

Aptima™ HCV Quant Dx Assay -analyysi

Diagnostiseen *in vitro* -käyttöön.

Vain Yhdysvalloista vientiin.

| | |
|---|-----------|
| Yleisiä tietoja | 2 |
| Käyttötarkoitus | 2 |
| Testin yhteenveto ja selvitys | 2 |
| Toimintaperiaate | 3 |
| Varoitukset ja varotoimet | 4 |
| Reagenssien säilytystä ja käsittelyä koskevat vaatimukset | 6 |
| Näytteiden keruu ja säilytys | 7 |
| Panther-järjestelmässä säilytetyt reagenssit | 9 |
| Näytteen kuljetus | 9 |
| Panther-järjestelmä | 10 |
| Toimitetut reagenssit ja materiaalit | 10 |
| Materiaalit, jotka tarvitaan mutta jotka ovat saatavissa erikseen | 12 |
| Valinnaiset materiaalit | 13 |
| Panther-järjestelmän testausmenetelmä | 13 |
| Menetelmää koskevia huomautuksia | 17 |
| Laaduntarkistus | 18 |
| Analyysin kalibrointi | 18 |
| Negatiiviset ja positiiviset verrokkit | 18 |
| Sisäinen kalibroija / sisäinen verrokki | 18 |
| Tulosten tulkitseminen | 19 |
| Rajoitukset | 20 |
| Suorituskyky | 21 |
| Havaitsemisraja (Limit of Detection, LOD) käytettäessä WHO:n 2. kansainvälistä standardia | 21 |
| Havaitsemisraja HCV-genotyyppien kesken | 22 |
| Lineaarinen alue | 23 |
| Lineaarisuus HCV-genotyyppien kesken | 24 |
| Kvantitoinnin alaraja (Lower Limit of Quantitation) käytettäessä WHO:n 2. kansainvälistä standardia | 24 |
| Kvantitoinnin alarajan (LLOQ) määrittäminen HCV-genotyyppien kesken | 26 |
| Tarkkuus | 28 |
| Mahdollisesti häiritsevät aineet | 28 |
| Spesifisyys | 30 |
| Analyttinen spesifisyys | 31 |
| Kliiniset näytteet, jotka sisältävät muita viruksia kuin HCV:ta | 32 |
| Kliinisten näytteiden toistettavuus | 32 |
| Näytteen laimentaminen näytteen laimentimella | 33 |
| Menetelmän korrelaatio | 35 |
| Diagnostinen yhteensopivuus | 35 |
| Näytteiden välinen kontaminaatio | 36 |
| Serokonversion testisarja | 36 |
| Lähdeluettelo | 37 |

Yleisiä tietoja

Käyttötarkoitus

Aptima HCV Quant Dx Assay -analyysi on reaaliaikainen transkriptiovälitteinen monistustesti. Tätä analyysiä käytetään sekä hepatiitti C -viruksen (HCV) RNA:n havainnointiin että kvantitointiin tuoreesta ja jäädytetystä HCV-infektion saaneiden ihmisten seerumista ja plasmasta.

Plasma voidaan valmistaa eteenidiamiinitetraetikkahappoon (EDTA), antikoagulanttiseen sitraattidekstroosi (ACD) -liuokseen ja plasman valmistusputkiin (PPT). Seerumi voidaan valmistaa seerumiputkissa ja seerumin erotusputkissa (Serum Separator Tube, SST). Näytteet testataan käyttämällä Panther-järjestelmää, jolla suoritetaan automaattinen näytteiden käsittely, monistus, havainnointi ja kvantitointi. HCV-genotyyppejä 1–6 sisältäville näytteille tehdään hyväksyntätarkistus analyysissä havaitsemisen ja kvantitoinnin suhteen.

Aptima HCV Quant Dx Assay -analyysin käyttöaiheena on käyttö HCV-infektion diagnoosin apuvälineenä. Analyysiä voidaan käyttää aktiivisen HCV-infektion vahvistamiseen potilaista, joille on saatu positiivinen HCV-vasta-aineen tulos. HCV:n RNA:n havaitseminen on merkki siitä, että virus monistuu, mikä on puolestaan todiste aktiivisesta infektiosta.

Aptima HCV Quant Dx Assay -analyysin käyttöaiheena on käyttö HCV-infektion saaneiden, HCV-viruslääkehoitoa saavien potilaiden hoidon apuvälineenä. Analyysissä mitataan HCV:n RNA-tasot lähtötilanteessa, hoidon aikana sekä hoidon jälkeen pysyvän virusvasteen (Sustained Virological Response, SVR) määrittämiseksi. Aptima HCV Quant Dx Assay -analyysin tulokset on tulkittava kaikkien asiaankuuluvien kliinisten ja laboratoriolöydösten kontekstissa.

Aptima HCV Quant Dx Assay -analyysiä ei ole tarkoitettu käytettäväksi HCV:n verestä tai verivalmisteista havaitsemisen seulontatestinä.

Testin yhteenveto ja selvitys

HCV on veriperäinen patogeeni, joka on maailmanlaajuinen ongelma julkisessa terveydenhuollossa, sillä jopa 170 miljoonaa ihmistä eri puolilla maailmaa on saanut HCV-infektion ja HCV:hen liittyvät ongelmat, mm. kirroosi ja maksasyöpä, aiheuttavat vuosittain 350 000 kuolemaa.^{1,2} HCV tarttuu verelle, verivalmisteille altistumisessa tai toimissa, joissa on mahdollisuus saada altistus ihon läpi.^{3,4} Geneettisellä tasolla HCV sisältää positiivisuusteisen RNA-genomin, jossa on noin 9 500 nukleotidiä, jotka koodaavat rakenteellisia proteiineja (runkoketju, E1- ja E2-glykoproteiinit, p7-ionikanavaproteiini) ja ei-rakenteellisia proteiineja (NS2, NS3, NS4A/B, NS5A/B), joista jälkimmäiset ovat keskeisiä virusten monistumisproteiineja ja suoraan vaikuttavien viruslääkkeiden kohteita.^{4,5} Kaksi genomien translaatioaluetta (UTR), 5'UTR ja 3'UTR, toimivat genomissa translaatio- ja vastaavasti replikaatio-/pakkausrooleissa.⁵ 5'-UTR on kaikkien parhaiten yhtenäisesti säilynyt genomien alue kuuden merkittävimmän HCV-genotyypin kesken.⁶

Kliinisellä tasolla asymptoattinen HCV-infektio on yleisin ilmenemismuoto, ja huolimatta havaittavasta vasta-aineesta (havaitaan yleensä 5–12 viikon kuluessa), krooninen HCV-infektio ilmenee jopa 75 prosentilla potilaista.² HCV:n laboratoriotestausalgoritmit edellyttävät aktiivisten HCV-infektioiden diagnoosia vasta-ainepositiivisilta tutkittavilta tunnistamalla HCV:n RNA plasmasta tai seerumista, jotta testi saadaan yhdistettyä riittävän hyvin hoitoon.^{7,8,9}

HCV:n RNA:n (viruskuormituksen) kvantitointi on ollut keskeisessä roolissa menestyksekkään HCV-hoidon määrityksessä ja tarkkailussa. Pysyvä virusvaste (Sustained virological response, SVR) määritetään tilanteeksi, jossa HCV:n RNA:ta ei havaita onnistuneen hoidon jälkeen, ja se on HCV:n parantumisen keskeisin markkeri.^{10,11} Interferonipohjaisessa hoidossa varhainen virusvaste (Early Virological Response, EVR), joka määritetään 2 logaritmin tai suuremmaksi HCV:n viruskuormituksen nuosuksi 12 viikon hoidon jälkeen, ja nopea virusvaste (Rapid Virological Response, RVR), joka määritetään tilanteeksi, jossa HCV:n RNA:ta ei havaita neljän viikon hoidon jälkeen, osoittautuivat SVR:n positiivisiksi ennustetekijöiksi.^{10,12,13} Nämä viruksen kineettisen toiminnan markkereita käytetään vasteohjatuissa lähestymistavoissa, joissa hoitovaihtoehdot mukautetaan SVR:n saavuttamiseksi pysäyttämällä hoito tai jatkamalla hoitoa.¹⁴ Lisäksi pitkäaikaisissa seurantatutkimuksissa osoitettiin, että SVR:n säilyvyys onnistuneen hoidon ja viruksen tappamisen jälkeen, estää maksasairauden etenemisen.¹⁰

Suoraan vaikuttavien viruslääkkeiden (Direct-Acting Antiviral, DAA) aikakaudella HCV:n viruskuormituksenmittaukset tehdään ennen hoitoa lähtötilanteen viruskuormituksen määrittämiseksi, hoidon aikana hoidonaikaisen vasteen selvittämiseksi ja hoidon jälkeen SVR:n (tai relapsin) määrittämiseksi. Lähes kaikki potilaat saavat hoidon aikana DAA-lääkkeen virusvasteen, jonka määrittellään olevan analyysin kvantitoinnin alaraja (Lower Limit of Quantitation, <LLOQ), mitä seuraa yli 90 %:n SVR-osuus 12 viikon hoidon jälkeen useimpien hoito-ohjelmien tapauksessa.^{8,11} HCV:n RNA:n havaitseminen ja kvantitointi ovat edelleen keskeisessä roolissa HCV:n diagnoosissa sekä viruslääkehoitoa saavien potilaiden hoidossa.

Toimintaperiaate

Aptima HCV Quant Dx Assay -analyysi on nukleiinihappojen monistustesti, jossa käytetään reaaliaikaista transkriptiovälitteistä nukleiinihappojen monistusmenetelmäteknikkaa (TMA) HCV:n RNA:n havaitsemiseen ja määrälliseen määritykseen ennen hoitoa. Sen tavoitteena on auttaa diagnoosin tekemisessä tai määrittää lähtötilanteen viruskuormitus sekä mitata hoidonaikainen ja -jälkeinen vaste. Analyysi kohdentuu HCV-genomin säilyneeseen alueeseen ja havaitsee ja kvantitoi genotyypit 1, 2, 3, 4, 5 ja 6. Analyysi on standardoitu hepatiitti C -viruksen WHO:n toisen kansainvälisen standardin suhteen (NIBSC-asetus 96/798).¹²

Aptima HCV Quant Dx Assay -analyysissä on kolme päävaihetta, jotka kaikki tehdään yhdessä putkessa Panther-järjestelmässä: kohteen sieppaus, kohteen monistus TMA-tekniikalla ja monistustuotteiden (amplikonin) havaitseminen fluoresoivasti leimatuilla koettimilla.

Kohteen sieppauksen aikana virus-RNA eristetään näytteistä. Näytettä käsitellään puhdistusaineella, jotta viruksen kuori liukenee, proteiinit denaturoituvat ja viruksen genomin RNA vapautuu. Siepatut oligonukleotidit hybridisoituvat testinäytteen HCV:n RNA:n erittäin hyvin säilyneisiin alueisiin (jos sellaisia on). Hybridisoitu kohde sidotaan sen jälkeen magneettisiin mikrohiukkasiin, jotka erotetaan näytteestä magneettikentässä. Pesuvaiheissa ulkoiset ainesosat poistetaan reaktioputkesta.

Kohteen monistus tapahtuu TMA-tekniikalla, joka on transkriptiovälitteinen nukleiinihappojen monistusmenetelmä, jossa käytetään kahta entsyymiä, Moloney'n hiiren leukemiaviruksen (MMLV) käänteistranskriptaasia ja T7-RNA-polymeraasia. Käänteistranskriptaasia käytetään kohdesekvenssin DNA-kopion (joka sisältää promootterisekvenssin T7-RNA-polymeraasia varten) luomiseen. T7-RNA-polymeraasi tuottaa useita RNA-amplikonin kopioita DNA-kopiotemplaattista. Aptima HCV Quant Dx Assay -analyysissä käytetään TMA-menetelmää HCV-genomin 5'UTR -

alueen osan monistamiseen. Tämän alueen monistus tehdään käyttämällä spesifisiä alukkeita, jotka on suunniteltu monistamaan HCV-genotyypit 1, 2, 3, 4, 5 ja 6.

Havaitseminen tehdään käyttämällä yksijuosteisia, fluoresoivasti leimattuja nukleiinihappokoettimia, jotka ovat läsnä kohteen monistuksen aikana ja hybridisoituvat spesifisesti amplikoniin reaaliaikaisesti. Jokaisessa fluoresoivasti leimatussa koettimessa on fluorofori ja sammuttaja. Kun fluoresoivasti leimattu koetin ei hybridisoidu amplikoniin, sammuttaja on fluoroforin läheisyydessä ja estää fluoresenssin. Kun fluoresoivasti leimattu koetin sitoutuu amplikoniin, sammutin on siirtynyt kauemmas pois päin fluoroforista, ja se lähettää signaalin tietyllä aallonpituudella, kun valonlähde virittää sen. Kun enemmän fluoresoivasti leimattuja koettimia hybridisoituu amplikoniin, ne synnyttävät suuremman fluoresoivan signaalin. Aika, joka fluoresoivalta signaalilta kuluu tietyn kynnsarvon saavuttamiseen, on suhteessa HCV:n alkupitoisuuteen. Jokaisessa reaktiossa on mukana sisäinen kalibroija / sisäinen verokki (IC) -aine, joka ilmaisee näytteen käsittelyssä, monistuksessa ja havaitsemisissa ilmenevän vaihtelun. Näytteen pitoisuus määritetään Panther-järjestelmäohjelmistolla käyttämällä kunkin reaktion HCV- ja IC-signaaleja ja vertaamalla niitä kalibrointitietoihin.

Varoitukset ja varotoimet

- A. Epäkelpojen tulosten riskin vähentämiseksi käyttäjän on luettava huolella koko pakkauseloste ja *Panther-järjestelmän käyttöopas* ennen analyysin suorittamista.

Laboratorioon liittyviä seikkoja



- B. HUOMIO: Tämän analyysin verrokkit sisältävät ihmisen plasmaa. Plasma on negatiivista hepatiitti B:n pinta-antigeenin (HBsAg), HCV:n vasta-aineiden, HIV-1:n ja HIV-2:n vasta-aineiden ja HIV-antigeenin suhteen, kun se testataan Yhdysvaltain elintarvike- ja lääkehallinnon lisensoitujen testausmenettelyjen mukaisesti. Lisäksi plasma ei reagoi HCV:n RNA:n ja HIV-1:n RNA:n kanssa, kun se testataan lisensoituilla nukleiinihappotesteillä käyttämällä yhdistettyjä näytteitä. Kaiken ihmisen verestä peräisin olevan materiaalin on katsottava olevan mahdollisesti infektiovaarallista, ja siksi tällaista materiaalia on käsiteltävä yleisten varotoimien mukaisesti.^{15,16,17}
- C. Tämän menetelmän saa suorittaa vain henkilöstö, joka on saanut riittävän koulutuksen Aptima HCV Quant Dx Assay -analyysin käytöstä ja mahdollisesti infektiovaarallisten materiaalien käsittelystä. Jos tapahtuu vuoto, on suoritettava heti desinfiointi asianmukaisten tutkimuspaikan menettelyohjeiden mukaisesti.
- D. Käytä vain toimitettuja tai määritettyjä kertakäyttöisiä laboratoriotarvikkeita.
- E. Käytä tavallisia laboratoriota koskevia varotoimia. Älä koskaan pipetoi suun avulla. Älä syö tai juo mitään tai tupakoi määritetyillä työskentelyalueilla. Käytä kertakäyttöisiä, jauheettomia käsineitä, silmäsuojaimia ja laboratoriotakkeja näytteiden ja tarvikesarjan reagenssien käsittelyn aikana. Pese kädet perusteellisesti näytteiden ja tarvikesarjan reagenssien käsittelyn jälkeen.
- F. Työskentelypinnat, pipetit ja muut laitteet on desinfiointava säännöllisesti 2,5–3,5-prosenttisellä (0,35–0,5 M) natriumhypokloriittiliuoksella.
- G. Hävitä kaikki materiaalit, jotka ovat koskeneet näytteisiin ja reagensseihin, paikallisten ja kansallisten asetusten mukaisesti.^{15,16,17,18} Puhdista ja desinfioi kaikki työskentelypinnat huolellisesti.
- H. Verrokkit sisältävät natriumatsidia säilöntäaineena. Älä käytä metalliputkea reagenssin siirtoon. Jos natriumatsidiyhdisteitä sisältävät liuokset hävitetään viemäristöön, ne on

laimennettava ja huuhdeltava runsaalla määrällä juoksevaa vettä. Näitä varotoimia suositellaan, jottei metalliputkiin kerry jäämiä, joista voi kehittyä räjähdysvaarallisia.

- I. Molekyylilaboratorioiden hyvät peruskäytännöt sisältävät ympäristön valvonnan. Laboratorion ympäristön valvontaan suositellaan seuraavaa menettelytapaa:
 1. Hanki puuvillakärkinen vanupuikko ja liitä se Aptima Specimen Aliquot Tube (SAT) -näyteputkeen.
 2. Merkitse jokainen SAT-putki asianmukaisesti.
 3. Täytä jokainen SAT-putki 1 ml:lla Aptima Specimen Diluent -laimennusainetta.
 4. Kostuta vanupuikko kevyesti nukleaasittomalla deionisoidulla vedellä pintanäytteiden keruuta varten.
 5. Hankaa kohdepinta ylhäältä alaspäin suuntautuvalla liikkeellä. Pyöritä puikkoa noin puoli kierrosta kohdepinnan hankaamisen aikana.
 6. Aseta vanupuikkonäyte heti näyteputkeen ja pyöritä vanupuikkoa varoen laimennusaineessa mahdollisten vanuun tarttuneiden materiaalien saamiseksi pois siitä. Paina vanupuikko kuljetusputken sivulle, jotta siitä tulee mahdollisimman paljon nestettä. Heitä vanupuikko pois ja sulje putki korkilla.
 7. Toista vaiheet jäljellä oleville vanupuikkonäytteille.
 8. Testaa vanupuikko molekyylianalyysillä.

Näytteeseen liittyviä seikkoja

- J. Näytteet voivat olla tartuntavaarallisia. Käytä yleisiä varotoimia^{15,16,17} tämän analyysin suorittamisen aikana. Asianmukaiset käsittely- ja hävitysmenetelmät on määritettävä paikallisten asetusten mukaisesti.¹⁸ Tämän menetelmän saa suorittaa vain henkilöstö, joka on saanut riittävän koulutuksen Aptima HCV Quant Dx Assay -analyysin käytöstä ja infektiotaarallisten materiaalien käsittelystä.
- K. Pidä huolta, että näytteen kuljetuksen aikana säilytysolosuhteet ovat oikeanlaiset, jotta näyte säilyy kunnossa. Näytteen stabiiliutta muiden kuin suositeltujen toimitusolosuhteiden aikana ei ole arvioitu.
- L. Vältä ristikontaminaatiota näytteiden käsittelyn aikana. Ole erityisen varovainen, jottei aerosolien leviäminen aiheuta kontaminaatiota näytteiden irrottamisen tai putkien avaamisen aikana. Näytteet voivat sisältää erittäin suuria eliöpitoisuuksia. Varmista, että näytesäiliöt eivät koske toisiinsa, ja hävitä käytetyt materiaalit viemättä niitä avointen säiliöiden yli. Vaihda käsineet, jos ne koskevat näytteeseen.

Analyysiin liittyviä seikkoja

- M. Älä käytä reagenssitarvikesarjaa, kalibroijaa tai verrokkeja niiden viimeisen käyttöpäivän jälkeen.
- N. Älä vaihda, sekoita tai yhdistä analyysireagensseja tarvikesarjoista, joiden pääeränumerot eivät ole samoja. Analyysin nesteillä voi olla eri eränumerot. Verrokeilla ja kalibroijalla voi olla eri eränumerot.
- O. Vältä mikrobien ja nukleaasien aiheuttamaa reagenssien kontaminaatiota.
- P. Sulje kaikki analyysireagenssit ja säilytä niitä määritetyissä lämpötiloissa. Väärin säilytettyjen analyysireagenssien käyttö voi vaikuttaa analyysin suorittamiseen. Jos haluat lisätietoja, katso *Reagenssien säilytystä ja käsittelyä koskevat vaatimukset ja Panther-järjestelmän testausmenetelmä*.

- Q. Älä yhdistä mitään analyysireagensseja tai nesteitä ilman erillistä ohjetta. Älä täytä vajaita reagenssi- tai nestepulloja. Panther-järjestelmää varmistaa reagenssien määrät.

Reagenssien säilytystä ja käsittelyä koskevat vaatimukset

- A. Seuraavassa taulukossa esitetään säilytysolosuhteet sekä reagenssien, verrokkien ja kalibroijan stabiilius.

| Reagenssi | Avaamattomana säilytys | Avattu tarvikesarja (liuotettu) | |
|---|------------------------|---------------------------------|---|
| | | Säilytys | Stabiilius |
| qHCV Amplification Reagent | 2–8 °C | | |
| qHCV Amplification Reconstitution Solution | 2–8 °C | 2–8 °C | 30 päivää ^a |
| qHCV Enzyme Reagent | 2–8 °C | | |
| qHCV Enzyme Reconstitution Solution | 2–8 °C | 2–8 °C | 30 päivää ^a |
| qHCV Promoter Reagent | 2–8 °C | | |
| qHCV Promoter Reconstitution Solution | 2–8 °C | 2–8 °C | 30 päivää ^a |
| qHCV Target Capture Reagent | 2–8 °C | 2–8 °C | 30 päivää ^a |
| qHCV NC CONTROL – (negatiivinen verrokki) | -15–35 °C | 15–30 °C | Kertakäyttöinen injektiopullo käytettävä 24 tunnin kuluessa |
| qHCV LPC CONTROL + (heikko positiivinen verrokki) | -15–35 °C | 15–30 °C | Kertakäyttöinen injektiopullo käytettävä 24 tunnin kuluessa |
| qHCV HPC CONTROL + (voimakas positiivinen verrokki) | -15–35 °C | 15–30 °C | Kertakäyttöinen injektiopullo käytettävä 24 tunnin kuluessa |
| qHCV PCAL (positiivinen kalibroija) | -15–35 °C | 15–30 °C | Kertakäyttöinen injektiopullo käytettävä 24 tunnin kuluessa |

^a Kun reagenssit poistetaan Panther-järjestelmästä, ne on palautettava heti asianmukaisiin säilytyslämpötiloihinsa.

- B. Hävitä kaikki käyttämättömät liuotetut reagenssit ja kohteen sieppausreagenssi (Target Capture Reagent, TCR) 30 päivän kuluttua tai kun pääerän viimeinen käyttöpäivä on umpeutunut, kumpi tapahtuukin ennemmin.
- C. Panther-järjestelmässä säilytettyjen reagenssien stabiiliusaika on 72 tuntia. Reagenssit voidaan lisätä Panther-järjestelmään enintään viisi kertaa. Panther-järjestelmä kirjaa lokiin jokaisen reagenssien lisäykerran.
- D. Kalibroijan sulattamisen jälkeen liuoksen on oltava kirkasta, eli se ei saa olla utuista eikä siinä saa olla sakkaa.
- ⚠ E. Promootterireagenssi ja liuotettu promootterireagenssi ovat valonarkoja. Suojaa nämä reagenssit valolta säilytyksen ja käytön valmistelun aikana.

Näytteiden keruu ja säilytys

Huomautus: Käsittele kaikki näytteitä aivan kuin ne sisältäisivät mahdollisesti tartuntavaarallisia aineita. Käytä yleisiä varotoimia.

Huomautus: Vältä ristikontaminaatiota näytteiden käsittelyn aikana. Hävitä esim. käytetyt materiaalit viemättä niitä avoimien putkien yli.

Seuraaviin lasi- tai muoviputkiin kerättyjä kokoverinäytteitä voidaan käyttää:

- etyleenidiamiinitetraetikkahappoa (EDTA) tai hapositraattidekstroosi (ACD) - antikoagulantteja sisältävät putket tai
- plasman valmistusputket (PPT)
- seerumiputket
- seerumin erotusputket (SST).

Anna seerumin hyytyä ennen seerumin lisäkäsittelyä.

A. Näytteenotto

Kokoveri voidaan säilyttää 2–30 °C:ssa, ja se on sentrifugoitava 6 tunnin kuluessa näytteenotosta. Erot plasma tai seerumi pelletöidyistä punasoluista käytettävän putken valmistajan ohjeiden mukaisesti. Plasma tai seerumi voidaan testata Panther-järjestelmässä ensisijaisessa putkessa tai siirtää toissijaiseen Aptima Specimen Aliquot Tube (SAT) -näyteputkeen. Seerumin tai plasman vähimmäistilavuus ensisijaisissa keruuputkissa on 1 200 µl ja SAT-putkien tapauksessa 700 µl; vähimmäistilavuuksien avulla saadan 500 µl:n reaktiutilavuus.

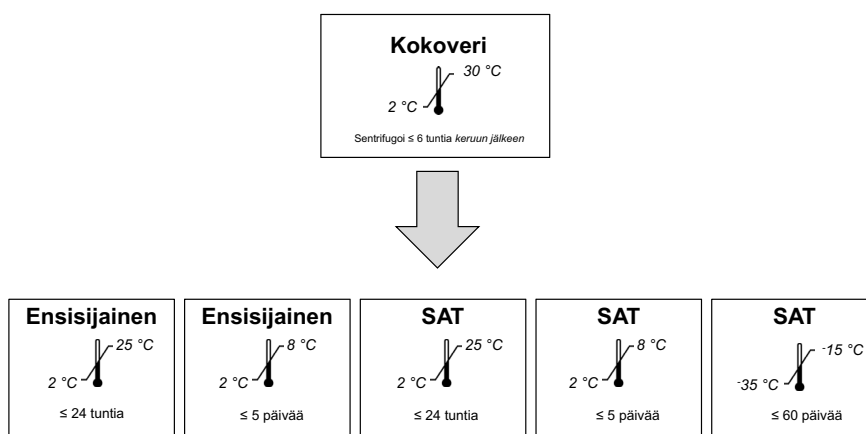
Jos plasmaa ja seerumia ei testata heti, niitä voidaan säilyttää alla esitettyjen ohjeiden mukaisesti. Jos plasma tai seerumi siirretään SAT-putkeen, se voidaan jäädyttää -20 °C:seen. Älä tee useampaa kuin kolmea jäädytys-sulatuskäsittelyä. Älä jäädytä näytteitä EDTA-, ACD- tai seerumin ensisijaisissa keruuputkissa.

B. Näytteiden säilytysolosuhteet

1. EDTA- ja ACD-plasmanäytteet

Kokoveri voidaan säilyttää 2–30 °C:ssa, ja se on sentrifugoitava 6 tunnin kuluessa näytteenotosta. Plasmaa voidaan sen jälkeen säilyttää jossain seuraavista olosuhteista:

- ensisijaisessa keruuputkessa tai SAT-putkessa 2–25 °C:ssa enintään 24 tunnin ajan,
- ensisijaisessa keruuputkessa tai SAT-putkessa 2–8 °C:ssa enintään 5 päivän ajan
- SAT-putkessa -20 °C:ssa enintään 60 päivän ajan.

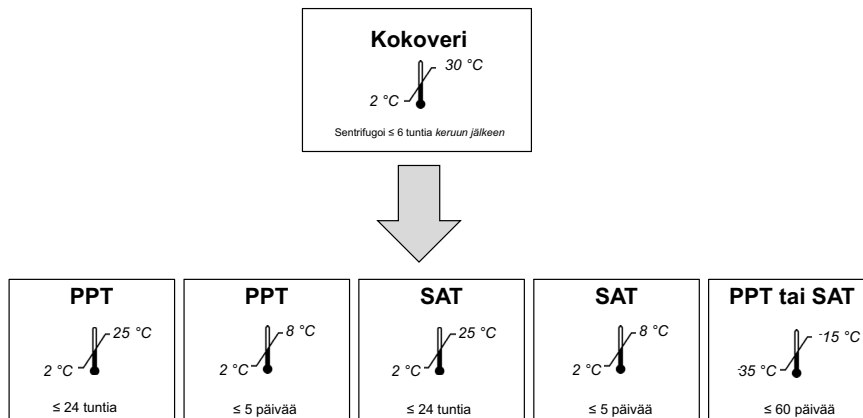


Kuva 1. EDTA- ja ACD-putkien säilytysolosuhteet

2. PPT-näytteet

Kokoveri voidaan säilyttää 2–30 °C:ssa, ja se on sentrifugoitava 6 tunnin kuluessa näytteenotosta. Plasmaa voidaan sen jälkeen säilyttää jossain seuraavista olosuhteista:

- ensisijaisessa keruuputkessa tai SAT-putkessa 2–25 °C:ssa enintään 24 tunnin ajan,
- ensisijaisessa keruuputkessa tai SAT-putkessa 2–8 °C:ssa enintään 5 päivän ajan
- ensisijaisessa keruuputkessa tai SAT-putkessa -20 °C:ssa enintään 60 päivän ajan.

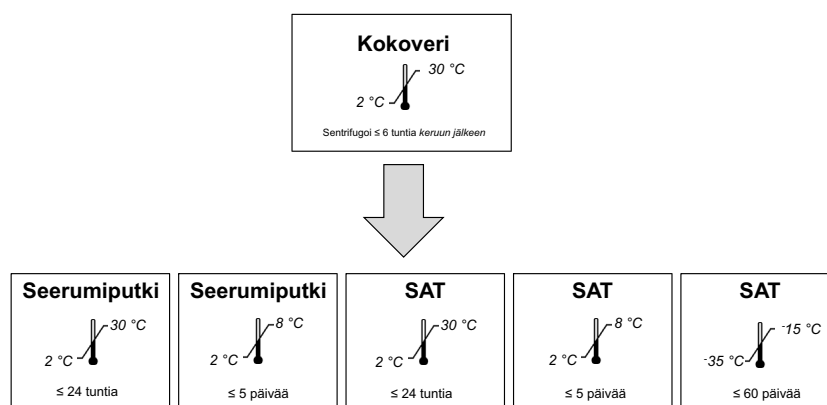


Kuva 2. PPT-putkien säilytysolosuhteet

3. Seerumiputkien näytteet

Kokoveri voidaan säilyttää 2–30 °C:ssa, ja se on sentrifugoitava 6 tunnin kuluessa näytteenotosta. Seerumia voidaan sen jälkeen säilyttää jossain seuraavista olosuhteista:

- ensisijaisessa keruuputkessa tai SAT-putkessa 2–30 °C:ssa enintään 24 tunnin ajan,
- ensisijaisessa keruuputkessa tai SAT-putkessa 2–8 °C:ssa enintään 5 päivän ajan
- SAT-putkessa -20 °C:ssa enintään 60 päivän ajan.

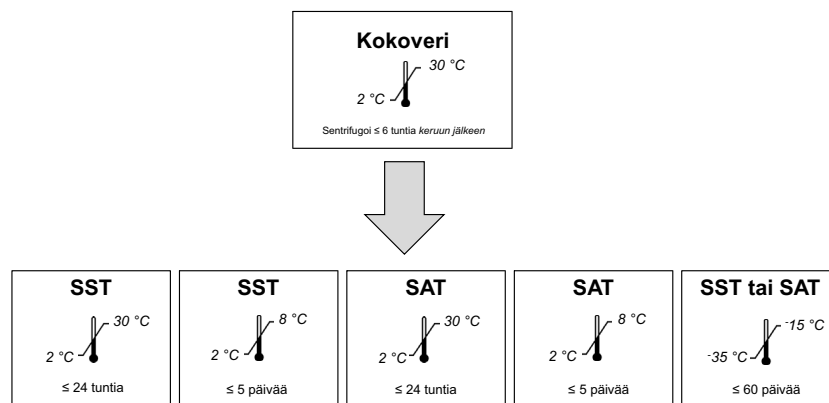


Kuva 3. Seerumiputkien säilytysolosuhteet

4. SST-näytteet

Kokoveri voidaan säilyttää 2–30 °C:ssa, ja se on sentrifugoitava 6 tunnin kuluessa näytteenotosta. Seerumia voidaan sen jälkeen säilyttää jossain seuraavista olosuhteista:

- ensisijaisessa keruuputkessa tai SAT-putkessa 2–30 °C:ssa enintään 24 tunnin ajan,
- ensisijaisessa keruuputkessa tai SAT-putkessa 2–8 °C:ssa enintään 5 päivän ajan
- ensisijaisessa keruuputkessa tai SAT-putkessa -20 °C:ssa enintään 60 päivän ajan.



Kuva 4. SST-putkien säilytysolosuhteet

C. Pitkäaikainen säilytys jäädytettynä

Plasma- tai seeruminäytteitä voidaan säilyttää -70 °C:ssa enintään 60 päivän ajan SAT-putkissa.

D. Plasma- ja seeruminäytteiden laimentaminen

Plasma- ja seeruminäytteet voidaan laimentaa SAT-putkessa Panther-järjestelmässä testausta varten. Katso lisätietoja alta kohdasta *Panther-järjestelmän testausmenetelmä*, vaihe E.6.

⚠ *Plasma- ja seeruminäytteiden laimennosta saa käyttää vain kvantitatiivisten tulosten saamista varten. Älä laimenna plasma- tai seeruminäytteitä diagnostisten tulosten saamista varten.*

Huomautus: Jos näyte laimennetaan, se on testattava heti laimentamisen jälkeen. Älä jäädytä laimennettua näytettä.

Panther-järjestelmässä säilytetyt reagenssit

Näytteet voidaan jättää Panther-järjestelmään ilman korkkia enintään 8 tunnin ajaksi. Näytteet voidaan poistaa Panther-järjestelmästä ja testata, kunhan kokonaissäilytysaika järjestelmässä ei ylitä 8 tuntia, ennen kuin Panther-järjestelmä pipetoi näytteen.

Näytteen kuljetus

Pidä näytteen säilytysolosuhteet kohdassa *Näytteiden keruu ja säilytys* kuvatuina.

Huomautus: *Näytteet on kuljetettava soveltuvien kansallisten, kansainvälisten ja alueellisten kuljetussäännösten mukaisesti.*

Panther-järjestelmä

Aptima HCV Quant Dx Assay -analyysin reagenssit luetellaan alla Panther-järjestelmää varten. Reagenssin yksilöintimerkinnot luetellaan myös reagenssin nimen vieressä.

Toimitetut reagenssit ja materiaalit

Huomautus: jos haluat tietoja kaikista vaara- ja varotoimilausekkeista, jotka saattavat liittyä reagenssiin, tutustu käyttöturvallisuustiedotekirjastoon verkko-osoitteessa www.hologic.com/sds.

Aptima HCV Quant Dx Assay Kit -tarvikesarja, 100 testiä, tuotenro PRD-03506

(1 analyysilaatikko, 1 kalibroijatarvikesarja ja 1 verrokkitarvikesarja)

Kalibroijat ja verrokkit voidaan tilata erikseen. Katso alla olevat vastaavat tuotenumerot.

Aptima HCV Quant Dx Assay -laatikko

(säilytä 2–8 °C:ssa vastaanoton jälkeen)

| Merkintä | Ainesosa | Määrä |
|----------|---|-----------------|
| A | qHCV Amplification Reagent <i>Ei-infektiivat nukleiinihapot puskuriliuokseen kuivattuina.</i> | 1 injektiopullo |
| E | qHCV Enzyme Reagent <i>Käänteistranskriptaasi ja RNA-polymeraasi kuivattuina HEPES-puskuroidussa liuoksessa.</i> | 1 injektiopullo |
| PRO | qHCV Promoter Reagent <i>Ei-infektiivat nukleiinihapot puskuriliuokseen kuivattuina.</i> | 1 injektiopullo |
| AR | qHCV Amplification Reconstitution Solution <i>Vesiliuos, joka sisältää glyserolia ja säilöntäaineita.</i> | 1 x 7,2 ml |
| ER | qHCV Enzyme Reconstitution Solution <i>HEPES-puskuroitu liuos, joka sisältää pinta-aktiivista ainetta ja glyserolia.</i> | 1 x 5,8 ml |
| PROR | qHCV Promoter Reconstitution Solution <i>Vesiliuos, joka sisältää glyserolia ja säilöntäaineita.</i> | 1 x 4,5 ml |
| TCR | qHCV Target Capture Reagent <i>Nukleiinihapot puskuroidussa suolaliuoksessa, joka sisältää kiinteän faasin ei-infektiivat nukleiinihappoja ja sisäistä kalibroijaa.</i> | 1 x 72,0 ml |
| | Liutuskaulukset | 3 |
| | Pääerän viivakoodiarkki | 1 arkki |

Aptima HCV Quant Dx Calibrator Kit (tuotenro PRD-03507)
(säilytä -15–35 °C:ssa vastaanoton jälkeen)

| Merkintä | Ainesosa | Määrä |
|----------|---|------------|
| PCAL | qHCV Positive Calibrator <i>Transkripti puskuroidussa liuoksessa.</i> | 5 x 2,5 ml |
| | Kalibroijan viivakooditarra | – |

Aptima HCV Quant Dx Controls Kit (tuotenro PRD-03508)
(säilytä -15–35 °C:ssa vastaanoton jälkeen)

| Merkintä | Ainesosa | Määrä |
|----------|--|------------|
| NC | qHCV Negative Control <i>HCV-negatiivinen defibrinoitu ihmisen plasma, joka sisältää gentamysiiniä ja 0,2-prosenttista natriumatsidia säilöntäaineina.</i> | 5 x 0,8 ml |
| LPC | qHCV Low Positive Control <i>Ei-infektoiva HCV:n Armored RNA defibrinoidussa ihmisen plasmassa, joka sisältää gentamysiiniä ja 0,2-prosenttista natriumatsidia säilöntäaineina.</i> | 5 x 0,8 ml |
| HPC | qHCV High Positive Control <i>Ei-infektoiva HCV:n Armored RNA defibrinoidussa ihmisen plasmassa, joka sisältää gentamysiiniä ja 0,2-prosenttista natriumatsidia säilöntäaineina.</i> | 5 x 0,8 ml |
| | Verrokin viivakooditarra | – |

Materiaalit, jotka tarvitaan mutta jotka ovat saatavissa erikseen

Huomautus: Hologilta saatavissa oleville materiaaleille on annettu tuotenumerot, ellei toisin ole määritetty.

| Materiaali | Tuotenro |
|--|--------------------------|
| Panther-järjestelmä | – |
| Panther Run Kit for Real Time Assay -analyysit (vain reaaliaikaiset analyysit) | PRD-03455 (5 000 testiä) |
| <i>Aptima Assay Fluids Kit (tunnetaan myös nimellä Universal Fluids Kit) sisältää Aptima Wash Solution -pesuliuosta, Aptima Buffer for Deactivation Fluid -puskuria ja Aptima Oil Reagent -öljyreagenssia</i> | 303014 (1 000 testiä) |
| <i>Moniputkiyksiköt</i> | 104772-02 |
| <i>Panther-jätepuskipakkaus</i> | 902731 |
| <i>Panther-jäteastian kansi</i> | 504405 |
| Vaihtoehtoisesti Panther Run Kit for Real Time Assays -tarvikesarja <i>(kun ajetaan ei-reaaliaikaisia TMA-analyysejä rinnan reaaliaikaisten TMA-analyysien kanssa) sisältää moniputkiyksiköitä, jätepusseja, jäteastian kansiä, automaattisen havaitsemisen ja analyysinesteitä</i> | 303096 (5 000 testiä) |
| Kärjet, 1 000 µl, johtava, nesteen tunnistava | 10612513 (Tecan) |
| Valkaisuaine, 5–7-prosenttinen (0,7–1,0 M) natriumhypokloriittiliuos | – |
| Kertakäyttöiset, jauheettomat käsineet | – |
| Vaihdettavat korkit, joita ei voi läpäistä | 103036A |
| Reagenssin vaihtokorkit | |
| <i>Monistus-, entsyymi-, promootterireagenssien liuotuspullot</i> | CL0041 (100 korkkia) |
| <i>TCR-pullo</i> | CL0040 (100 korkkia) |
| Muovitaustaiset laboratoripöydän suojuukset | – |
| Nukkaamattomat liinat | – |
| Pipetoija | – |
| Kärjet | – |
| Käytettävien ensisijaisten keruuputkien on oltava mitoiltaan seuraavanlaisia: | – |
| <i>13 mm x 100 mm</i> | |
| <i>13 mm x 75 mm</i> | |
| <i>16 mm x 100 mm</i> | |
| Sentrifugi | – |
| Vortex-sekoitin | – |

Valinnaiset materiaalit

| Materiaali | Tuotenro |
|---|-----------|
| Aptima Specimen Aliquot Tube (SAT) -putket (100 kpl:n pakkaus) | 503762 |
| Kuljetusputken korkki (100 kpl:n pakkaus) <i>korkki SAT-putkea varten</i> | 504415 |
| Aptima Specimen Diluent -laimennin | PRD-03003 |
| Aptima Specimen Diluent Kit <i>sisältää näytteen laimennusaineen, 100 SAT-putkea ja 100 korkkia</i> | PRD-03478 |
| Siirtopipetit | – |
| Kaupallisesti saatavissa olevat testisarjat, esim. <i>HCV, joka on saatu Quality Control for Molecular Diagnosticsilta (QCMD), tai SeraCare ACCURUN -HCV-testisarjat</i> | – |
| Vanukärkiset puikot | – |
| Putkiravistelijä | – |

Panther-järjestelmän testausmenetelmä

Huomautus: Katso tarkemmat tiedot menetelmästä Panther-järjestelmän käyttöoppaasta.

A. Työskentelyalueen valmistelu

- Puhdista työskentelypinnat, joissa reagenssit valmistetaan. Pyyhi työskentelypinnat 2,5–3,5-prosenttisella (0,35–0,5 M) natriumhypokloriittiliuoksella. Anna natriumhypokloriittiliuoksen koskea pintoihin vähintään 1 minuutin ajan ja tee sitten huuhtelu deionisoidulla vedellä. Älä anna natriumhypokloriittiliuoksen kuivua. Peitä pöytäpinta puhtailla, muovitaustaisilla imukykyisillä työpöytäpeitteillä.
- Puhdista erillinen työskentelypinta, jossa näytteet valmistellaan. Käytä edellä kuvattua menettelyä (vaihe A.1).
- Puhdista pipetoijat. Käytä edellä kuvattua puhdistusmenettelyä (vaihe A.1).

B. Kalibroijan ja verrokkien valmistus

Anna kalibroijan ja verrokkien lämpötilan nousta 15–30 °C:seen ennen käsittelyä toimimalla seuraavasti:

- Poista kalibroija ja verrokkit säilytyksestä (-15– -35 °C) ja tuo ne 15–30 °C:n lämpötilaan. Käännä jokaista putkea koko sulatusprosessin ajan, jotta ne sekoittuvat kunnolla. Varmista, että putken sisältö sulaa kokonaan ennen käyttöä.

Vaihtoehdo: Kalibroija- ja verrokiputket voidaan asettaa putkiravistelijaan, jossa ne sekoitetaan kunnolla. Varmista, että putken sisältö sulaa kokonaan ennen käyttöä.

Huomautus: Vältä liian voimakasta vaahdonkehitystä kääntäessäsi kalibroijaa ja verrokkeja. Vahto estää Panther-järjestelmän pinnantason havainnoinnin toiminnan.

- Kun putken sisältö on sulanut, kuivaa putken ulkopinta puhtaalla, kuivalla, kertakäyttöisellä pyyhkeellä.
- Älä avaa putkia tässä vaiheessa, jotteivät ne kontaminoidu.

C. Reagenssin liuotus / uuden tarvikesarjan valmistus

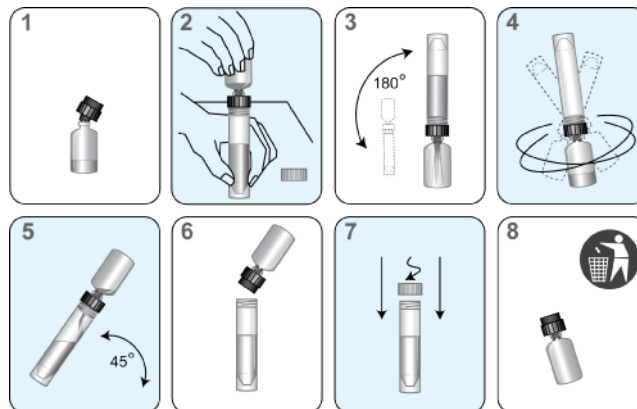
Huomautus: reagenssien liuotus on tehtävä ennen minkään töiden aloittamista Panther-järjestelmälle.

1. Toimi seuraavasti Target Capture Reagent (TCR) -reagenssin suorittamista varten:
 - a. Poista TCR säilytyksestä (2–8 °C). Tarkista TCR-pullon eränumero ja varmista, että se vastaa pääerän viivakoodiarkin eränumeroa.
 - b. Ravistele TCR-pulloa heti voimakkaasti 10 kertaa. Anna TCR-pullon jäädä 15–30 °C:seen lämpenemään vähintään 45 minuutin ajaksi. Ravistele ja kääntele tänä aikana TCR-pulloa vähintään 10 minuutin välein.

Vaihtoehto: TCR-pullo voidaan valmistella putkiravistelijassa seuraavien ohjeiden mukaisesti: Poista TCR säilytyksestä (2–8 °C) ja ravistele sitä heti voimakkaasti 10 kertaa. Aseta TCR-pullo putkiravisteliijaan ja jätä TCR 15–30 °C:seen lämpenemään vähintään 45 minuutin ajaksi.
 - c. Varmista, että kaikki sakka on liuoksessa ja magneettihiukkaset on suspendoitu ennen käyttöä.
2. Tee monistus-, entsyymi- ja promootterireagenssien liuotus seuraavalla tavalla:
 - a. Poista kylmäkuivatut reagenssit ja vastaavat liuotusliuokset säilytyksestä (2–8 °C). Käytä jokaista liuotusliuosta kylmäkuivatun reagenssinsa kanssa.
 - b. Varmista, että liuotusliuoksella ja kylmäkuivatulla reagenssilla on täsmäivät tarran värit. Tarkista pääerän viivakoodiarkin eränumerot ja varmista, että käytät yhdessä asianmukaisia reagensseja.
 - i. Avaa kylmäkuivattu reagenssipullo poistamalla metallitiiviste ja kumitulppa.
 - ii. Aseta liuotuskaulus (musta) urallinen pää injektiopulloon (Kuva 5, vaihe 1).
 - iii. Avaa täsmävä liuotusliuospullo ja aseta korkki puhtaalle, peitetylle työskentelypinnalle.
 - iv. Aseta liuotusliuospullo vakaalle pinnalle (eli pöydälle). Käännä sen jälkeen kylmäkuivattua reagenssia sisältävä pullo liuotusliuospullon päälle ja kiinnitä kaulus lujasti liuotusliuospulloon (Kuva 5, vaihe 2).
 - v. Käännä kootut pullot hitaasti (injektiopullo kiinnitettynä liuospulloon), jotta liuos pääsee valumaan lasiseen injektiopulloon (Kuva 5, vaihe 3).
 - vi. Ota kootut pullot ja ravistele koottuja pulloja vähintään 10 sekunnin ajan (Kuva 5, vaihe 4).
 - vii. Odota vähintään 30 minuuttia, jota kylmäkuivattu reagenssi valuu liuokseen.
 - viii. Kun kylmäkuivattu reagenssi on valunut liuokseen, sekoita koottuja pulloja vähintään 10 sekunnin ajan ja ravistele sitten liuosta kevyesti lasisessa injektiopullossa edestakaisin, jotta se sekoittuu kunnolla.
 - c. Kallista koottuja pulloja hitaasti uudelleen, jotta kaikki liuos pääsee valumaan takaisin liuotusliuospulloon (Kuva 5, vaihe 5).
 - d. Ota liuotuskaulus ja lasinen injektiopullo varovasti pois (Kuva 5, vaihe 6).
 - e. Laita korkki takaisin pulloon. Merkitse käyttäjän alkukirjaimet ja liuotuspäivä tarraan (Kuva 5, vaihe 7).

f. Hävitä liuotuskaulus ja lasinen injektiopullo (Kuva 5, vaihe 8).

Varoitus: Vältä liian voimakasta vaahdonkehitystä liuottaessasi reagensseja. Vaahto estää Panther-järjestelmän pinnantason havainnoinnin toiminnan.



Kuva 5. Reagenssin liuotusprosessi

D. Reagenssin valmistus aiemmin valmistettuja reagensseja varten

1. Ota aiemmin valmistetut reagenssit pois säilytyksestä (2–8 °C).
2. Ennalta valmistettujen monistus-, entsyymi-, promootteri- ja TCR-reagenssien lämpötilan on nouseva 15–30 °C:seen ennen analyysin aloittamista.
3. Ennalta valmistetun TCR:n tapauksessa suorita edellä kuvattu vaihe C.1 ennen järjestelmään lisäämistä.
4. Sekoita ja kääntele monistus-, entsyymi-, promootteri- ja TCR-reagensseja, jotta ne sekoittuvat kunnolla, ennen kuin lisäät ne järjestelmään. Vältä liian voimakasta vaahdonkehitystä käännellessäsi reagensseja.
5. Älä täytä vajaita reagenssipulloja. Panther System -järjestelmä tunnistaa ja hylkää liian täydet pullot.

E. Näytteiden käsittely

1. Varmista, että jäädytetyt näytteet on sulatettu kunnolla. Sekoita sulatettuja näytteitä vortex-sekoittimella 3–5 sekunnin ajan, jotta ne sekoittuvat kunnolla.
2. Anna näytteiden lämpötilan nousta 15–30 °C:seen ennen käsittelyä. Katso kohdasta *Panther-järjestelmässä säilytetyt reagenssit* lisätietoja järjestelmässä säilytyksestä.
3. Varmista, että jokainen ensisijainen keruuputki sisältää vähintään 1 200 µl näytettä. Varmista, että jokainen Aptima Specimen Aliquot Tube (SAT) -näyteputki sisältää vähintään 700 µl näytettä. Jos näytteen laimennus on tarpeen, katso lisätietoja alta vaiheesta E.6.
4. Sekoita vortex-sekoittimella näytteitä SAT-putkissa 3–5 sekunnin ajan, jotta ne sekoittuvat kunnolla.
5. Sentrifugoi jokaista näytettä 1 000–3 000 g:n kiihtyvyydellä 10 minuutin ajan juuri ennen näytteiden asettamista näytetelineeseen. Älä poista korkkeja. Putkessa olevat kuplat estävät Panther-järjestelmän pinnantason havainnoinnin toiminnan.

Katso alta kohdasta *Järjestelmän valmistelu*, vaihe F.2 lisätietoja telineeseen asettamisesta ja korkkien poistamisesta.

6. SAT-putkissa olevan plasma- tai seeruminäytteen laimentaminen

Näyte voidaan laimentaa SAT-putkessa Panther-järjestelmässä testausta varten.

- ⚠ Näytteiden laimennosta saa käyttää vain kvantitatiivisten tulosten saamista varten. Älä laimenna näytteitä diagnostisten tulosten saamista varten.

Huomautus: Jos näyte laimennetaan, se on testattava heti laimentamisen jälkeen.

a. Pienien näytteiden laimentaminen

Näytteiden tilavuus voidaan kasvattaa pienimpään sallittuun tilavuuteen (700 µl) Aptima Specimen Diluent -laimentimella. Näytteet, joiden tilavuus on vähintään 240 µl, voidaan laimentaa kahteen osaan näytteen laimenninta (1:3) seuraavasti:

- i. Aseta 240 µl näytettä SAT-putkeen.
- ii. Lisää 480 µl näytteen laimenninta.
- iii. Sulje putki korkilla.
- iv. Kääntelee putkea kevyesti viisi kertaa, jotta se sekoittuu.

Suhteessa 1:3 laimennetut näytteet voidaan testata käyttämällä Panther-järjestelmän 1:3-asetusta (katso tarkempia tietoja *Panther-järjestelmän käyttöoppaasta*). Ohjelmisto ilmoittaa automaattisesti sekoittamattoman tuloksen laimennuskerrointa käyttämällä. Nämä näytteet merkitään laimennetuiksi näytteiksi.

b. Väkevien näytteiden laimentaminen

Jos näytteen tulos ylittää kvantitoinnin ylärajan, se voidaan laimentaa 99 osaan Aptima Specimen Diluent -laimenninta (1:100) seuraavasti:

- i. Aseta 30 µl näytettä SAT-putkeen.
- ii. Lisää 2 970 µl näytteen laimenninta.
- iii. Sulje putki korkilla.
- iv. Kääntelee putkea kevyesti viisi kertaa, jotta se sekoittuu.

Suhteessa 1:100 laimennetut näytteet voidaan testata käyttämällä Panther-järjestelmän 1:100-asetusta (katso tarkempia tietoja *Panther-järjestelmän käyttöoppaasta*). Ohjelmisto ilmoittaa automaattisesti sekoittamattoman tuloksen laimennuskerrointa käyttämällä. Nämä näytteet merkitään laimennetuiksi näytteiksi.

Huomautus: Laimennetuille näytteille, joiden sekoittamattomat pitoisuudet ylittävät ULOQ-arvon, tulokset ilmoitetaan tieteellistä viittausta käyttämällä.

F. Järjestelmän valmistelu

1. Valmistele järjestelmä *Panther-järjestelmän käyttöoppaan* ja kohdan *Menetelmää koskevia huomautuksia ohjeiden mukaisesti*. Varmista, että käytetyt reagenssitelineet ja TCR-sovittimet ovat sopivankokoisia.
2. Lisää näytteet näytetelineeseen. Suorita seuraavat vaiheet jokaiselle näyteputkelle (näyte ja tarvittaessa kalibroija ja verrokki):

- a. Avaa yhden näyteputken korkki, mutta älä ota sitä vielä pois.

Huomautus: Ole erityisen varovainen, jottei aerosolien leviäminen aiheuta kontaminaatiota. Avaa näytteiden korkit varovasti.

- b. Aseta näyteputki näytetelineeseen.
- c. Toista vaiheet 2.a ja 2.b kaikille jäljellä oleville näytteille.

- d. Kun näytteet on asetettu näytetelineeseen, ota jokainen näyteputken korkki pois ja laita ne yhteen näytetelineeseen. Kontaminaation välttämiseksi älä vie korkkia minkään muun näytetelineen tai näyteputken yli.
- e. Käytä tarvittaessa uutta, kertakäyttöistä siirtopipettiä mahdollisten kuplien tai vaahdon poistamiseen.
- f. Kun viimeinen korkki on poistettu, aseta näyteteline näytelokeroon.
Huomautus: Jos ajat samaan aikaan muita analyysejä ja näytetyyppejä, kiinnitä näytteenpidin ennen näytetelineen asettamista näytelokeroon.
- g. Toista vaiheet 2.a ja 2.f seuraavalle näytetelineelle.

Menetelmää koskevia huomautuksia

A. Kalibroija ja verrokkit

1. qHCV-positiivinen kalibroijan, qHCV:n alarajan positiivisen verrokin, qHCV:n ylärajan positiivisen verrokin ja qHCV-negatiivisten verrokkien putket voidaan asettaa mihin tahansa paikkaan näytetelineeseen ja mille tahansa Panther-järjestelmän näytelokeron kaistalle. Näytteiden pipetointi aloitetaan, kun toinen seuraavista kahdesta ehdosta on täytetty:
 - a. Kalibroija ja verrokkit ovat tällä hetkellä järjestelmän käsiteltävinä.
 - b. Kalibroijan ja verrokkien kelvolliset tulokset rekisteröidään järjestelmään.
2. Kun kalibroija- ja verrokkiputket on pipetoitu ja niitä käsitellään Aptima HCV Quant Dx Assay -analyysireagenssarjan kanssa, näytteet voidaan testata asiaankuuluvien, liuotettujen tarvikesarjojen kanssa enintään 24 tunnin ajan, **jos**
 - a. kalibroijan tulos tai verrokkitulokset eivät ole virheellisiä
 - b. asiaankuuluvaa analyysireagenssarjaa ei ole poistettu järjestelmästä
 - c. asiaankuuluvan analyysireagenssarjan säilyvyysaika ei ole ylittynyt.
3. Kalibroija- ja jokaista verrokkiputkea voidaan käyttää vain kerran. Jos putkea yritetään käyttää useammin kuin kerran, käsittelyssä voi tapahtua virhe.

B. Käsineiden jauhe

Kuten kaikkien reagenssijärjestelmien tapauksessa, tiettyjen käsineiden liian suuret jauhemäärät voivat aiheuttaa avattujen putkien kontaminoitumisen. Siksi suosittelemme jauheettomia käsineitä.

Laaduntarkistus

Käyttäjä saattaa pilata ajon tai näytteen tuloksen, jos analyysin suorituksen aikana ilmenee teknisiä, käyttäjään tai laitteeseen liittyviä ongelmia, jotka on dokumentoitava. Tässä tapauksessa näytteet on testattava uudelleen.

Analyysin kalibrointi

Analyysi on kalibroitava, jotta voidaan saada kelvollisia tuloksia. Yksi positiivinen kalibroija ajetaan kolmesti joka kerta, kun reagenssisarja asetetaan Panther-järjestelmään. Kun kalibrointi on tehty, se on voimassa enintään 24 tunnin ajan. Panther-järjestelmän ohjelmisto kertoo käyttäjälle, milloin kalibrointi on tarpeen. Käyttäjä lukee jokaisen reagenssisarjan mukana toimitetusta pääerän viivakoodiarkista kalibrointikertoimen.

Käsittelyn aikana Panther-järjestelmän ohjelmisto tarkistaa automaattisesti kalibroijan hyväksyntäehdot. Jos alle kaksi kalibroijan ajoista on kelvollisia, ohjelmisto hylkää ajon automaattisesti. Virheelliseksi määritetyn ajon näytteet on testattava uudelleen käyttämällä juuri valmistettua kalibroijaa ja juuri valmistettuja verrokkeja.

Negatiiviset ja positiiviset verrokkit

Analyysin verrokkien sarja on testattava, jotta voidaan saada kelvollisia tuloksia. Negatiivisen verrokin, alarajan positiivisen verrokin ja ylärajan positiivisen verrokin yksi ajo on testattava joka kerta, kun reagenssisarja asetetaan Panther-järjestelmään. Kun testaus on tehty, verrokkeja voi käyttää enintään 24 tunnin ajan. Panther-järjestelmän ohjelmisto kertoo käyttäjälle, milloin verrokkeja tarvitaan.

Käsittelyn aikana Panther-järjestelmän ohjelmisto tarkistaa automaattisesti verrokkien hyväksyntäehdot. Jotta tuloksista tulee kelvollisia, negatiivisen verrokin on annettava ” Ei havaittu” -tulos ja positiivisen verrokin tuloksen on oltava ennalta määritettyjen parametrien rajoissa. Jos jokin verrokeista saa epäkelvon tuloksen, ohjelmisto hylkää ajon automaattisesti. Virheelliseksi määritetyn ajon näytteet on testattava uudelleen käyttämällä juuri valmistettua kalibroijaa ja juuri valmistettuja verrokkeja.

Sisäinen kalibroija / sisäinen verrokki

Jokainen näyte sisältää sisäistä kalibroijaa / sisäistä verrokkia (IC). Käsittelyn aikana Panther-järjestelmän ohjelmisto tarkistaa automaattisesti IC-hyväksyntäehdot. Jos IC-tulos on epäkelpo, näytteen tulos hylätään. Jokainen epäkelvon IC-tuloksen saanut näyte on testattava uudelleen, jotta sille saadaan kelvollinen tulos.

Panther-järjestelmän ohjelmisto on suunniteltu tarkistamaan tarkasti prosessit, kun menetelmät tehdään tässä pakkausselosteessa ja *Panther-järjestelmän käyttöoppaassa* olevien ohjeiden mukaisesti.

Tulosten tulkitseminen

Panther-järjestelmä määrittää automaattisesti HCV:n RNA-pitoisuuden näytteistä ja verrokeista vertaamalla tuloksia kalibrointikäyrään. HCV:n RNA-pitoisuudet ilmoitetaan yksiköissä IU/ml ja \log_{10} IU/ml. Tulosten tulkinta esitetään kohdassa Taulukko 1. Jos laimennetuille näytteille käytetään 1:3- tai 1:100-laimennosta, Panther-järjestelmä laskee automaattisesti HCV-pitoisuuden sekoittamattomalle näytteelle kertomalla pitoisuustulokset laimennuskertoimella.

Huomautus: Laimennettujen näytteiden tapauksessa ”Ei havaittu”- tai ”< 10 havaittu” -ilmoitus voi aiheutua laimennettaessa näyte, jonka pitoisuus on yli mutta silti lähellä LOD (havaitsemisraja)- tai LLOQ (kvantitoinnin alaraja) -raja-arvoja. On suositeltavaa kerätä ja testata toinen sekoittaman näyte, jos kvantitatiivista tulosta ei saada.

Panther-järjestelmä ei anna kvalitatiivista tulosta (eli ”Reaktiivinen” tai ”Ei-reaktiivinen”) diagnostista käyttöä varten. Käyttäjän on tulkittava ilmoitettu HCV:n RNA-pitoisuus kvalitatiiviseksi tulokseksi (Taulukko 1). Näytteet, joiden tuloksena mainitaan ”Ei havaittu”, eivät reagoi HCV:n RNA:n suhteen. Näytteet, joiden tulokseksi on ilmoitettu ”< 10 havaittu” tuloksen ollessa lineaarisella alueella, ja > 100 000 000 (kvantitoinnin yläraja) -tulos ilmaisevat, että HCV:n RNA:ta havaittiin ja että näytteet reagoivat HCV:n RNA:n suhteen.

Taulukko 1: Tuloksen tulkitseminen

| Ilmoitettu Aptima HCV Quant Dx Assay -analyysin tulos | | HCV:n RNA-pitoisuuden tulkitseminen | Käyttäjän diagnostinen kvalitatiivinen tulkitseminen ^a |
|---|--------------------------------------|---|---|
| IU/ml | Log ₁₀ -arvo ^b | | |
| Ei havaittu | Ei havaittu | HCV:n RNA:ta ei havaittu. | Ei-reaktiivinen HCV:n RNA:n suhteen |
| < 10 havaittu | < 1,00 | HCV:n RNA havaitaan, mutta sen pitoisuus on alle LLOQ:n | Reaktiivinen HCV:n RNA:n suhteen |
| 10–100 000 000 | 1,00–8,00 | HCV:n RNA:n pitoisuus on lineaarisella alueella 10–100 000 000 IU/ml | Reaktiivinen HCV:n RNA:n suhteen |
| > 100 000 000 | > 8,00 | HCV:n RNA:n pitoisuus on yli ULOQ:n | Reaktiivinen HCV:n RNA:n suhteen |
| Epäkelpo ^c | Epäkelpo ^c | Tuloksen muodostuksessa tapahtui virhe. Näyte on testattava uudelleen | Epäkelpo |

^a Diagnostinen tulkinta voidaan tehdä joko seerumi- tai plasmanäytteistä, joita ei ole laimennettu.

^b Arvo tyypitetään kahteen desimaalipilkkuun.

^c Epäkelpot tulokset näytetään sinisellä kirjasinlajilla.

Rajoitukset

- A. Tätä analyysiä saavat käyttää vain toimenpiteen suorittamisesta opastusta saaneet henkilöt. Tässä pakkausselosteessa annettujen ohjeiden noudattamattomuus saattaa aiheuttaa virheellisiä tuloksia.
- B. Luotettavat tulokset määräytyvät riittävän näytteen keruun, kuljetuksen, säilytyksen ja käsittelyn mukaan.

Suorituskyky**Havaitsemisraja (Limit of Detection, LOD) käytettäessä WHO:n 2. kansainvälistä standardia**

Analyysin havaitsemisraja määritetään siksi HCV:n RNA-pitoisuudeksi, joka havaitaan 95 %:n tai suuremmalla todennäköisyydellä CLSI EP17-A2:n mukaisesti.¹⁹

LOD määritettiin testaamalla WHO:n toisen kansainvälisen hepatiitti C -viruksen RNA:n standardin (NIBSC 96/798 -genotyyppi 1) testisarjat laimennettuina HCV-negatiiviseen ihmisen plasmaan ja seerumiin. Jokaiselle laimennokselle testattiin 36 replikaattia jokaisella kolmesta reagenssierästä, jolloin saatiin vähintään 108 replikaattia laimennosta kohti. Probittianalyysi suoritettiin ennakoitujen havaitsemisrajojen luomiseksi. Kohdassa Taulukko 2 esitetyt LOD-arvot ovat tuloksia reagenssierästä, jolla on korkein ennakoitu havaitsemisraja. Aptima HCV Quant Dx Assay -analyysin LOD WHO:n toisen kansainvälisen standardin mukaisesti määritettynä on 4,3 IU/ml plasman osalta ja 3,9 IU/ml seerumin osalta.

Taulukko 2: Havaitsemisraja käytettäessä WHO:n 2. kansainvälistä standardia

| Ennakoitu havaitsemisraja | Pitoisuus (IU/ml) | |
|---------------------------|-------------------|---------|
| | Plasma | Seerumi |
| 10 % | 0,3 | 0,3 |
| 20 % | 0,4 | 0,5 |
| 30 % | 0,5 | 0,6 |
| 40 % | 0,7 | 0,8 |
| 50 % | 0,9 | 1,0 |
| 60 % | 1,1 | 1,2 |
| 70 % | 1,5 | 1,5 |
| 80 % | 2,0 | 2,0 |
| 90 % | 3,0 | 2,9 |
| 95 % | 4,3 | 3,9 |

Havaitsemisraja HCV-genotyyppien kesken

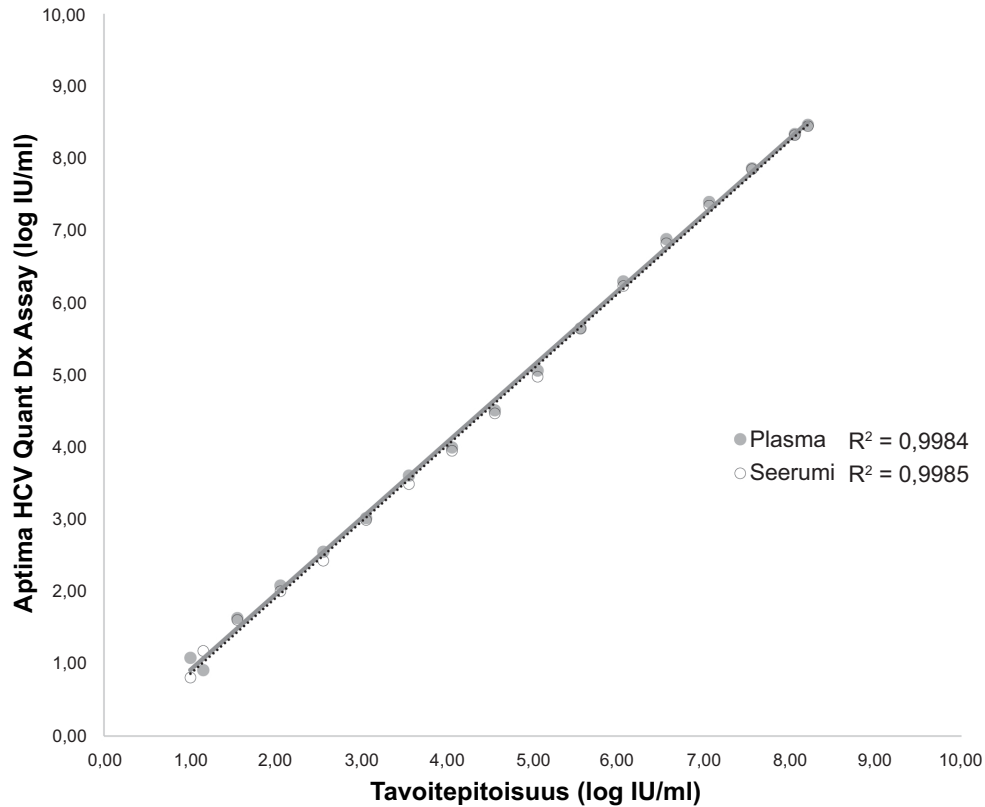
Havaitsemisraja (Limit of Detection, LOD) määritettiin testaamalla HCV-positiivisten kliinisten näytteiden laimennokset genotyypeille 1, 2, 3, 4, 5 ja 6 HCV-negatiivisessa ihmisen plasmasta ja seerumista. Pitoisuudet määritettiin käyttämällä CE-merkittyä vertailuanalyysiä. Jokaiselle testisarjan jäsenelle testattiin vähintään 20 replikaattia jokaisella kolmesta reagenssierästä, jolloin saatiin vähintään 60 replikaattia testisarjan jäsentä kohti. Probittianalyysi suoritettiin 50 %:n ja 95 %:n ennakoitujen havaitsemisrajojen luomiseksi. Kohdassa Taulukko 3 esitetyt LOD-arvot ovat tuloksia reagenssierästä, jolla on korkein ennakoitu havaitsemisraja.

Taulukko 3: Havaitsemisraja HCV-genotyyppien kesken käytettäessä kliinisiä näytteitä

| Genotyyppi | Ennakoitu havaitsemisraja | Pitoisuus (IU/ml) | |
|------------|---------------------------|-------------------|---------|
| | | Plasma | Seerumi |
| 1 | 50 % | 0,8 | 1,3 |
| | 95 % | 3,8 | 5,1 |
| 2 | 50 % | 1,0 | 1,1 |
| | 95 % | 2,8 | 4,0 |
| 3 | 50 % | 1,1 | 1,0 |
| | 95 % | 4,3 | 3,4 |
| 4 | 50 % | 1,3 | 0,7 |
| | 95 % | 4,8 | 2,3 |
| 5 | 50 % | 0,8 | 0,9 |
| | 95 % | 2,1 | 3,2 |
| 6 | 50 % | 0,6 | 0,9 |
| | 95 % | 3,9 | 3,9 |

Lineaarinen alue

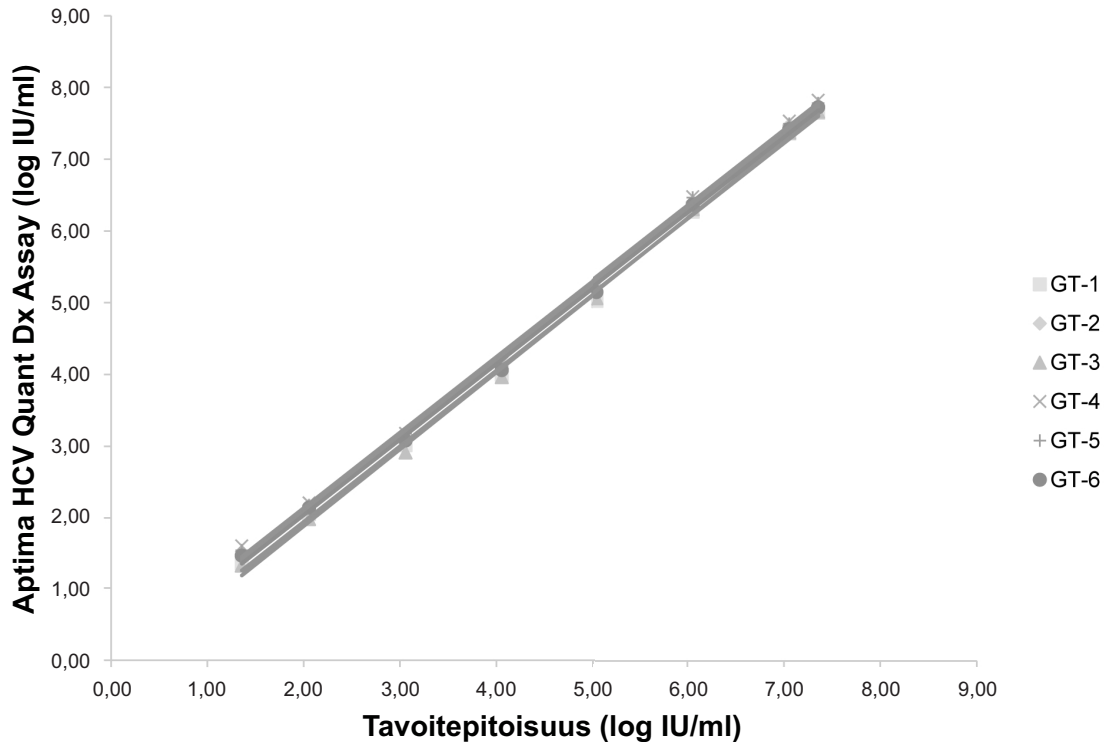
Lineaarinen alue määritettiin testaamalla testisarjat, jotka koostuivat HCV Armored RNA:sta laimennettuna HCV-negatiiviseen ihmisen plasmaan ja seerumiin CLSI EP06-A:n mukaisesti.²⁰ Testisarjojen pitoisuusalue oli 1,0–8,2 log IU/ml. Aptima HCV Quant Dx Assay -analyysi osoittautui lineaariseksi testatulla alueella, ja sen kvantitoinnin yläraja (Upper Limit of Quantitation, ULOQ) oli 8,0 log IU/ml, kuten kohdasta Kuva 6 nähdään.



Kuva 6. Lineaarisuus plasmassa ja seerumissa

Lineaarisuus HCV-genotyyppien kesken

Lineaarinen vaste genotyypeille 1, 2, 3, 4, 5 ja 6 vahvistettiin testaamalla testisarjat, joissa oli HCV-transkriptiä laimennettuna puskuriin pitoisuuksilla 1,36 log IU/ml - 7,36 log IU/ml. Testaus suoritettiin kolmella Panther-järjestelmällä käyttämällä kolmea reagenssierää. Lineaarisuus osoitettiin testatulla alueella kaikille testatuille genotyypeille, kuten kohdasta Kuva 7 nähdään.



Kuva 7. Lineaarisuus HCV-genotyyppien 1–6 kesken

Kvantitoinnin alaraja (Lower Limit of Quantitation) käytettäessä WHO:n 2. kansainvälistä standardia

Kvantitoinnin alaraja (LLOQ) määritetään alimmaksi pitoisuudeksi, jolla HCV:n RNA kvantitoidaan luotettavasti kokonaisvirheen rajoissa CLSI EP17-A2:n mukaisesti.¹⁹ Kokonaisvirhe arvioitiin kahdella menetelmällä: Analyysin kokonaisvirhe (Total Analytical Error, TAE) = poikkeama + 2 keskihajontaa; ja kokonaisvirhe (Total Error, TE) = neliöjuuri(2) x 2 keskihajontaa. Mittausten tarkkuuden ja täsmällisyyden varmistamista varten Aptima HCV Quant Dx Assay -analyysin kokonaisvirheeksi määritettiin 1 log IU/ml (eli LLOQ-rajalla kahden mittauksen välinen ero, joka on yli 1 log IU/ml, on tilastollisesti merkitsevä).

LLOQ määritettiin testaamalla WHO:n toisen kansainvälisen hepatiitti C -viruksen RNA:n standardin (NIBSC 96/798 -genotyyppi 1) testisarjat laimennettuina HCV-negatiiviseen ihmisen plasmaan ja seerumiin. Jokaiselle laimennokselle testattiin 36 replikaattia jokaisella kolmesta reagenssierästä, jolloin saatiin vähintään 108 replikaattia laimennosta kohti. Reagenssierän, jonka pitoisuus on suurin ja on yhtä suuri tai suurempi kuin havaitsemisraja (LOD) ja joka täyttää TE- ja TAE-vaatimukset, tulokset esitetään kohdassa Taulukko 4 plasmalle ja kohdassa Taulukko 5 seerumille. WHO:n toisen kansainvälisen standardin mukaisesti määritetty LLOQ on 7 IU/ml (0,82 log IU/ml) plasmalle ja 9 IU/ml (0,93 log IU/ml) seerumille, kuten kohtaan Taulukko 6 on koottu. LLOQ määritettiin genotyyppien kesken (ks. seuraava osa, "Kvantitoinnin alarajan (LLOQ) määrittäminen HCV-genotyyppien kesken"). Nämä genotyyppitiedot määrittävät analyysin kokonais-LLOQ:ksi 10 IU/ml.

Taulukko 4: LLOQ käytettäessä WHO:n 2. kansainvälistä standardia plasmaan laimennetulle HCV:lle

| Reagenssierä | Tavoitepitoisuus (IU/ml) | Tavoitepitoisuus (log IU/ml) | Aptima HCV Quant Dx (log IU/ml) | SD (log IU/ml) | Poikkeama (log IU/ml) | Laskettu TE (log IU/ml) | Laskettu TAE (log IU/ml) |
|--------------|-----------------------------|---------------------------------|---------------------------------------|-------------------|---------------------------|----------------------------|-----------------------------|
| 1 | 3 | 0,48 | 0,53 | 0,30 | 0,05 | 0,85 | 0,65 |
| | 6 | 0,78 | 0,73 | 0,31 | -0,04 | 0,88 | 0,67 |
| | 8 | 0,90 | 1,08 | 0,23 | 0,18 | 0,65 | 0,64 |
| 2 | 3 | 0,48 | 0,37 | 0,32 | -0,11 | 0,92 | 0,75 |
| | 6 | 0,78 | 0,82 | 0,27 | 0,04 | 0,78 | 0,59 |
| | 8 | 0,90 | 0,96 | 0,26 | 0,06 | 0,74 | 0,58 |
| 3 | 3 | 0,48 | 0,46 | 0,25 | -0,01 | 0,71 | 0,52 |
| | 6 | 0,78 | 0,76 | 0,34 | -0,02 | 0,95 | 0,69 |
| | 8 | 0,90 | 0,89 | 0,26 | -0,01 | 0,73 | 0,53 |

SD = keskihajonta

Taulukko 5: LLOQ käytettäessä WHO:n 2. kansainvälistä standardia seerumiin laimennetulle HCV:lle

| Reagenssierä | Tavoitepitoisuus (IU/ml) | Tavoitepitoisuus (log IU/ml) | Aptima HCV Quant Dx (log IU/ml) | SD (log IU/ml) | Poikkeama (log IU/ml) | Laskettu TE (log IU/ml) | Laskettu TAE (log IU/ml) |
|--------------|-----------------------------|---------------------------------|---------------------------------------|-------------------|--------------------------|----------------------------|-----------------------------|
| 1 | 3 | 0,48 | 0,65 | 0,33 | 0,17 | 0,94 | 0,84 |
| | 6 | 0,78 | 0,93 | 0,32 | 0,15 | 0,90 | 0,79 |
| | 8 | 0,90 | 1,08 | 0,28 | 0,18 | 0,80 | 0,74 |
| 2 | 3 | 0,48 | 0,52 | 0,36 | 0,04 | 1,02 | 0,76 |
| | 6 | 0,78 | 0,89 | 0,32 | 0,11 | 0,90 | 0,75 |
| | 8 | 0,90 | 1,01 | 0,21 | 0,11 | 0,60 | 0,53 |
| 3 | 3 | 0,48 | 0,47 | 0,39 | -0,01 | 1,11 | 0,79 |
| | 6 | 0,78 | 0,71 | 0,30 | -0,06 | 0,86 | 0,67 |
| | 8 | 0,90 | 0,95 | 0,29 | 0,05 | 0,83 | 0,63 |

SD = keskihajonta

Taulukko 6: LLOQ-arvojen yhteenveto käytettäessä WHO:n 2. kansainvälistä standardia HCV:lle

| Reagenssierä | Plasman LLOQ | | Seerumin LLOQ | |
|--------------|--------------|---------|---------------|---------|
| | (log IU/ml) | (IU/ml) | (log IU/ml) | (IU/ml) |
| 1 | 0,73 | 5 | 0,93 | 9 |
| 2 | 0,82 | 7 | 0,89 | 8 |
| 3 | 0,76 | 6 | 0,71 | 5 |

Kvantitoinnin alarajan (LLOQ) määrittäminen HCV-geotyyppien kesken

Kvantitoinnin alaraja (Lower Limit of Quantitation, LLOQ) määritettiin testaamalla HCV-positiivisten kliinisten näytteiden laimennokset geotyypeille 1, 2, 3, 4, 5 ja 6 HCV-negatiivisessa ihmisenplasmasta ja seerumista. Kliinisten näytteiden pitoisuuden määrittäminen tehtiin käyttämällä CE-merkittyä vertailuanalyysiä. Jokaiselle testisarjan jäsenelle testattiin vähintään 36 replikaattia jokaisella kolmesta reagenssierästä, jolloin saatiin vähintään 108 replikaattia testisarjan jäsentä kohti. Reagenssierän, jonka pitoisuus on suurin ja yhtä suuri tai suurempi kuin havaitsemisraja (LOD) ja joka täyttää TE- ja TAE-vaatimukset, tulokset esitetään Taulukko 7 plasmalle ja Taulukko 8 seerumille. Geotyyppien 1–6 LLOQ-arvo sekä plasman että seerumin osalta on koottu kohtaan Taulukko 9. Näin analyysin kokonais-LLOQ:ksi määritettiin 10 IU/ml.

Taulukko 7: LLOQ:n määrittäminen geotyyppien kesken plasmasta

| Geotyyppi | Tavoitepitoisuus | Tavoitepitoisuus | Aptima HCV Quant Dx | SD | Poikkeama | Laskettu TE | Laskettu TAE |
|-----------|------------------|------------------|---------------------|-------------|-------------|-------------|--------------|
| | (IU/ml) | (log IU/ml) | (log IU/ml) | (log IU/ml) | (log IU/ml) | (log IU/ml) | (log IU/ml) |
| 1 | 3 | 0,48 | 0,65 | 0,38 | 0,17 | 1,08 | 0,94 |
| | 6 | 0,78 | 0,88 | 0,35 | 0,11 | 1,00 | 0,82 |
| | 8 | 0,90 | 0,99 | 0,24 | 0,09 | 0,68 | 0,56 |
| 2 | 3 | 0,48 | 0,63 | 0,40 | 0,16 | 1,13 | 0,95 |
| | 4 | 0,60 | 0,76 | 0,29 | 0,15 | 0,81 | 0,73 |
| | 6 | 0,78 | 1,12 | 0,30 | 0,34 | 0,86 | 0,94 |
| 3 | 6 | 0,78 | 0,52 | 0,30 | -0,26 | 0,85 | 0,86 |
| | 10 | 1,00 | 0,80 | 0,21 | -0,20 | 0,59 | 0,62 |
| | 12 | 1,08 | 0,89 | 0,26 | -0,19 | 0,74 | 0,71 |
| 4 | 8 | 0,90 | 0,61 | 0,39 | -0,29 | 1,11 | 1,07 |
| | 10 | 1,00 | 0,82 | 0,31 | -0,18 | 0,87 | 0,80 |
| | 12 | 1,08 | 1,01 | 0,29 | -0,07 | 0,83 | 0,65 |
| 5 | 3 | 0,48 | 0,57 | 0,37 | 0,10 | 1,06 | 0,85 |
| | 6 | 0,78 | 0,87 | 0,31 | 0,09 | 0,89 | 0,72 |
| | 10 | 1,00 | 1,15 | 0,16 | 0,15 | 0,44 | 0,46 |
| 6 | 2 | 0,30 | 0,66 | 0,36 | 0,36 | 1,02 | 1,08 |
| | 3 | 0,48 | 0,79 | 0,28 | 0,31 | 0,80 | 0,87 |
| | 6 | 0,78 | 1,14 | 0,26 | 0,36 | 0,74 | 0,89 |

SD = keskihajonta

Taulukko 8: LLOQ:n määrittäminen genotyyppien kesken seerumista

| Genotyyppi | Tavoitepitoisuus | Tavoitepitoisuus | Aptima HCV Quant Dx | SD | Poikkeama | Laskettu TE | Laskettu TAE |
|------------|------------------|------------------|------------------------|-------------|-------------|-------------|--------------|
| | (IU/ml) | (log IU/ml) | (log IU/ml) | (log IU/ml) | (log IU/ml) | (log IU/ml) | (log IU/ml) |
| 1 | 6 | 0,78 | 0,75 | 0,36 | -0,03 | 1,02 | 0,75 |
| | 8 | 0,90 | 0,88 | 0,32 | -0,02 | 0,89 | 0,65 |
| | 10 | 1,00 | 1,04 | 0,29 | 0,04 | 0,81 | 0,61 |
| 2 | 3 | 0,48 | 0,48 | 0,35 | 0,00 | 0,99 | 0,70 |
| | 6 | 0,78 | 0,80 | 0,31 | 0,02 | 0,86 | 0,63 |
| | 10 | 1,00 | 1,04 | 0,25 | 0,04 | 0,72 | 0,54 |
| 3 | 6 | 0,78 | 0,45 | 0,25 | -0,33 | 0,72 | 0,84 |
| | 10 | 1,00 | 0,67 | 0,22 | -0,33 | 0,63 | 0,78 |
| | 12 | 1,08 | 0,92 | 0,19 | -0,16 | 0,54 | 0,54 |
| 4 | 1 | 0,00 | 0,19 | 0,27 | 0,19 | 0,77 | 0,73 |
| | 2 | 0,30 | 0,65 | 0,32 | 0,35 | 0,91 | 0,99 |
| | 3 | 0,48 | 0,65 | 0,34 | 0,17 | 0,96 | 0,85 |
| 5 | 3 | 0,46 | 0,48 | 0,37 | 0,02 | 1,04 | 0,76 |
| | 6 | 0,76 | 0,72 | 0,29 | -0,04 | 0,81 | 0,61 |
| | 9 | 0,94 | 1,04 | 0,27 | 0,10 | 0,77 | 0,65 |
| 6 | 3 | 0,48 | 0,58 | 0,37 | 0,11 | 1,04 | 0,84 |
| | 6 | 0,78 | 0,99 | 0,22 | 0,21 | 0,61 | 0,64 |
| | 10 | 1,00 | 1,25 | 0,22 | 0,25 | 0,63 | 0,70 |

SD = keskihajonta

Taulukko 9: LLOQ:n yhteenveto genotyyppien kesken plasman ja seerumin osalta

| HCV-genotyyppi | Plasman LLOQ | | Seerumin LLOQ | |
|----------------|--------------|---------|---------------|---------|
| | (log IU/ml) | (IU/ml) | (log IU/ml) | (IU/ml) |
| 1 | 0,88 | 8 | 0,88 | 8 |
| 2 | 0,76 | 6 | 0,80 | 6 |
| 3 | 0,80 | 6 | 0,67 | 5 |
| 4 | 0,82 | 7 | 0,65 | 4 |
| 5 | 0,87 | 7 | 0,72 | 5 |
| 6 | 0,79 | 6 | 0,99 | 10 |

Tarkkuus

Tarkkuuden määrittämistä varten valmistettiin 10-jäseninen testisarja laimentamalla HCV-positiiviset kliiniset näytteet tai lisäämällä kylmäkuivattua RNA:ta (engl. armored RNA) HCV-negatiiviseen plasmaan ja seerumiin. Testisarjan testasi kolme käyttäjää, jotka käyttävät kolmea reagenssierää kolmella Panther-järjestelmällä 21 päivän kuluessa.

Taulukko 10 esittää analyysin tulosten tarkkuuden (yksiköissä log IU/ml) laitteiden välillä, käyttäjien välillä, erien välillä, ajojen välillä, ajojen sisällä ja kokonaisuudessaan. Kokonaisvaihtelu oli $\leq 13,31$ % kaikkien testisarjan jäsenten kesken, pääasiassa ajon sisäisen vaihtelun (eli satunnaisvirheen) vuoksi.

Taulukko 10: Aptima HCV Quant Dx Assay -analyysin tarkkuus

| Matriisi | N | Keskipitoisuus (log IU/ml) | Laitteiden välillä | | Käyttäjien välillä | | Erien välillä | | Ajojen välillä | | Ajon sisällä | | Yhteensä | |
|----------|------------------|-------------------------------|--------------------|--------|--------------------|--------|---------------|--------|----------------|--------|--------------|--------|----------|--------|
| | | | SD | CV (%) | SD | CV (%) | SD | CV (%) | SD | CV (%) | SD | CV (%) | SD | CV (%) |
| Plasma | 98 ^a | 1,23 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,04 | 3,35 | 0,06 | 4,54 | 0,12 | 9,84 | 0,14 | 11,34 |
| Plasma | 162 | 2,06 | 0,05 | 2,23 | 0,00 | 0,00 | 0,07 | 3,20 | 0,03 | 1,47 | 0,10 | 4,91 | 0,14 | 6,88 |
| Plasma | 162 | 3,02 | 0,03 | 0,89 | 0,01 | 0,24 | 0,04 | 1,47 | 0,01 | 0,33 | 0,09 | 3,08 | 0,11 | 3,77 |
| Plasma | 162 | 4,87 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,03 | 0,60 | 0,04 | 0,86 | 0,06 | 1,13 | 0,10 | 2,04 |
| Plasma | 162 | 7,16 | 0,02 | 0,21 | 0,01 | 0,20 | 0,04 | 0,52 | 0,00 | 0,00 | 0,05 | 0,75 | 0,09 | 1,27 |
| Seerumi | 132 ^a | 1,27 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,07 | 5,16 | 0,00 | 0,00 | 0,15 | 12,17 | 0,17 | 13,31 |
| Seerumi | 162 | 2,17 | 0,02 | 0,99 | 0,04 | 1,71 | 0,07 | 3,01 | 0,05 | 2,15 | 0,08 | 3,53 | 0,12 | 5,61 |
| Seerumi | 162 | 3,09 | 0,02 | 0,67 | 0,00 | 0,00 | 0,06 | 1,79 | 0,03 | 0,90 | 0,07 | 2,26 | 0,11 | 3,44 |
| Seerumi | 161 | 4,86 | 0,00 | 0,00 | 0,04 | 0,78 | 0,08 | 1,67 | 0,00 | 0,00 | 0,08 | 1,72 | 0,13 | 2,65 |
| Seerumi | 162 | 7,16 | 0,00 | 0,00 | 0,05 | 0,70 | 0,05 | 0,73 | 0,02 | 0,31 | 0,04 | 0,55 | 0,10 | 1,35 |

CV = variaatiokerroin, SD = keskihajonta

^a Kelvollisten tulosten määrä analyysin lineaarisella alueella.

Huomautus: Joidenkin tekijöiden aiheuttama vaihtelu voi olla numeerisesti negatiivista, mikä voi tapahtua, jos näiden tekijöiden aiheuttama vaihtelu on erittäin pientä. Kun näin tapahtuu, keskihajonnan ja variaatiokerroimen arvoina esitetään 0.

Mahdollisesti häiritsevät aineet

Aptima HCV Quant Dx Assay -analyysin herkkyys endogeenisten aineiden tai HCV-infektion saaneille potilaille yleisesti määrättyjen lääkkeiden pitoisuuden kohoamisen aiheuttamille häiriöille arvioitiin. Sellaiset HCV-negatiiviset plasmanäytteet ja näytteet testattiin, joihin on lisätty HCV:ta pitoisuudella 3,3 log IU/ml HCV:n RNA:ta.

Analyysin suorittamisessa ei havaittu mitään häiriöitä albumiinin (90 mg/ml), hemoglobiinin (5 mg/ml), triglyserideihin (30 mg/ml) tai konjugoitumattoman bilirubiinin (0,2 mg/ml) läsnä ollessa.

Sellaisten potilaiden, joilla määritettyjen aineiden pitoisuudet olivat koholla, tai sellaisten potilaiden, joilla on kohdassa Taulukko 11 mainittu sairaus, kliiniset plasmanäytteet testattiin Aptima HCV Quant Dx Assay -analyysillä. Analyysin toiminnassa ei havaittu mitään häiriöitä.

Taulukko 11: Testattujen kliinisten näytteiden tyypit

| Kliinisten näytteiden tyypit | |
|-------------------------------------|--|
| 1 | Reumatoiditekijä (RF) |
| 2 | Tumavasta-aine (ANA) |
| 3 | Jo-1:n vasta-aine (JO-1) |
| 4 | Systeeminen lupus erythematosus (SLE) |
| 5 | Nivelreuma (RA) |
| 6 | Multippeliskleroosi (MS) |
| 7 | Hyperglobulinemia |
| 8 | Kohonnut alaniiniaminotransferaasipitoisuus (ALT) |
| 9 | Kohonnut aspartaattiaminotransferaasipitoisuus (AST) |
| 10 | Alcoholin aiheuttama kirroosi (AC) |
| 11 | Multippeli myelooma (MM) |
| 12 | Lipemia (kohonnut lipidipitoisuus) |
| 13 | Keltatauti (kohonnut bilirubiinipitoisuus) |
| 14 | Hemolysoitu (kohonnut hemoglobiinipitoisuus) |
| 15 | Kohonnut albumiiniproteiinipitoisuus |
| 16 | HBV-vasta-aineet |
| 17 | HIV-1-vasta-aineet |
| 18 | HIV-2-vasta-aineet |

Analyysin suorittamisessa ei havaittu mitään häiriöitä, kun kohdassa Taulukko 12 mainittuja eksogeenisiä aineita oli pitoisuuksilla, jotka olivat vähintään kolme kertaa C_{max} (ihmisen plasma).

Taulukko 12: Eksogeeniset aineet

| Eksogeeniset aineet yhdistettyinä | Testatut eksogeeniset aineet |
|-----------------------------------|--|
| 1 | Telapreviiri, klaritromysiini, interferoni alfa-2a, dolutegraviiri, atsitromysiini |
| 2 | Simepreviiri, sofosbuviiri |
| 3 | Efavirensi, bosepreviiri, pegyloitu interferoni alfa-2b, emtrisitabiini, raltegraviiri, amoksisilliini |
| 4 | Abakaviirisulfaatti, ribaviriini, dasabuviiri, rilpiviriini, rifampiini/rifampisiini |
| 5 | Lopinaviiri, tenofoviiri, lamivudiini, valgansikloviiri |
| 6 | Hepariini, EDTA, natriumsitraatti |

Spesifisyys

Spesifisyys määritettiin käyttämällä 198 tuoretta ja 538 jäädytettyä HCV-negatiivista kliinistä näytettä. Testattuja plasmanäytteitä oli 370 ja vastaavasti seeruminäytteitä 366. Spesifisyys laskettiin sellaisten HCV-negatiivisten näytteiden prosenttiosuutena, joiden tulos oli ”Ei havaittu”. HCV:n RNA:ta ei havaittu mistään 736 näytteestä. Spesifisyys oli 100 % (736/736, 95 %:n luottamusväli: 99,6–100 %).

Taulukko 13: Spesifisyys plasman ja seerumin kliinisissä näytteissä

| | Tuore plasma | Jäädytetty plasma | Kokonaisplasma | Tuore seerumi | Jäädytetty seerumi | Kokonais-seerumi | Yhdistetty |
|--------------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| Kelvolliset monikerrat (n) | 100 | 270 | 370 | 98 | 268 | 366 | 736 |
| Ei havaittu | 100 | 270 | 370 | 98 | 268 | 366 | 736 |
| Spesifisyys (95 %:n CI) | 100 % (97,1–100) | 100 % (98,9–100) | 100 % (99,2–100) | 100 % (97,0–100) | 100 % (98,9–100) | 100 % (99,2–100) | 100 % (99,6–100) |

CI = luottamusväli

Analyyttinen spesifisyys

Mahdollinen ristireaktiivisuus kohdassa Taulukko 14 mainittujen patogeenien kanssa arviointiin HCV-negatiivisella ihmisen plasmalla HCV:n ollessa läsnä pitoisuudella 3,3 log IU/ml HCV:tä tai HCV:n puuttuessa. Ristireaktiivisuutta ei havaittu. Patogeenien läsnä ollessa ei havaittu mitään häiriöitä.

Taulukko 14: Analyyttisen spesifisyyden suhteen testatut patogeenit

| Patogeeni | Pitoisuus | | Patogeeni | Pitoisuus | |
|--|-----------|--------------------------|------------------------------------|-----------|---------------------|
| Hepatiitti A -virus | 100 000 | kopiota/ml | <i>Corynebacterium diphtheriae</i> | 1 000 000 | CFU/ml ^f |
| Hepatiitti B -virus (HBV) | 100 000 | IU/ml ^a | <i>Streptococcus pneumoniae</i> | 1 000 000 | CFU/ml |
| Hepatiitti G -virus | 1 470 | PFU/ml ^b | <i>Staphylococcus aureus</i> | 1 000 000 | CFU/ml |
| HIV-1 | 100 000 | kopiota/ml | <i>Propionibacterium acnes</i> | 1 000 000 | CFU/ml |
| HIV-2 | 100 000 | PFU/ml | <i>Staphylococcus epidermidis</i> | 1 000 000 | CFU/ml |
| Herpes simplex -virus 1 (HSV-1) | 100 000 | PFU/ml | <i>Candida albicans</i> | 1 000 000 | CFU/ml |
| Herpes simplex -virus 2 (HSV-2) | 100 000 | PFU/ml | <i>Neisseria gonorrhoeae</i> | 1 000 000 | CFU/ml |
| Ihmisen herpesvirus 6B | 100 000 | kopiota/ml | <i>Chlamydia trachomatis</i> | 1 000 000 | IFU/ml ^g |
| Ihmisen herpesvirus 8 | 2 667 | TCID50 U/ml ^c | <i>Trichomonas vaginalis</i> | 1 000 000 | solua/ml |
| Ihmisen T-solujen lymfotrooppinen virus, tyyppi 1 (HTLV-1) | 100 000 | vp/ml ^d | | | |
| Ihmisen T-solujen lymfotrooppinen virus, tyyppi 2 (HTLV-2) | 100 000 | vp/ml | | | |
| Parvovirus B19 | 100 000 | IU/ml | | | |
| West Nile -virus | 100 000 | PFU/ml | | | |
| Denguevirus 1 | 100 000 | PFU/ml | | | |
| Denguevirus 2 | 100 000 | PFU/ml | | | |
| Denguevirus 3 | 100 000 | PFU/ml | | | |
| Denguevirus 4 | 100 000 | PFU/ml | | | |
| Sytomegalovirus | 100 000 | PFU/ml | | | |
| Epstein-Barr-virus | 100 000 | kopiota/ml | | | |
| Vihurirokkovirus | 100 000 | PFU/ml | | | |
| Ihmisen papilloomavirus | 100 000 | solua/ml | | | |
| Adenovirus, tyyppi 5 | 100 000 | TCID50 U/ml | | | |
| Influenssa A -virus | 100 000 | TCID50 U/ml | | | |
| Japanilainen aivokuumevirus | Ei mitään | Ei mitään | | | |
| St. Louisin aivokuumevirus | Ei mitään | Ei mitään | | | |
| Murray Valleyn aivokuumevirus | 2 643 | LD/ml ^e | | | |
| Keltakuumevirus | 100 000 | solua/ml | | | |

^aIU/ml = kansainväliset yksiköt millilitrassa

^bPFU/ml = plakin muodostavat yksiköt millilitrassa

^cTCID50 U/ml = kudostiljelmän infektiiviset annosyksiköt millilitrassa

^dvp/ml = viruspartikkelit millilitrassa

^eLD/ml = tappava annos millilitrassa

^fCFU/ml = pesäkkeen muodostavat yksiköt millilitrassa

^gIFU/ml = inklusion muodostavat yksiköt millilitrassa

Kliiniset näytteet, jotka sisältävät muita viruksia kuin HCV:ta

Kohdassa Taulukko 15 mainitut patogeeneit arvioitiin hankkimalla yksilölliset luonnostaan infektoituneet kliiniset näytteet. Ne testattiin HCV:n ollessa läsnä pitoisuudella 3,3 log IU/ml HCV:tä tai HCV:n puuttuessa. Ristireaktiivisuutta ei havaittu. Mitään häiriöitä ei havaittu.

Taulukko 15: Analyyttisen spesifisyyden suhteen testatut kliiniset näytteet

| Pieneliö | Matriisi | N (luovuttajat) |
|---------------------|----------|-----------------|
| HBV | seerumi | 5 |
| HBV | plasma | 5 |
| Denguevirus | plasma | 10 |
| Hepatiitti A -virus | plasma | 10 |
| HTLV-1 | plasma | 10 |
| HTLV-2 | plasma | 10 |
| HIV-1 | plasma | 10 |
| West Nile -virus | plasma | 10 |

Kliinisten näytteiden toistettavuus

Toistettavuus arvioitiin testaamalla luonnostaan infektoituneiden HCV-positiivisten kliinisten plasma- ja seeruminäytteiden kolme replikaattia. Testattujen plasma- ja seeruminäytteiden keskipitoisuus ja keskihajonta esitetään kohdissa Taulukot 16 ja 17.

Taulukko 16: Kliinisten plasmanäytteiden toistettavuus

| Plasmanäytteen tunnus | Keskipitoisuus (log IU/ml) | SD |
|-----------------------|----------------------------|------|
| 1 | 1,68 | 0,05 |
| 2 | 1,69 | 0,17 |
| 3 | 1,73 | 0,06 |
| 4 | 1,73 | 0,06 |
| 5 | 1,84 | 0,05 |
| 6 | 2,30 | 0,10 |
| 7 | 2,71 | 0,09 |
| 8 | 2,80 | 0,06 |
| 9 | 3,22 | 0,04 |
| 10 | 3,80 | 0,05 |
| 11 | 4,12 | 0,08 |
| 12 | 4,21 | 0,11 |
| 13 | 4,90 | 0,14 |
| 14 | 6,94 | 0,11 |
| 15 | 7,05 | 0,04 |

Taulukko 17: Kliinisten seeruminäytteiden toistettavuus

| Seeruminäytteen tunnus | Keskipitoisuus (log IU/ml) | SD |
|------------------------|----------------------------|------|
| 1 | 1,67 | 0,07 |
| 2 | 1,74 | 0,10 |
| 3 | 1,86 | 0,15 |
| 4 | 1,67 | 0,07 |
| 5 | 2,00 | 0,07 |
| 6 | 2,51 | 0,08 |
| 7 | 3,12 | 0,23 |
| 8 | 3,29 | 0,02 |
| 9 | 3,70 | 0,18 |
| 10 | 3,99 ^a | 0,13 |
| 11 | 4,35 | 0,05 |
| 12 | 5,48 | 0,12 |
| 13 | 5,74 | 0,07 |
| 14 | 5,80 | 0,13 |
| 15 | 7,15 | 0,10 |

^aTulos kahdesta kolmesta testatusta replikaatista. Yksi replikaatti, jonka tulos oli muista poikkeava, poistettiin tuloksista.

Näytteen laimentaminen näytteen laimentimella

Jotta saatiin arvioitua HCV:n RNA:n talteenotto näytteistä, jotka oli laimennettu Aptima Specimen Diluent -laimentimella (eli näytteen laimentimella), lineaarisella alueella olevat plasma- ja seeruminäytteet laimennettiin 1:3 Aptima Specimen Diluent -laimentimella. Lisäksi väkevät luonnostaan infektoituneet kliiniset näytteet ja näytteet, joihin oli lisätty Armored RNA:ta pitoisuuksilla, jotka olivat yli ULOQ-raja-arvon, laimennettiin 1:100 Aptima Specimen Diluent -laimentimella. Jokainen näyte testattiin sekoittamattomana ja laimennettuna (1:3 tai 1:100) kolmena replikaattina. Keskimääräisen ilmoitetun pitoisuuden (laimennuskerrointa käytetty laimennetun näytteen tulokseen) ja keskimääräisen sekoittamattoman pitoisuuden erot ilmoitetaan kohdassa Taulukko 18 plasmalle ja kohdassa Taulukko 19 seerumille. Näytepitoisuudet saatiin tarkasti talteen laimennetuista näytteistä.

Taulukko 18: Näytteen laimentaminen Aptima Specimen Diluent -laimentimella – plasma

| Laimennos | Sekoittamaton keskipitoisuus (log IU/ml) | Ilmoitettu keskipitoisuus ^a (log IU/ml) | Ero |
|-----------|--|--|-------|
| 1:3 | 1,68 | 1,89 | -0,21 |
| | 1,69 | 1,69 | 0,00 |
| | 1,73 | 2,11 | -0,38 |
| | 1,73 | 1,78 | -0,05 |
| | 1,84 | 1,80 | 0,04 |
| | 2,30 | 2,23 | 0,07 |
| | 2,71 | 2,76 | -0,05 |
| | 2,80 | 2,76 | 0,04 |
| | 3,22 | 3,28 | -0,06 |
| | 3,80 | 3,71 | 0,09 |
| | 4,12 | 4,06 | 0,06 |
| | 4,21 | 4,07 | 0,14 |
| | 4,90 | 4,68 | 0,22 |
| | 6,94 | 6,72 | 0,22 |
| | 7,05 | 6,91 | 0,14 |
| 1:100 | 7,05 | 6,59 | 0,46 |
| | > 8,00 (8,45) ^b | 8,38 | 0,07 |

^aIlmoitettu pitoisuus on arvo, joka on laskettu laimennuskertoimen käyttämisen jälkeen.

^bNäyte, johon on lisätty HCV:ta.

Huomautus: kaikki tulokset, jotka olivat yli > 8,00 log IU/ml arvioitiin käyttämällä lisäanalyysiä.

Taulukko 19: Näytteen laimentaminen Aptima Specimen Diluent -laimentimella – seerumi

| Laimennuskertoimen | Sekoittamaton keskipitoisuus (log IU/ml) | Ilmoitettu keskipitoisuus ^a (log IU/ml) | Ero |
|--------------------|---|---|-------|
| 1:3 | 1,67 | 1,85 | -0,18 |
| | 1,74 | 1,72 | 0,02 |
| | 1,86 | 1,66 | 0,20 |
| | 1,67 | 1,85 | -0,18 |
| | 2,00 | 1,91 | 0,09 |
| | 2,51 | 2,37 | 0,14 |
| | 3,12 | 3,01 | 0,11 |
| | 3,29 | 3,35 | -0,06 |
| | 3,70 | 3,53 | 0,17 |
| | 3,99 ^c | 3,87 | 0,12 |
| | 4,35 | 4,30 | 0,05 |
| | 5,48 | 5,25 | 0,23 |
| | 5,74 | 5,62 | 0,12 |
| | 5,80 | 5,50 | 0,30 |
| 1:100 | 7,15 | 6,86 | 0,29 |
| | 7,15 | 6,65 | 0,50 |
| | > 8,00 (8,44) ^b | 8,46 | -0,02 |

^aIlmoitettu pitoisuus on arvo, joka on laskettu laimennuskertoimen käyttämisen jälkeen.

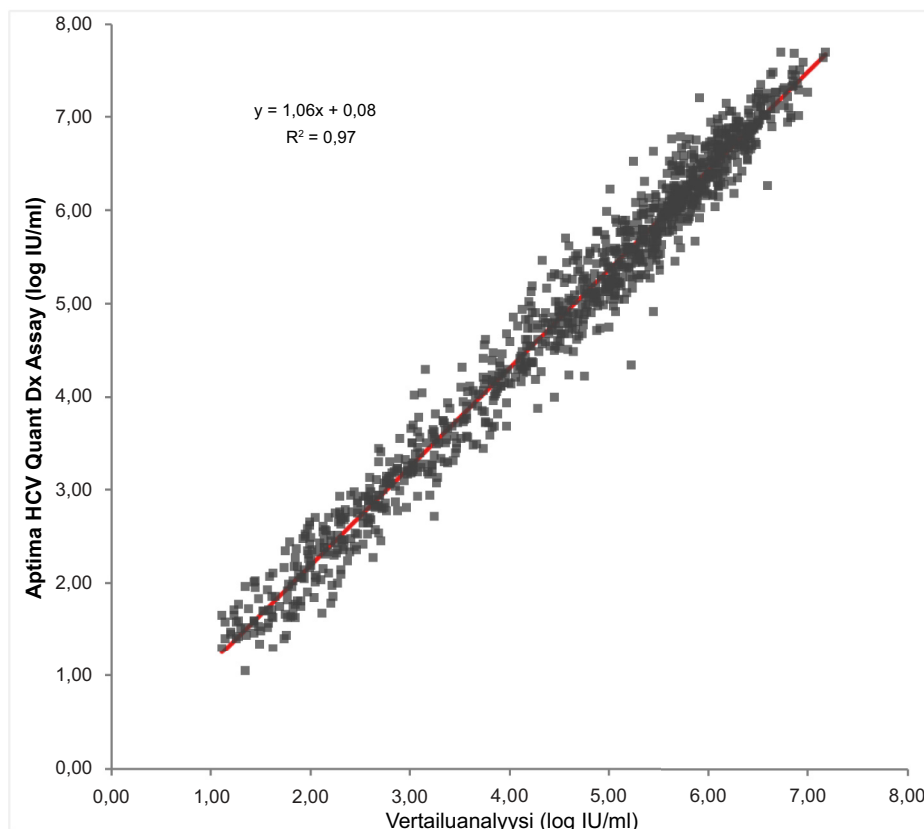
^bNäyte, johon on lisätty HCV:ta.

^cTulos kahdesta kolmesta testatusta replikaatista. Yksi replikaatti, jonka tulos oli muista poikkeava, poistettiin tuloksista.

Huomautus: kaikki tulokset, jotka olivat yli > 8,00 log IU/ml arvioitiin käyttämällä lisäanalyysiä.

Menetelmän korrelaatio

Aptima HCV Quant Dx Assay -analyysin toimintakyky arvioitiin verrattuna CE-merkittyyntä vertailuanalyysiin testaamalla laimentamattomat kliiniset näytteet, jotka oli saatu HCV-infektoiduilta potilailta kolmella Panther-järjestelmällä käyttämällä neljää reagenssierää. Lineaariseen regressioon käytettiin yhteensä 1 058 plasma- ja seeruminäytettä (872 plasma, 186 seerumi) kaikkien HCV-genotyyppien kesken lineaarisella alueella, joka oli sama kummassakin analyysissä, kuten Kuva 8 esittää.



Kuva 8. Aptima HCV Quant Dx Assay -analyysin ja vertailuanalyysin välinen korrelaatio

Diagnostinen yhteensopivuus

Diagnostisen yhteensopivuuden arviointia varten 227 plasma- ja seeruminäytettä HCV-positiivisilta henkilöiltä testattiin käyttämällä Aptima HCV Quant Dx Assay -analyysiä ja vertailevaa CE-merkittyä kvalitatiivista analyysiä. Kaikki kvantifioitavan tai havaittavan tuloksen antaneet tulokset luokiteltiin ”Havaittu”-tyyppisiksi. Kaikki tulokset, joissa kohdetta ei havaittu, luokiteltiin ”Kohdetta ei havaittu” -tyyppisiksi. Diagnostinen yhteensopivuus analyysien välillä oli 100 %, kuten Taulukko 20 nähdään.

Taulukko 20: Diagnostinen yhteensopivuus Aptima HCV Quant Dx Assay -analyysin ja vertailuanalyysin välillä

| | | Aptima HCV Quant Dx Assay -analyysi | |
|------------------|----------------------|-------------------------------------|----------------------|
| | | Havaittu | Kohdetta ei havaittu |
| Vertailuanalyysi | Havaittu | 99 | 0 |
| | Kohdetta ei havaittu | 0 | 128 |

Näytteiden välinen kontaminaatio

Käyttämällä kolmea Panther-järjestelmää ja testisarjoja, joihin oli lisätty HCV:ta, määritettiin, että Panther-järjestelmä vähentää näytteiden välisen kontaminaation aiheuttamien epäkelvojen positiivisten tulosten riskiä. Näytteiden välinen kontaminaatio arvioitiin käyttämällä väkeviä plasmanäytteitä, joihin oli lisätty Armored RNA:ta (7 log IU/ml), HCV-negatiivisten näytteiden joukkoon shakkilautakuvion tavoin siroteltuina. Testaus suoritettiin viidellätoista ajolla. Näytteiden välisen kontaminaation kokonaisosuus oli 0,14 % (1/704).

Serokonversion testisarja

Yksitoista HCV:n serokonversion testisarjaa, joissa oli yhteensä 72 näytettä, testattiin. Aptima HCV Quant Dx Assay -analyysin tuloksia verrattiin HCV-vasta-aineen testituloksiin. Ensimmäisen reaktiivisen tuloksen saamiseen kuluneiden päivien määrät luetellaan kohdassa Taulukko 21. Aptima HCV Quant Dx Assay -analyysissä havaittiin HCV keskimäärin 20 päivää vasta-ainetestejä aiemmin.

Taulukko 21: Serokonversion testisarjan tietojen yhteenveto

| Testisarjan tunnus | Testattujen testisarjan jäsenten määrä | Reaktiivisten testisarjan jäsenten määrä | | | Päiviä ensimmäiseen reaktiiviseen tulokseen | | | Ero päivissä ensimmäiseen reaktiiviseen tulokseen (verinäytteen ottamispäivän perusteella) | |
|--------------------|--|--|-----------------------|-----------------------|---|-----------------------|-----------------------|--|---|
| | | Aptima HCV Quant Dx | HCV-vasta-ainetesti 1 | HCV-vasta-ainetesti 2 | Aptima HCV Quant Dx | HCV-vasta-ainetesti 1 | HCV-vasta-ainetesti 2 | Päivää aiemmin kuin HCV:n vasta-ainetesti 1 | Päivää aiemmin kuin HCV:n vasta-ainetesti 2 |
| | | PHV911 | 4 | 4 | 3 | 3 | 3 ^a | 14 | 14 |
| PHV913 | 4 | 4 | 0 | 2 | 0 | g ^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 |
| Yhteensä | 72 | 66 | 35 | 32 | | | | Keskiarvo 19,36 | 20,73 |
| | | | | | | | | Mediaani 14 | 18 |

HCV-vasta-ainetesti 1 suoritettiin käyttämällä Abbot Prismin HCV-analyysiä.

HCV:n vasta-ainetesti 2 suoritettiin Ortho Enhanced SAVE -analyysillä seuraavin poikkeuksin: testisarjat 6 227 ja 6 229, jotka testattiin kumpikin Ortho ELISA Anti-HCV 3.0 -analyysillä.

^aEnsimmäistä verinäytettä ei testattu, koska toimittajalta ei saatu näytettä.

^bKaikki tämän testisarjan verinäytteet olivat ei-reaktiivisia HCV-vasta-aineen suhteen. Viimeisen verinäytteen päivää käytettiin "Päiviä ensimmäiseen reaktiiviseen tulokseen" -arvon määrittämiseen.

^cToista verinäytettä ei testattu, koska toimittajalta ei saatu näytettä.

Lähdeluettelo

1. Averhoff FM, Glass N and Holtzman D. Global Burden of Hepatitis C: Considerations for Healthcare Providers in the United States. *Clinical Infectious Diseases* 2012; 55 (S1): S10-15.
2. Current and Future Disease Progression of the Chronic HCV Population in the United States (2013) PLOS ONE Volume 8: Issue 5; 1-10.
3. Engle RE, Bukh J, Alter HJ et al., <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24797372> Transfusion-associated hepatitis before the screening of blood for hepatitis risk factors. *Transfusion*. 2014 May 5
4. Lee M-H, Yang, H-I, Yuan Y et al., Epidemiology and natural history of hepatitis C virus infection. *World J Gastroenterology* 2014; 20 (28): 9270-9280
5. Hepatitis C Viruses: Genome and Molecular Biology (2006); Horizon Biosciences
6. Smith DB, Bukh J, Kuiken C, et al, P. Expanded classification of hepatitis C virus into 7 genotypes and 67 subtypes: updated criteria and genotype assignment web resource. *Hepatology*. 2014 Jan;59(1):318-27.
7. EASL Recommendations on treatment of Hepatitis C 2014: www.easl.eu/_clinical-practice-guideline
8. AASLD and the Infectious Diseases Society of America (IDSA), in collaboration with the International Antiviral Society-USA (IAS-USA) 2014: www.hcvguidelines.org
9. CDC. Testing for HCV infection: An update for clinicians and laboratories. *MMWR* 2013; 62 (18)
10. Rutter, K, Hofer H, Beinhardt, S et al., Durability of SVR in chronic hepatitis C patients treated with peginterferon- α 2a/ribavirin in combination with a direct acting antiviral. *Aliment Pharmacol Ther*. 2013 Jul;38(2):118-23.
11. Treatment of Hepatitis C, A Systemic Review (2014) *JAMA* Volume 312: No.6; 631-640.
12. EASL International Consensus Conference on Hepatitis C. Consensus Statement. *J Hepatol* 1999; 30; 956-61
13. NIH Consensus and State-of-the-Science Statements. Management of Hepatitis C: 2002; 19 (3):1-46
14. Peiffer K-H and Sarrazin C. The importance of HCV RNA measurement in tailoring treatment duration: *Digestive and Liver Disease* 45S (2013) S323-S331.
15. **Clinical and Laboratory Standards Institute**. 2005. Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods; Approved Guideline. CLSI Document MM13-A. Wayne, PA.
16. **29 CFR Part 1910.1030**. Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens; current version.
17. **Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health**. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL); current version.
18. **Clinical and Laboratory Standards Institute**. 2002. Clinical Laboratory Waste Management. CLSI Document GP5-A2. Villanova, PA.
19. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)**. 2012. Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline—Second Edition. CLSI Document EP17-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
20. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)**. 2003. Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline. CLSI document EP06-A. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.



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

Asiakastuki: +1 844 Hologic (+1 844 465 6442)

customersupport@hologic.com

Tekninen tuki:

+1 888 484 4747

molecularsupport@hologic.com

Lisätietoja on verkkosivustossa www.hologic.com.



Emergo Europe
Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague
The Netherlands

Hologic, Aptima, Panther ja niihin liittyvät logot ovat Hologic, Inc:n ja/tai sen tytäryhtiöiden tavaramerkkejä ja/tai rekisteröityjä tavaramerkkejä Yhdysvalloissa ja/tai muissa maissa.

Armored RNA on Asuragen, Inc:n tavaramerkki.

Kaikki muut tässä pakkauselosteessa olevat tavaramerkit ovat omistajiensa omaisuutta.

Yksi tai useampi sivustossa www.hologic.com/patents mainituista US-patenteista voi kattaa tämän tuotteen:

© 2015-2017 Hologic, Inc. Kaikki oikeudet pidätetään.

AW-13249-1701 versio 002
2017-04