby przed końcem leczenia, a 4 u pacjentów z tym samym przypisanym schematem leczenia doszło do nawrotu choroby do 4 tygodnia po leczeniu.

Dla pacjentów z genotypem 3, 100% (49/49) ocenianych pacjentów miało odpowiedź wirusologiczną w trakcie leczenia do 4. tygodnia. Żaden (0) pacjent nie miał nawrotu do

końca leczenia, a u 5 pacjentów leczonych SOF + RBV (24 tygodnie) doszło do nawrotu do 4. tygodnia po leczeniu.

W oparciu o wyniki tych badań, test Aptima HCV Quant Dx może być stosowany jako pomoc w leczeniu pacjentów zakażonych HCV poddawanych leczeniu przeciwwirusowemu z zastosowaniem sofosbuwiru i można go stosować do określania odpowiedzi i braku odpowiedzi SVR. Wyniki testu można wykorzystać do ilościowego pomiaru poziomów RNA wirusa HCV w ludzkim osoczu na początku leczenia i podczas leczenia.

Badanie użyteczności diagnostycznej

Czułość oceniano u 338 osób z dodatnim wynikiem na obecność przeciwciał HCV w populacji wysokiego ryzyka. Tabela 31 przedstawia charakterystykę demograficzną i kliniczną pacjentów.

Tabela 31: Charakterystyka demograficzna i kliniczna pacjentów z dodatnim wynikiem przeciwciał HCV

Charakterystyka		
Ogółem	*N*	338
Płeć	Żeńska, n (%)	80 (23,7)
	Męska, n (%)	258 (76,3)
Wiek (lata)	Średnia	48,2
	Mediana	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/pochodzenie etniczne[a]	Biała, n (%)	86 (25,4)
	Czarna, n (%)	118 (34,9)
	Azjata, n (%)	1 (0,3)
	Latynos, n (%)	123 (36,4)
	Mieszane pochodzenie etniczne, n (%)	4 (1,2)
	Inna, n (%)	10 (3,0)
	Nieznane, n (%)	0 (0,0)
Czynniki ryzyka[b]	Użycie leków w zastrzyku, n (%)	294 (87,0)
	Odbiorcy czynników krzepnięcia wykonanych przed 1990, n (%)	0 (0,0)
	Zdiagnozowany/leczony na zapalenie wątroby, n (%)	172 (50,9)
	Zdiagnozowany/leczony na HIV, n (%)	13 (3,8)
	Pobyt w więzieniu w wywiadzie, n (%)	311 (92,0)
	Przyjęcie transfuzji krwi lub komponentów krwi, n (%)	39 (11,5)
	Przeszczep, n (%)	0 (0,0)
	Dializa krwi, n (%)	3 (0,9)
	Stale podwyższone poziomy ALAT, n (%)	2 (0,6)
	Urodzeni pomiędzy 1945 a 1965, n (%)	192 (56,8)
Status zakażenia HCV	HCV RNA dodatnie, n (%)	259 (76,6)
	HCV RNA ujemne, n (%)	79 (23,4)

ALAT = aminotransferaza alaninowa, HIV = ludzki wirus upośledzenia odporności
[a] Mogą zgłaszać wiele ras.
[b] Mogą zgłaszać wiele czynników ryzyka.

Próbki zostały przebadane za pomocą zatwierdzonego jakościowego testu HCV RNA, zatwierdzonego testu na przeciwciała HCV i testu Aptima HCV Quant Dx. Badanie objęło 338 pacjentów reaktywnych na przeciwciała HCV. Zgodnie z aktualnymi wytycznymi AASLD, należy użyć zatwierdzone przez FDA NAAT o poziomie wykrywalności 25 j.m./mL lub niższym[20] w celu potwierdzenia dodatniego stanu zakażenia HCV po uzyskaniu reaktywnego wyniku testu na przeciwciała HCV. Zgodność między statusem zakażenia pacjenta a wynikami testu Aptima HCV Quant Dx została określona z zastosowaniem wartości granicznej 25 j.m./mL. Próbki < 25 j.m./mL uznano za „niewykryte" a próbki wynikach ≥ 25 j.m./mL uznano za „wykryte." Patrz Tabela 32.

Wyniki testu RNA.Aptima HCV Quant Dx porównano ze stanem zakażenia pacjenta na podstawie zatwierdzonych wyników testu na przeciwciała HCV i zatwierdzonych jakościowych wyników testu RNA. Stan zakażenia pacjenta uznano za dodatni HCV, jeśli zarówno zatwierdzony test na obecność przeciwciał HCV, jak i zatwierdzone wyniki testu jakościowego dały wyniki reaktywne. Stan zakażenia pacjenta uznano za ujemny HCV, jeśli zatwierdzony test na przeciwciała HCV dał wynik niereaktywny.

Spośród 338 osób z dodatnimi wynikami przeciwciał HCV, test Aptima HCV Quant Dx wykrył 256 (% zgodności dodatniej = 98,8%). Spośród trzech pacjentów, u których HCV RNA oznaczono ilościowo poniżej 25 j.m./mL lub nie wykryto, u dwóch osób wykryto, ale nie oznaczono ilościowo wynik (HCV RNA < 10 j.m./mL) a u jednego pacjenta wynik ilościowego oznaczenia HCV RNA wyniósł 12 j.m./mL.

Tabela 32: Zgodność między wynikami testu Aptima HCV Quant Dx ze statusem zakażenia pacjenta z wartością graniczną 25 j.m./mL

Aptima HCV Quant Dx Wynik testu	**Stan zakażenia pacjenta**		**Ogółem**
	HCV dodatnie	**HCV ujemne**	
HCV RNA oznaczane ilościowo na poziomie lub powyżej 25 j.m./mL	256	0	256
HCV RNA oznaczane ilościowo lub wykryto poniżej 25 j.m./mL lub nie wykryto	3[a]	79	82
Ogółem	259	79	338
% zgodność wyników dodatnich (95% wynik CI)	98,8 (96,7–99,6)	ND.	ND.
% zgodność wyników ujemnych (95% wynik CI)	ND.	100 (95,4–100)	ND.

CI = przedział ufności, ND. = nie dotyczy

[a] Test Aptima HCV Quant Dx wykrył, ale nie oznaczył ilościowo RNA HCV (<10 j.m./mL) u dwóch osób, a u trzeciego pacjenta oznaczono ilościowo RNA HCV na poziomie 12 j.m./mL.

Niniejsze badanie demonstruje przydatność kliniczną testu Aptima HCV Quant Dx do prawidłowego diagnozowania pacjentów z aktywnym zakażeniem HCV RNA i odróżniania ich od =pacjentów z nieaktywnymi zakażeniami w populacji z wcześniejszą ekspozycją na HCV (serologia z dodatnim wynikiem przeciwciał HCV).

Reaktywność krzyżowa u osób z chorobą wątroby niezwiązaną z HCV

Próbki surowicy i osocza (n = 214) uzyskano od osób z innymi chorobami wątroby (u których nie wskazano aktywnego zakażenia HCV jako przyczyny). Próbki testowano zatwierdzonym testem anty HCV i zatwierdzonym testem na RNA HCV, aby potwierdzić, że próbki HCV były ujemne. Siedemnaście (17) dodatnich próbek HCV (z dodatnimi wynikami anty HCV i/lub reaktywne jakościowe wyniki RNA HCV) a trzy niekwalifikujące się próbki wyłączono. Test Aptima HCV Quant Dx został wykonany na miejscu z zastosowaniem trzech partii odczynników. Tabela 33 przedstawia dane demograficzne pacjentów i stan choroby wątroby dla 194 badanych pacjentów.

Tabela 33: Charakterystyka demograficzna pacjentów i stan choroby wątroby

Charakterystyka		Ogółem
Ogółem	N	194
Płeć	n	193
	Żeńska, n (%)	116 (60,1)
	Męska, n (%)	77 (39,9)
Wiek (lata)	n	194
	Średnia	55,2
	Mediana	56,0
	SD	12,19
	Wartość minimalna	25
	Wartość maksymalna	82
	21–49, n (%)	60 (30,9)
	50–70, n (%)	114 (58,8)
	>70, n (%)	20 (10,3)
Pochodzenie etniczne	n	194
	Latynos lub Latynoskie, (%)	9 (4,6)
	Nie Latynos lub nie Latynoskie, (%)	147 (75,8)
	Nieznane, n (%)	38 (19,6)
	Odmowa udzielenia odp., n (%)	0 (0,0)
Rasa[a]	n	194
	Biała, n (%)	122 (62,9)
	Czarnoskóry lub Afroamerykanin, n (%)	20 (10,3)
	Azjata, n (%)	17 (8,8)
	Rdzenny mieszkaniec Ameryki/rdzenny mieszkaniec Alaski, n (%)	0 (0,0)
	Rdzenny mieszkaniec Hawajów/mieszkaniec Wysp Pacyfiku , n (%)	1 (0,5)
	Inna, n (%)	34 (17,5)
	Nieznane, n (%)	2 (1,0)
	Odmowa udzielenia odp., n (%)	0 (0,0)
Choroba wątroby[b]	n	194
	Autoimmunologiczne zapalenie wątroby, n (%)	31 (16,0)
	Choroba alkoholowa wątroby, n (%)	51 (26,3)
	Przewlekłe HBV (%)	34 (17,5)
	Pierwotna marskość żółciowa , n (%)	37 (19,1)
	NASH, n (%)	39 (20,1)
	Zgłoszonych wiele chorób wątroby, n (%)	2 (1,0)

HBV = wirus zapalenia wątroby typu B, NASH= niealkoholowe stłuszczeniowe zapalenie wątroby

[a] Badani mogli zgłaszać wiele ras.

[b] Badani z wieloma zgłaszanymi chorobami wątroby zarówno zapaleniem wątroby autoimmunologicznym i pierwotną marskością żółciową.

Tabela 34 przedstawia swoistość testu Aptima HCV Quant Dx według choroby wątroby oraz rozkład wyników testu Aptima HCV w zależności od kategorii miana wirusa. Swoistość wynosiła 100% u pacjentów z przewlekły zapaleniem wątroby typu B (HBV), pierwotną marskością żółciową, niealkoholowym stłuszczeniowym zapalaniem wątroby (NASH) i zgłaszanych wielu chorobach wątroby. RNA wirusa HCV wykryto przy bardzo niskich poziomach u 1 badanego z autoimmunologicznym zapaleniem wątroby (< 10 j.m./mL) i 4 pacjentów z alkoholową chorobą wątroby (< 10 j.m./mL dla 3 pacjentów i 16 j.m./mL dla 1 pacjenta). U jednego z 5 pacjentów wykryto RNA HCV RNA za pomocą zatwierdzonego testu jakościowego w kierunku HCV.

Tabela 34: Swoistość testu Aptima HCV Quant Dx i wyniki rozkładu u pacjentów ujemnych na przeciwciała HCV i RNA HCV z chorobami wątroby niezwiązanymi z HCV

Choroba wątroby	Swoistość (%) 95% CI[a]	nie Wykryto	< 10 j.m./mL	10 do < 25 j.m./mL	od 25 do 100 000 000 j.m./mL	> 100 000 000 j.m./mL	Ogółem
Autoimmunologiczne zapalenie wątroby	96,8 (83,8–99,4)	30 (96,8)	1 (3,2)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	31
Choroba alkoholowa wątroby	92,2 (81,5–96,9)	47 (92,2)	3 (5,9)[b]	1 (2,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	51
Przewlekłe HBV	100 (89,8–100)	34 (100)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	34
Pierwotna marskość żółciowa	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
Wiele chorób wątroby[c]	100 (34,2–100)	2 (100)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	2
Ogółem	97,4 (94,1–98,9)	189 (97,4)	4 (2,1)	1 (0,5)	0 (0,0)	0 (0,0)	194

HBV = wirus zapalenia wątroby typu B, NASH= niealkoholowe stłuszczeniowe zapalenie wątroby

[a]wynik CI

[b]U jednego z pacjentów wykryto RNA HCV za pomocą zatwierdzonego testu jakościowego w kierunku HCV.

[c]Pacjenci cierpieli zarówno na autoimmunologicznego zapalenia wątroby i pierwotną żółciową marskość wątroby.

Bibliografia

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 i inni. Current and Future Disease Progression of the Chronic HCV Population in the United States. PLoS One. 21 maja 2013 r.:8(5):e63959
3. Engle RE, Bukh J, Alter HJ i inni, Transfusion-associated hepatitis before the screening of blood for hepatitis risk factors.Transfusion. 5 maja 2014 r.
4. Lee M-H, Yang, H-I, Yuan Y i inni, Epidemiology and natural history of hepatitis C virus infection. World J Gasteroenterology 2014: 20 (28): 9270-9280.
5. Tan SL, redaktor. Hepatitis C Viruses: Genome and Molecular Biology. Norfolk (Wielka Brytania): Horizon Bioscience; 2006.
6. Smith DB, Bukh J, Kuiken C i inni, P. Expanded classification of hepatitis C virus into 7 genotypes and 67 subtypes: updated criteria and genotype assignment web resource.Hepatology. Styczeń 2014 r.; 59(1):318-27.
7. Zalecenia EASL dotyczące leczenia zapalenia wątroby typu 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). Wytyczne dotyczące HCV: 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. Opublikowano na hcvguidelines.org, dostęp 11 lutego 2016 r..
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. wrzesień 2015 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 dokument MM13-A. Wayne, PA.
15. **29 CFR część 1910.1030.** Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens; wersja bieżąca.
16. **Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health.** Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL); wersja bieżąca.
17. **Clinical and Laboratory Standards Institute.** 2002. Clinical Laboratory Waste Management. CLSI dokument 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 dokument 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. Zaktualizowane 21 marca 2014 r. Dostęp: 1 marca 2016 r.
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.

Dane kontaktowe i historia wersji



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

Adres e-mail i numer telefonu działu pomocy technicznej i obsługi klienta właściwe dla danego kraju można znaleźć na stronie www.hologic.com/support.

W Unii Europejskiej należy zgłaszać poważne incydenty, które wystąpiły w związku z wyrobem, do wytwórcy i właściwego organu państwa członkowskiego, w którym użytkownik i/lub pacjent ma siedzibę/miejsce zamieszkania.

Hologic, Aptima, Panther, Panther Fusion i powiązane logo są znakami towarowymi lub zastrzeżonymi znakami towarowymi firmy Hologic i/lub spółek zależnych w Stanach Zjednoczonych i/lub innych państwach.

Armored RNA to znak towarowy należący do Asuragen, Inc.

Wszystkie inne znaki towarowe, które mogą się pojawić w tej ulotce załączonej do opakowania, należą do ich odpowiednich właścicieli.

Opisywany produkt może być objęty co najmniej jednym patentem w Stanach Zjednoczonych spośród wymienionych na stronie www.hologic.com/patents.

©2016-2025 Hologic, Inc. Wszystkie prawa zastrzeżone.

AW-28216-3401 Wer. 001

2025-12

Historia wersji	Data	Opis
AW-28216-3401 Wer 001	Grudzień 2025 r.	• Pierwsze wydanie.