

WHO Prequalification of In Vitro Diagnostics PUBLIC REPORT

Product: Abbott RealTime HCV
WHO reference number: PQDx 0450-027-00

Abbott RealTime HCV with product codes **4J86-90, 4J86-80, 4J86-70, and 04J86-10¹**, manufactured by **Abbott Molecular Inc, CE-Marked regulatory version**, was accepted for the WHO list of prequalified in vitro diagnostics and was listed on 10 December 2019.

Summary of WHO prequalification assessment for the Abbott RealTime HCV

	Date	Outcome
Prequalification listing	10 December 2019	listed
Dossier review	N/A	N/A
Site inspection(s) of quality management system	28 October 2024	MR
Product performance evaluation	Quarter (Q) 3 and Q4 of 2019	MR

MR: Meet Requirements

N/A: Not Applicable

Report amendments and/or product changes

This public report has since been amended. Amendments may have arisen because of changes to the prequalified product for which the WHO has been notified and has undertaken a review. Amendments to the report are summarised in the following table, and details of each amendment are provided below.

Version	Summary of amendment	Date of report amendment
2.0	The manufacturer has submitted a change request to extend the claim of the Abbott RealTime HCV assay (4J86) to include quantification of hepatitis C viral RNA (HCV RNA) in whole blood spotted on cards as dried blood spots (DBS) (i.e. obtained via venipuncture or capillary blood) from HCV-infected individuals.	16 September 2020.
3.0	Updated Abbott's European Authorized Representative (EC Rep) legal entity name from Abbott GmbH & Co. KG to Abbott GmbH. Labelling	1 November 2021.

¹ product code 04J86-10 was added to allow for the use of dried blood spot (DBS) specimens in addition to plasma specimens.

	changes to comply with the labelling requirements for products registered under IVDR.	
4.0	The addition of the DBS list number (04J86-10) was omitted in version 3 of the public report.	9 August 2024.
5.0	Closure of IFU-related post-prequalification commitment, which was included in the product dossier assessment section of this public report.	16 September 2024.
6.0	Administrative changes to the labelling to meet the requirements of the new IVDR 2017/746/EU.	27 October 2025

Intended use:

According to the claim of intended use from Abbott Molecular Inc, *“Abbott RealTime HCV assay is an in vitro reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) assay for the quantitation of hepatitis C viral ribonucleic acid (HCV RNA) in human serum, plasma and whole blood spotted on cards as dried blood spots (DBS) (ie, obtained via venipuncture or capillary blood) from HCV-infected individuals. The Abbott RealTime HCV assay is intended for use as an aid in the management of HCV-infected patients undergoing antiviral therapy. The Abbott RealTime HCV assay is not for screening blood, plasma, serum or tissue donors for HCV, or to be used as a diagnostic test to confirm the presence of HCV infection.*

The intended users for the Abbott RealTime HIV-1 assay are laboratory and healthcare professionals.”

Assay description:

According to the claim of assay description from Abbott Molecular Inc, *“Abbott RealTime HCV assay consists of 3 reagent kits:*

- *Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit*
- *Abbott RealTime HCV Control Kit*
- *Abbott RealTime HCV Calibrator Kit*

The Abbott RealTime HCV assay uses RT-PCR to generate amplified product from the RNA genome of HCV in clinical specimens. An RNA sequence that is unrelated to the HCV target sequence is introduced into each specimen at the beginning of sample preparation. This unrelated RNA sequence is simultaneously amplified by RT-PCR and serves as an internal control (IC) to demonstrate that the process has proceeded correctly for each sample. The amount of HCV target sequence that is present at each amplification cycle is measured through the use of fluorescent-labeled oligonucleotide probes on the Abbott m2000rt instrument. The probes do not generate signal unless they are specifically bound to the amplified product. The amplification cycle at which fluorescent signal is detected by the Abbott m2000rt is proportional to the log of the HCV RNA concentration present in the original sample”.

Test kit contents:

Component	Number of tests and product code
Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit	96 tests (product code 4J86-90)
Abbott RealTime HCV Internal Control	4 vials x 1.2mL (4J86Y)
Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Pack	4 packs X 24 tests/pack (4J86)
Abbott RealTime HCV Control Kit	product code 4J86-80
Abbott RealTime HCV Negative Control	8 vials x 1.8mL/ vial (4J86Z)
Abbott RealTime HCV Low Positive Control	8 vials x 1.3ml/vial (4J86W)
Abbott RealTime HCV High Positive Control	8 vials x 1.3mL/vial (4J86X)
Abbott RealTime HCV Calibrator Kit	Product code 4J86-70
Abbott RealTime HCV Calibrator A	12 vials x 1.3 mL/vial (4J86A)
Abbott RealTime HCV Calibrator B	12 vials x 1.3 mL/vial (4J86B)
Abbott RealTime HCV Amplification kit for DBS	Product code 4J86-10
Abbott RealTime HCV Supplement for Dried Blood Spot (DBS)	Supplement

Items required but not provided:

Component	Product code and description
Sample preparation area	
Abbott m2000sp instrument	9K14-02
Abbott m1000sp instrument	4J72-01
Abbott m24sp instrument	3N06-01
Abbott RealTime HCV m2000 ROW System Combined Application CD-ROM	1L69-07 or higher
Abbott m2000sp software with version 6.0 or higher	50-148400 or higher
5 mL Reaction Vessels	General Lab material
Abbott mSample Preparation System	04J70-24
Calibrated precision pipettes	20 µL to 1 000 µL
Aerosol barrier pipette tips	20 µL to 1 000µL
13 to 16 mm sample tubes	13 to 16 mm sample tubes

200 µL disposable tips	04J71-17
1000 µL disposable tips	04J71-17
Vortex mixer	General lab equipment
Abbott Optical Adhesive Covers	04J71-75
Abbott Adhesive Cover Applicator	9K32-01
Abbott Splash-Free Support Base	09K31-01
200 mL Reagent Vessels	4J71-60
Master Mix Tube	04J71-80
Abbott 96-Deep-Well Plate	04J71-30
Abbott 96-Well Optical Reaction Plate	04J71-70
Centrifuge capable of 2000g	General lab equipment
1.4 mL Micro Vial 15 mm Caps (optional)	3N20-01
Sample preparation area for DBS	
Abbott mSample Preparation System DBS Buffer Kit	09N02-001
m2000 System 13mm DBS-PoS Set	09N03-001
Amplification area	
Abbott m2000rt	9K15-01
Abbott RealTime HCV m2000 ROW System Combined Application CD-ROM	1L69-07 or higher
Abbott m2000rt Optical Calibration Kit	List No. 4J71-93
Amplification area for DBS	
Abbott RealTime HCV m2000 ROW System Combined Application CD-ROM	01L69-040 or higher
Other Materials	
Biological safety cabinet approved for working with infectious materials	General lab equipment
Sealable plastic bags	General lab material
RNase-free water (Eppendorf or equivalent) †	General lab material
1.7 mL molecular biology grade microcentrifuge tubes (Dot Scientific, Inc. or equivalent) †	
Cotton Tip Applicators (Puritan or equivalent) †	General lab material
Other Materials for DBS	
Sealable bag for DBS card	General lab material
Desiccant pack for DBS card	General lab material
Ahlstrom-Munktel TFN paper card and/or Whatman 903	General lab material

†NOTE: These 3 items are used in the procedure for Monitoring the Laboratory for the Presence of Contamination. Refer to the QUALITY CONTROL PROCEDURES section of this package insert.

Storage:

- The Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Pack and Internal Control vials(4J86-90) must be stored at – 10°C or colder when not in use. Care must be taken to separate the Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Pack that is in use from direct contact with samples, calibrators, and controls.
- The Abbott RealTime HCV Negative and Positive Controls (4J86-80) must be stored at – 10°C or colder.
- The Abbott RealTime HCV Calibrator A and Calibrator B (4J86-70) must be stored at – 10°C or colder.

Shipping:

- Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit: Ship on dry ice.
- Abbott RealTime HCV Control Kit: Ship on dry ice.
- Abbott RealTime HCV Calibrator Kit: Ship on dry ice.

Shelf-life upon manufacture:

18 months.

Warnings/limitations:

Refer to the current instructions for use.

Prioritization for prequalification

Based on the established eligibility criteria, Abbott RealTime HCV was given priority for WHO prequalification assessment.

Product dossier assessment

In accordance with the WHO procedure for abridged prequalification assessment, Abbott Molecular Inc. was not required to submit a product dossier for the Abbott RealTime HCV as per the *“Instructions for compilation of a product dossier”* (PQDx_018 version 3). Notwithstanding, certain aspects of the product dossier previously submitted for stringent regulatory review were reviewed by an assessor during the site inspection. Based on the product dossier screening and assessment findings, a recommendation was made to accept the product dossier for the Abbott RealTime HCV for prequalification.

Manufacturing site inspection

At the time of considering the product application for Prequalification, the Manufacturer of the product had a well-established quality management system and manufacturing practices in place that would support the manufacture of a product of consistent quality. Routine inspections of the Manufacturing site will be conducted with copies of the WHO Public Inspection Report (WHOPIR) published on the WHO Prequalification web page as per Resolution WHA57.14 of the World Health Assembly. Note that a WHOPIR reflects the information on the most current assessment performed at a manufacturing site for in vitro diagnostic products and summarises the assessment findings.

<https://extranet.who.int/pqweb/vitro-diagnostics/who-public-inspection-reports>

All published WHOPIRs are with the agreement of the manufacturer. Based on the site inspection and corrective action plan review, the quality management system for the Abbott RealTime HCV meets WHO prequalification requirements.

Product performance evaluation

The Abbott RealTime HCV assay is an in vitro reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) assay for the quantitation of hepatitis C viral ribonucleic acid (HCV RNA) in human serum and EDTA/ACD plasma from HCV-infected individuals. The Abbott RealTime HCV assay is intended for use as an aid in the management of HCV-infected patients undergoing antiviral therapy. A volume of 0.2 mL or 0.5 mL of specimen is used to perform the assay (however, at least 0.7 – 1.3 mL of specimen should be available for use with the *m1000* and *m2000sp* systems). This type of assay requires laboratory equipment and cannot be performed in laboratories with limited facilities.

The Abbott RealTime HCV assay was evaluated at the National Serology Reference Laboratory (NRL), Melbourne, Australia, on behalf of WHO in Q3 and Q4 2019. From this evaluation, we drew the following conclusions.

Analytical evaluation

The precision (intra- and inter-assay) of measurement was found to be acceptable. At 10^2 IU/mL, CV% were <8% and at 10^4 IU/mL, CV% were < 3%.

The limit of detection of the assay was estimated at 31 IU/mL (95% CI: 11-52 IU/mL), which is consistent with the claim (30 IU/mL with the 0.2 mL sample preparation procedure).

There was no cross-contamination when high positive and negative specimens were ran together.

All 6 HCV genotypes included in the 4th HCV RNA Genotype Panel for Nucleic Acid Amplification (NIBSC reference: 14/209) and in the NRL HCV Mixed Genotype Panel were detected by the assay.

Clinical evaluation

In this limited performance evaluation on a panel of 197 ACD plasma specimens, using a sample volume of 0.2 mL, we found a bias of $-0.05 \log_{10} \text{ IU/mL}$ (limits of agreement: -0.42 to $0.32 \log_{10} \text{ IU/mL}$) compared to the reference results using the cobas HCV quantitative nucleic acid test with cobas 6800 System (Roche Diagnostics GmbH). The sensitivity (N=99) was 100% (95% CI: 96.3% – 100%) and specificity (N=98) was 100% (95% CI: 96.2% - 100%) compared to the reference results.

In this study, the invalid rate was 0%.

Labelling

- 1. Labels**
- 2. Instructions for use**

1. Labels

1.1 Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit box label (4J86-90)

Abbott RealTime est un marque commercial de Abbott.

ProClin est un marque déposée de Rohm and Haas.

- 1 Flacon (0,40 ml) de réactif d'activation, 30 mM de solution de chlorure de manganèse. Conservateurs : ProClin 300 à 0,1 % et ProClin 950 à 0,15 %.
- 1 Flacon (1,10 ml) de réactif d'oligonucléotides synthétiques de référence. Conservateurs (4 amorces et 2 sondes) et une solution tampon.
- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.

- 1 Flacon (0,40 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.
- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.

- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.
- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.

- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.
- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.

- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.
- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.

- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.
- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.

- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.
- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.

- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.
- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.

- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.
- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.

- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.
- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.

- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.
- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.

- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.
- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.

- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.
- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.

- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.
- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.

- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.
- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.

- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.
- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.

- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.
- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.

- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.
- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.

- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.
- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.

- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.
- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.

- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.
- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.

- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.
- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.

- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.
- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.

- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.
- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.

- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.
- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.

- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.
- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.

- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.
- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.

- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.
- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.

- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.
- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.

- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.
- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.

- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.
- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.

- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.
- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.

- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.
- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.

- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.
- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.

- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.
- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.

- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.
- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.

- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.
- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.

- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.
- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.

- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.
- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.

- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.
- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.

- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.
- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.

- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.
- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.

- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.
- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.

- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.
- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.

- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.
- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.

- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.
- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.

- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.
- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.

- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.
- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.

- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.
- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.

- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.
- 1 Flacon (0,141 ml) de l'enzyme rTth polymérase (ThermoStable rTth polymerase Enzyme) (2,9 à 3,5 unités/µL) dans un solution tampon.



(en) For *In Vitro* Diagnostic Use. The Abbott RealTime HCV assay is an *in vitro* reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) assay for the quantitation of hepatitis C viral ribonucleic acid (HCV RNA) in human serum and plasma from HCV-infected individuals. The Abbott RealTime HCV assay is intended for use as an aid in the management of HCV-infected patients undergoing antiviral therapy. The Abbott RealTime HCV assay is not for screening blood, plasma, serum or tissue donors for HCV, or to be used as a diagnostic test to confirm the presence of HCV infection.

Contents:

1. **[INTERNAL CONTROL]** Abbott RealTime HCV Internal Control (4 vials, 1.2 mL per vial). <0.01% noninfectious Armored RNA® with internal control sequences in negative human plasma. Negative human plasma tested and found to be nonreactive for HbsAg, HBV DNA, HCV RNA, HIV RNA, anti-HIV-1/HIV-2, and anti-HCV. Preservatives: 0.1% ProClin® 300 and 0.15% ProClin 950.
2. **[AMPLIFICATION REAGENT PACK]** Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Pack (4 packs, 24 tests/pack). Each Reagent Pack contains:
 - 1 Bottle (0.141 mL) ThermoStable rTth Polymerase Enzyme (2.9 to 3.5 Units/µL) in buffered solution.
 - 1 Bottle (1.10 mL) HCV Oligonucleotide Reagent. <0.1% synthetic oligonucleotides (4 primers and 2 probes), and <0.3% dNTPs in a buffered solution with a reference dye. Preservatives: 0.1% ProClin 300 and 0.15% ProClin 950.
 - 1 Bottle (0.40 mL) Activation Reagent. 30 mM manganese chloride solution. Preservatives: 0.1% ProClin 300 and 0.15% ProClin 950.

ProClin is a registered trademark of Rohm and Haas.

Armored RNA is a registered trademark of Ambion.

Abbott RealTime is a trademark of Abbott.



(en) **CAUTION:** Handle human sourced materials as potentially infectious. Consult instructions for use. / (de) **ACHTUNG:** Humanmaterial gilt als potentiell infektiös und muss mit der entsprechenden Vorsicht gehandhabt werden. Gebrauchsanweisung beachten. / (fr) **ATTENTION :** Manipuler les produits d'origine humaine comme s'ils étaient potentiellement infectieux. Consulter les instructions d'utilisation. / (es) **ATENCIÓN:** maneje los productos de origen humano como potencialmente infecciosos. Consulte las instrucciones de uso. / (it) **ATTENZIONE:** Trattare i materiali di origine umana come potenzialmente infettivi. Consultare le istruzioni per l'uso. / (pt) **ATENÇÃO:** manusear os materiais de origem humana como potencialmente infecciosos. Consultar as instruções de utilização.



(pt) Para utilização em diagnóstico *in vitro*. O ensaio Abbott RealTime HCV é um ensaio, para utilização *in vitro*, de transcriptase reversa associada à reação em cadeia da polimerase (RT-PCR) para a quantificação do ácido ribonucleico viral do hepatite C (ARNV) do HCV em soro e plasma humanos de indivíduos infectados pelo HCV. O ensaio Abbott RealTime HCV destina-se a ser utilizado como meio auxiliar no tratamento de doentes infectados pelo HCV, mas não é destinado a ser utilizado para o rastreio de HCV em amostras de sangue, plasma, soro ou tecido de doadores, nem como teste de diagnóstico confirmatório da presença de infeção pelo HCV.

- Conteúdo:
1. **[INTERNAL CONTROL]** Abbott RealTime HCV Internal Control (4 frascos, 1,2 ml por frasco). <0.01% de Armored RNA® não infeccioso com sequências de controlo interno em plasma humano negativo. Plasma humano negativo testado e considerado não reativo para HbsAg, ADN do HBV, ARN do HCV, ARN do HIV, anticorpos anti-HIV-1/HIV-2 e anti-HCV. Conservantes: ProClin® 300 a 0,1% e ProClin 950 a 0,15%.
 2. **[AMPLIFICATION REAGENT PACK]** Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Pack (4 embalagens, 24 testes/embalagem). Cada embalagem de reagentes contém:
 - 1 frasco (0,141 ml) de enzima rTth da polimerase termoestável (2,9 a 3,5 Unidades/µl) numa solução tamponada.
 - 1 frasco (1,10 ml) de reagente de oligonucleótidos do HCV. <0,1% de oligonucleótidos sintéticos (4 primers e 2 sondas), e <0,3% de dNTPs numa solução tamponada com um corante de referência. Conservantes: ProClin 300 a 0,1% e ProClin 950 a 0,15%.
 - 1 frasco (0,40 ml) de reagente de ativação. Solução de cloreto de manganésio 30 mM. Conservantes: ProClin 300 a 0,1% e ProClin 950 a 0,15%.

ProClin é uma marca comercial registada de Rohm and Haas.

Armored RNA é uma marca comercial registada de Ambion.

Abbott RealTime é uma marca comercial de Abbott.



Abbott Molecular Inc.
1300 East Touhy Avenue
Des Plaines, IL 60018 USA

www.molecular.abbott



Abbott GmbH
Max-Planck-Ring 2
65205 Wiesbaden, Germany



Abbott

Amplification Reagent Kit

(4x24 Tests)



H317
P261, P280, P272, P302+P352,
P333+P313, P362+P364, P501

REF 4J86-90

IVD



2797



51-602125/R6

GTIN

LOT



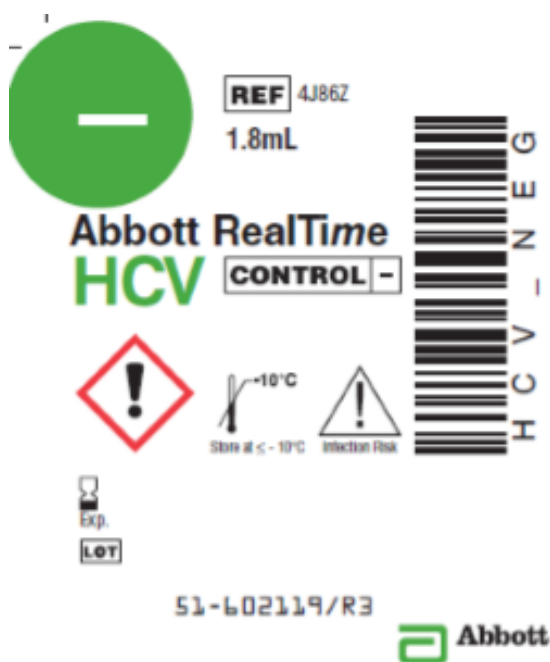
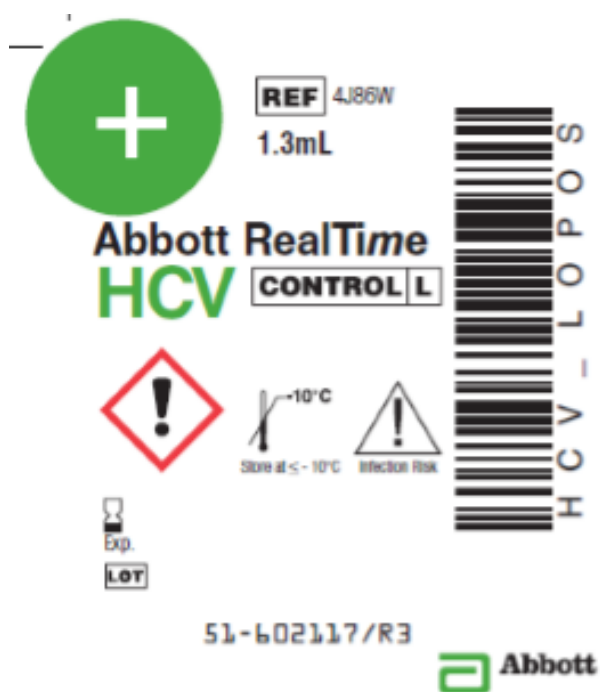
REF

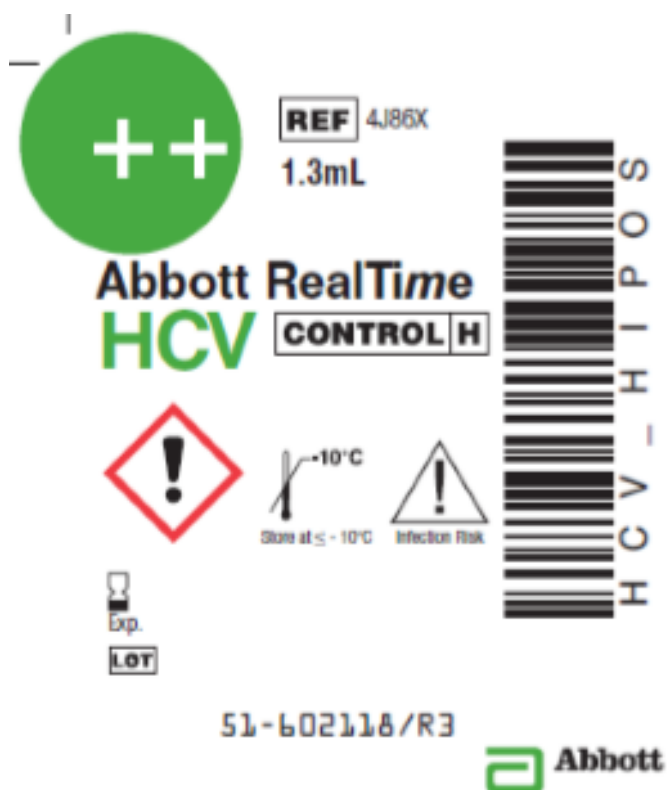
Amplification Reagent Kit

(4x24 Tests)

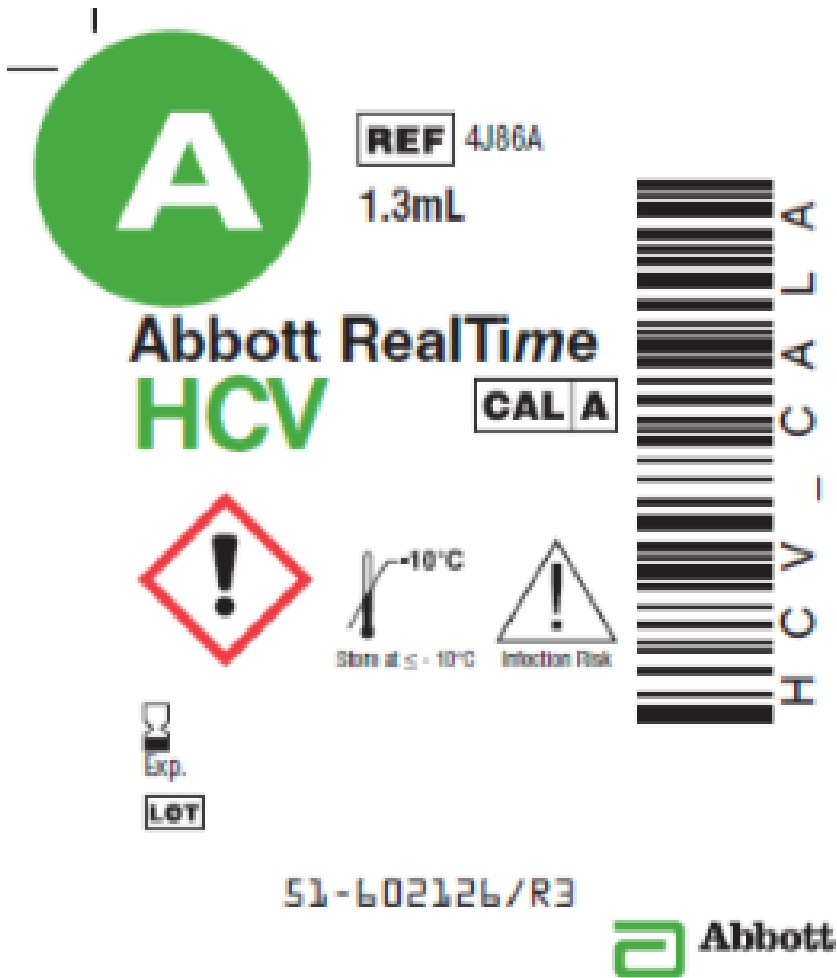
(en) Product of USA / (de) Produkt aus USA / (fr) Produit aux Etats-Unis / (es) Producto de EE. UU. / (it) Prodotto degli USA / (pt) Produto dos EUA

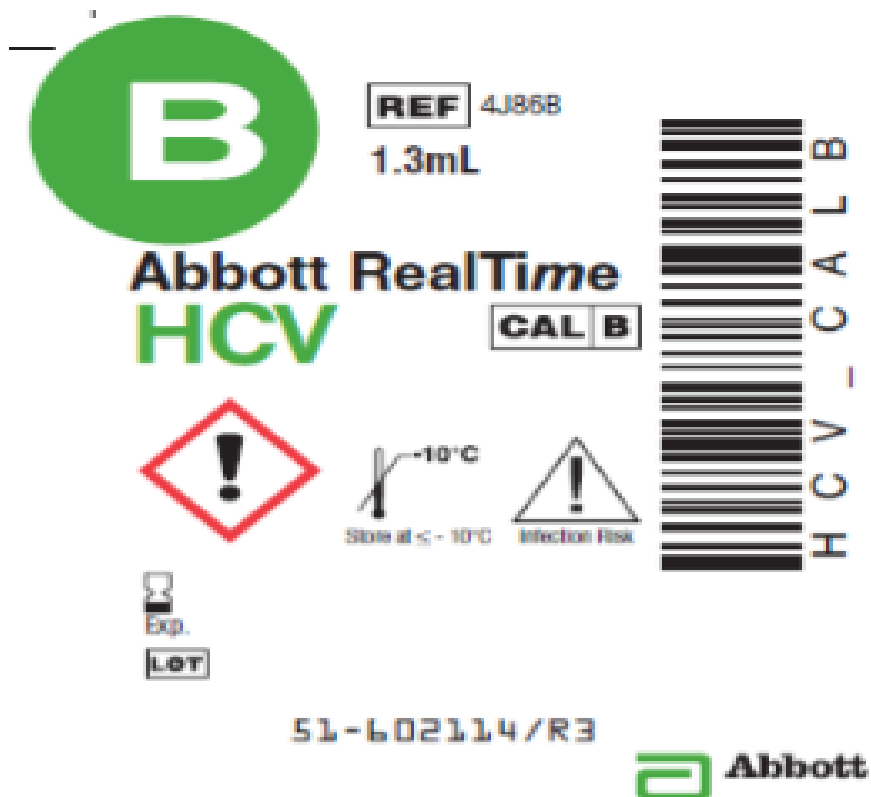
1.2 Abbott RealTime HCV Control Kit box label (4J86-80)

1.2.1 Abbott RealTime HCV Negative Control vial Label (4J86Z)**1.2.2 Abbott RealTime HCV Low Positive Control vial Label (4J86W)**

1.2.3 Abbott RealTime HCV High Positive Control vial Label (4J86X)**1.3 Abbott RealTime HCV Calibrator Kit box label (4J86-70)**

1.3.1 Abbott RealTime HCV CAL A vial label (4J86A)



1.3.2 Abbott RealTime HCV CAL B vial label (4J86B)

2. Instructions for use²

² English version of the IFU was the one that was assessed by WHO. It is the responsibility of the manufacturer to ensure correct translation into other languages.

HCV Calibrators

NOTE: Changes Highlighted

Key to Symbols Used	
REF	Reference Number
IVD	In Vitro Diagnostic Medical Device
LOT	Lot Number
	Use by
CAL A	Calibrator A
CAL B	Calibrator B
	Upper limit of temperature
	Consult instructions for use
	Warning
	CAUTION
EC REP	Authorized representative in the European Community
	Manufacturer

Notice to User

If a serious incident occurs in relation to this device, the incident should be reported to the manufacturer and to the appropriate competent authority of the member state in which the user and/or the patient is established. To report to the manufacturer, see the contact information provided in the Customer service section or Technical assistance section of these instructions.

Intended Use

The Abbott RealTime HCV Calibrators are for calibration of the Abbott RealTime HCV assay when used for the quantitative determination of Hepatitis C Virus (HCV) RNA in human serum and plasma from HCV infected individuals.

Intended User

The intended users for the Abbott RealTime HCV Calibrators are laboratory professionals.

Contents

- CAL A Abbott RealTime HCV Calibrator A (List No. 4J86A)** (12 vials, 1.3 mL per vial). Noninfectious Armored RNA® with HCV sequences in negative human plasma. Negative human plasma tested and found to be nonreactive for HBsAg, HBV DNA, HIV RNA, HCV RNA, anti-HIV-1/HIV-2, and anti-HCV. Preservatives: 0.1% ProClin® 300 and 0.15% ProClin 950.
 - CAL B Abbott RealTime HCV Calibrator B (List No. 4J86B)** (12 vials, 1.3 mL per vial). Noninfectious Armored RNA with HCV sequences in negative human plasma. Negative human plasma tested and found to be nonreactive for HBsAg, HBV DNA, HIV RNA, HCV RNA, anti-HIV-1/HIV-2, and anti-HCV. Preservatives: 0.1% ProClin 300 and 0.15% ProClin 950.
- Calibrator concentrations are specified in each Abbott RealTime HCV Calibrator Kit Card.
 - The Abbott RealTime HCV Calibrator Kit must only be used with the Abbott RealTime HCV assay (List No. 4J86-90).

Standardization

Abbott manufactures internal reference standards for the Abbott RealTime HCV assay. These internal standards are referenced to the Second WHO International Standard for Hepatitis C Virus RNA (NIBSC Code 96/798)¹ at each concentration level. The Abbott RealTime HCV calibrators are manufactured against these internal standards.

Precautions

- IVD** In Vitro Diagnostic Medical Device
- For In Vitro Diagnostic Use Only**
- Do not use beyond expiration date.



CAUTION: This preparation contains human sourced and/or potentially infectious components. Components sourced from human blood have been tested and found to be nonreactive by FDA-licensed tests for antibody to HCV, antibody to HIV-1, antibody to HIV-2, and HBsAg. The material is also tested and found to be negative by FDA-licensed PCR methods for HIV-1 RNA and HCV RNA. No known test method can offer complete assurance that products derived from human sources or inactivated microorganisms will not transmit infection. These reagents and human specimens should be handled as if infectious using safe laboratory procedures, such as those outlined in Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories,² OSHA Standards on Bloodborne Pathogens,³ CLSI Document M29-A4,⁴ and other appropriate biosafety practices.⁵ Therefore all human sourced materials should be considered infectious.

These precautions include, but are not limited to, the following:

- Wear gloves when handling specimens or reagents.
- Do not pipette by mouth.
- Do not eat, drink, smoke, apply cosmetics, or handle contact lenses in areas where these materials are handled.
- Clean and disinfect spills of specimens by including the use of a tuberculocidal disinfectant such as 1.0% sodium hypochlorite or other suitable disinfectant.²
- Decontaminate and dispose of all potentially infectious materials in accordance with local, state and federal regulations.⁵

Components of the Abbott RealTime HCV Calibrator Kit (List No. 4J86-70) contain the following components:

- 2-Methyl-2H-isothiazol-3-one
- Reaction mass of: 5-chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-one (EC no. 247-500-7) and 2-methyl-2H-isothiazol-3-one (EC no. 220-239-6)(3:1)
- Reaction mass of: 5-chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-one (EC no. 247-500-7) and 2-methyl-4-isothiazolin-3-one (EC no. 220-239-6)(3:1)

The following warnings apply:



Warning

H317	May cause an allergic skin reaction.
P261	Avoid breathing mist / vapours / spray.
P280	Wear protective gloves / protective clothing / eye protection.
P272	Contaminated work clothing should not be allowed out of the workplace.
P302+P352	IF ON SKIN: Wash with plenty of water.
P333+P313	If skin irritation or rash occurs: Get medical advice / attention.
P362+P364	Take off contaminated clothing and wash it before reuse.
P501	Dispose of contents / container in accordance with local regulations.



Consult instructions for use



Store at $\leq -10^{\circ}\text{C}$

Shipping Conditions

Ship on dry ice.

BIBLIOGRAPHY

1. Saldanha J, Lelie N, Heath A. Establishment of the first international standard for nucleic acid amplification technology (NAT) assays for HCV RNA. *Vox Sang.* 1999;76:149-58.
2. US Department of Health and Human Services. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*. 5th ed. Washington, DC: US Government Printing Office; December 2009. [Also available online. Type> www.cdc.gov, search>BMBL5>look up sections III and IV.]
3. US Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration. 29 CFR Part 1910.1030. *Bloodborne Pathogens*.
4. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections: Approved Guideline—Fourth Edition*. CLSI Document M29-A4. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2014.
5. World Health Organization. *Laboratory Biosafety Manual*. 3rd ed. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2004.

Technical Assistance

For technical assistance, call Abbott Technical Services at 1-800-553-7042 (within the US) or +49-6122-580 (outside the US), or visit the Abbott website at www.molecular.abbott.

SUMMARY OF SAFETY AND PERFORMANCE STATEMENT

A summary of safety and performance (SSP) for this device is available at <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>. This is the SSP location after the launch of European Database on Medical Devices. Search for device using UDI-DI provided on the outer packaging of the device.

Armored RNA is a registered trademark of Ambion.

ProClin is a registered trademark of Rohm and Haas.

Abbott RealTime is a trademark of Abbott.

The Abbott RealTime HCV Calibrators Kit is imported into the European Union by Abbott Diagnostics GmbH, located at Max-Planck-Ring 2, 65205 Wiesbaden, Germany.



Abbott Molecular Inc.
1300 East Touhy Avenue
Des Plaines, IL 60018 USA



Abbott GmbH
Max-Planck-Ring 2
65205 Wiesbaden, Germany

©2005, 2024 Abbott. All Rights Reserved.

February 2024

HCV Controls

NOTE: Changes Highlighted

Key to Symbols Used	
REF	Reference Number
IVD	In Vitro Diagnostic Medical Device
LOT	Lot Number
CONTROL -	Negative Control
CONTROL L	Low Positive Control
CONTROL H	High Positive Control
 -10°C	Upper limit of temperature
	Warning
	Consult instructions for use
	CAUTION
EC REP	Authorized representative in the European Community
	Manufacturer

Notice to User

If a serious incident occurs in relation to this device, the incident should be reported to the manufacturer and to the appropriate competent authority of the member state in which the user and/or the patient is established. To report to the manufacturer, see the contact information provided in the Customer service section or Technical assistance section of these instructions.

Intended Use

The Abbott RealTime HCV Controls are used to establish run validity of the Abbott RealTime HCV assay when used for the quantitation of Hepatitis C Virus (HCV) RNA in human serum and plasma from HCV infected individuals.

Intended User

The intended users for the Abbott RealTime HCV Controls are laboratory professionals.

Contents

- CONTROL - Abbott RealTime HCV Negative Control** (List No. 4J86Z) (8 vials, 1.8 mL per vial). Negative human plasma. Negative human plasma tested and found to be nonreactive for HBsAg, HBV DNA, HIV RNA, HCV RNA, anti-HIV-1/HIV-2, and anti-HCV. Preservatives: 0.1% ProClin® 300 and 0.15% ProClin 950.
- CONTROL L Abbott RealTime HCV Low Positive Control** (List No. 4J86W) (8 vials, 1.3 mL per vial). Noninfectious Armored RNA® with HCV sequences in negative human plasma. Negative human plasma tested and found to be nonreactive for HBsAg, HBV DNA, HIV RNA, HCV RNA, anti-HIV-1/HIV-2, and anti-HCV. Preservatives: 0.1% ProClin 300 and 0.15% ProClin 950.
- CONTROL H Abbott RealTime HCV High Positive Control** (List No. 4J86X) (8 vials, 1.3 mL per vial). Noninfectious Armored RNA with HCV sequences in negative human plasma. Negative human plasma tested and found to be nonreactive for HBsAg, HBV DNA, HIV RNA, HCV RNA, anti-HIV-1/HIV-2, and anti-HCV. Preservatives: 0.1% ProClin 300 and 0.15% ProClin 950.

- Control concentrations are specified in each Abbott RealTime HCV Control Kit Card.
- The Abbott RealTime HCV Control Kit must only be used with the Abbott RealTime HCV assay (List No. 4J86-90).

Precautions

- IVD In Vitro Diagnostic Medical Device**
- For In Vitro Diagnostic Use Only**
- Do not use beyond expiration date.



CAUTION: This preparation contains human sourced and/or potentially infectious components. Components sourced from human blood have been tested and found to be nonreactive by FDA-licensed tests for antibody to HCV, antibody to HIV-1, antibody to HIV-2, and HBsAg. The material is also tested and found to be negative by FDA-licensed PCR methods for HIV-1 RNA and HCV RNA. No known test method can offer complete assurance that products derived from human sources or inactivated microorganisms will not transmit infection. These reagents and human specimens should be handled as if infectious using safe laboratory procedures, such as those outlined in Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories,¹ OSHA Standards on Bloodborne Pathogens,² CLSI Document M29-A4,³ and other appropriate biosafety practices.⁴ Therefore all human sourced materials should be considered infectious.

These precautions include, but are not limited to, the following:

- Wear gloves when handling specimens or reagents.
- Do not pipette by mouth.
- Do not eat, drink, smoke, apply cosmetics, or handle contact lenses in areas where these materials are handled.
- Clean and disinfect spills of specimens by including the use of a tuberculocidal disinfectant such as 1.0% sodium hypochlorite or other suitable disinfectant.¹
- Decontaminate and dispose of all potentially infectious materials in accordance with local, state and federal regulations.⁴

Components of the Abbott RealTime HCV Control Kit (List No. 4J86-80) contain the following components:

- 2-Methyl-2H-isothiazol-3-one
- Reaction mass of: 5-chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-one (EC no. 247-500-7) and 2-methyl-2H-isothiazol-3-one (EC no. 220-239-6)(3:1)
- Reaction mass of: 5-chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-one (EC no. 247-500-7) and 2-methyl-4-isothiazolin-3-one (EC no. 220-239-6)(3:1)

The following warnings apply:



Warning

H317	May cause an allergic skin reaction.
P261	Avoid breathing mist / vapours / spray.
P280	Wear protective gloves / protective clothing / eye protection.
P272	Contaminated work clothing should not be allowed out of the workplace.
P302+P352	IF ON SKIN: Wash with plenty of water.
P333+P313	If skin irritation or rash occurs: Get medical advice / attention.
P362+P364	Take off contaminated clothing and wash it before reuse.
P501	Dispose of contents / container in accordance with local regulations.



Consult instructions for use



Store at $\leq -10^{\circ}\text{C}$

Shipping Conditions

Ship on dry ice.

BIBLIOGRAPHY

1. US Department of Health and Human Services. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*. 5th ed. Washington, DC: US Government Printing Office; December 2009.
[Also available online. Type> www.cdc.gov, search>BMBL5>look up sections III and IV.]
2. US Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration. 29 CFR Part 1910.1030. *Bloodborne Pathogens*.
3. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections: Approved Guideline—Fourth Edition*. CLSI Document M29-A4. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2014.
4. World Health Organization. *Laboratory Biosafety Manual*. 3rd ed. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2004.

Technical Assistance

For technical assistance, call Abbott Technical Services at 1-800-553-7042 (within the US) or +49-6122-580 (outside the US), or visit the Abbott website at www.molecular.abbott.

SUMMARY OF SAFETY AND PERFORMANCE STATEMENT

A summary of safety and performance (SSP) for this device is available at <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>. This is the SSP location after the launch of European Database on Medical Devices. Search for device using UDI-DI provided on the outer packaging of the device.

Armored RNA is a registered trademark of Ambion.

ProClin is a registered trademark of Rohm and Haas.

Abbott RealTime is a trademark of Abbott.

The Abbott RealTime HCV Controls Kit is imported into the European Union by Abbott Diagnostics GmbH, located at Max-Planck-Ring 2, 65205 Wiesbaden, Germany.



Abbott Molecular Inc.
1300 East Touhy Avenue
Des Plaines, IL 60018 USA



Abbott GmbH
Max-Planck-Ring 2
65205 Wiesbaden, Germany

© 2005, 2024 Abbott. All Rights Reserved.
February 2024

REF 4J86

REF 4J86

51-602124/R13

51-602124/R13

NOTE: Changes Highlighted

Key to Symbols Used	
REF	Reference Number
LOT	Lot Number
IVD	In Vitro Diagnostic Medical Device
	Use By
CONTROL -	Negative Control
CONTROL L	Low Positive Control
CONTROL H	High Positive Control
CAL A	Calibrator A
CAL B	Calibrator B
INTERNAL CONTROL	Internal Control
AMPLIFICATION REAGENT PACK	Amplification Reagent Pack
	Upper Limit of Temperature
	Consult instructions for use
	Caution
	Warning
	Manufacturer
EC REP	Authorized Representative in the European Community

See **REAGENTS** section for a full explanation of symbols used in reagent component naming.

NOTICE TO USER

If a serious incident occurs in relation to this device, the incident should be reported to the manufacturer and to the appropriate competent authority of the member state in which the user and/or the patient is established. To report to the manufacturer, see the contact information provided in the Customer service section or Technical assistance section of these instructions.

CUSTOMER SERVICE

INTERNATIONAL: CALL YOUR ABBOTT REPRESENTATIVE

This package insert must be read carefully prior to use. Package insert instructions must be followed accordingly. Reliability of assay results cannot be guaranteed if there are any deviations from the instructions in this package insert.

NAME

Abbott RealTime HCV

INTENDED USE

The Abbott RealTime HCV assay is an in vitro reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) assay for the quantitation of hepatitis C viral ribonucleic acid (HCV RNA) in human serum and plasma from HCV-infected individuals. The Abbott RealTime HCV assay is intended for use as an aid in the management of HCV-infected patients undergoing antiviral therapy. The Abbott RealTime HCV assay is not for screening blood, plasma, serum or tissue donors for HCV, or to be used as a diagnostic test to confirm the presence of HCV infection.

INTENDED USER

The intended users for the Abbott RealTime HCV assay are laboratory professionals.

SUMMARY AND EXPLANATION OF THE TEST

HCV is a single-stranded RNA virus, with a genome of 9,500 nucleotides.¹ HCV has been identified as the major etiological agent for post-transfusion non-A, non-B hepatitis worldwide.^{2,3} HCV has been transmitted primarily through intravenous drug use and through blood products. Sensitive serological tests for HCV antibodies have greatly reduced the incidence of new infections from donated blood. About 85% of HCV-infected individuals develop chronic hepatitis, with up to 20% of chronically infected individuals developing cirrhosis. In patients with cirrhosis, the incidence of hepatocellular carcinoma is 1-4% per year.^{4,5} Quantitation of HCV RNA has been instrumental in understanding the effectiveness of antiviral response to interferon monotherapy, interferon plus ribavirin combination therapy, and peginterferon plus ribavirin combination therapy.⁶⁻¹⁰ Current guidelines for the management and treatment of HCV recommend quantitative testing for HCV RNA before the start of antiviral therapy, during therapy, and after the conclusion of treatment. The objective of treatment is a sustained virological response (SVR), defined as the absence of HCV RNA detectable by a sensitive test after the end of treatment. SVR is almost always preceded by an early virological response (EVR), defined as a 2-log or greater decrease in HCV viral load after 12 weeks of therapy.^{4,5,11}

HCV RNA in serum or plasma can be quantitated using nucleic acid amplification or signal amplification technologies.¹²⁻¹⁴ The Abbott RealTime HCV assay uses RT-PCR technology combined with homogeneous real time fluorescent detection for the quantitation of HCV RNA. The selection of a conserved region of the HCV genome provides for the detection of genotypes 1 through 6. The assay is standardized against the Second WHO International Standard for Hepatitis C Virus RNA (NIBSC Code 96/798)¹⁵ and results are reported in international units/mL (IU/mL).

BIOLOGICAL PRINCIPLES OF THE PROCEDURE

The Abbott RealTime HCV assay consists of 3 reagent kits:

- Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit
- Abbott RealTime HCV Control Kit
- Abbott RealTime HCV Calibrator Kit

The Abbott RealTime HCV assay uses RT-PCR¹⁶ to generate amplified product from the RNA genome of HCV in clinical specimens. An RNA sequence that is unrelated to the HCV target sequence is introduced into each specimen at the beginning of sample preparation.

This unrelated RNA sequence is simultaneously amplified by RT-PCR and serves as an internal control (IC) to demonstrate that the process has proceeded correctly for each sample. The amount of HCV target sequence that is present at each amplification cycle is measured through the use of fluorescent-labeled oligonucleotide probes on the Abbott *m2000rt* instrument. The probes do not generate signal unless they are specifically bound to the amplified product. The amplification cycle at which fluorescent signal is detected by the Abbott *m2000rt* is proportional to the log of the HCV RNA concentration present in the original sample.

Sample Preparation

The purpose of sample preparation is to extract and concentrate the target RNA molecules, to make the target accessible for amplification, and to remove potential inhibitors of amplification from the extract.

The Abbott *mSample* Preparation System (4 × 24 Preps) uses magnetic particle technology to capture nucleic acids and washes the particles to remove unbound sample components. The bound nucleic acids are eluted and transferred to output tubes or a 96 deep-well plate. The nucleic acids are then ready for amplification. The IC is taken through the entire sample preparation procedure along with the calibrators, controls, and specimens.

The Abbott *m2000sp* System can be used to prepare samples for the Abbott RealTime HCV assay. The Abbott *m2000sp* provides automated sample eluate transfer and reaction assembly in the Abbott 96-Well Optical Reaction Plate. Alternatively, samples can be prepared manually using the Abbott *mSample* Preparation System followed by manual reaction assembly.

Reagent Preparation and Reaction Plate Assembly

The Abbott *m2000sp* combines the Abbott RealTime HCV amplification reagent components (HCV Oligonucleotide Reagent, Thermostable rTth Polymerase Enzyme, and Activation Reagent). The Abbott *m2000sp* dispenses the resulting master mix to the Abbott 96-Well Optical Reaction Plate along with aliquots of the nucleic acid samples prepared by the Abbott *m2000sp*. The plate is ready, after manual application of the optical seal, for transfer to the Abbott *m2000rt*.

Manual sample preparation method users manually combine the Abbott RealTime HCV amplification reagent components to create the amplification master mix and transfer aliquots of the master mix and sample eluates to the reaction plate. The plate is ready, after manual application of the optical seal and centrifugation, for transfer to the Abbott *m2000rt*.

Amplification

During the amplification reaction on the Abbott *m2000rt*, the target RNA is converted to cDNA by the reverse transcriptase activity of the thermostable rTth DNA polymerase. First, the HCV and IC reverse primers anneal to their respective targets and are extended during a prolonged incubation period. After a denaturation step, in which the temperature of the reaction is raised above the melting point of the double-stranded cDNA:RNA product, a second primer anneals to the cDNA strand and is extended by the DNA polymerase activity of the rTth enzyme to create a double-stranded DNA product.

During each round of thermal cycling, amplification products dissociate to single strands at high temperature, allowing primer annealing and extension as the temperature is lowered. Exponential amplification of the product is achieved through repeated cycling between high and low temperatures, resulting in a billion-fold or greater amplification of target sequences. Amplification of both targets (HCV and IC) takes place simultaneously in the same reaction.

The target sequence for the Abbott RealTime HCV assay is in the 5'UTR region of the HCV genome. This region is specific for HCV and is highly conserved.¹⁷ The primers are designed to hybridize to the 5'UTR region with the fewest possible mismatches among HCV genotypes 1 through 6. The IC target sequence is derived from the hydroxypyruvate reductase gene from the pumpkin plant, *Cucurbita pepo*, and is delivered in an Armored RNA[®] particle that has been diluted in negative human plasma.

Detection

During the read cycles of amplification on the Abbott *m2000rt*, the temperature is lowered further to allow fluorescent detection of amplification products as the HCV and IC probes anneal to their targets (real-time fluorescence detection). The HCV and IC probes are single-stranded DNA oligonucleotides consisting of a probe sequence with a fluorescent moiety that is covalently linked to the 5' end of the probe and a quenching moiety that is covalently linked to the 3' end of the probe. In the absence of the HCV or IC target sequences, probe fluorescence is quenched. In the presence of HCV or IC target sequences, probe

hybridization to complementary sequences separates the fluorophore and the quencher and allows fluorescent emission and detection. The HCV and IC probes are each labeled with a different fluorophore, thus allowing for simultaneous detection of both amplified products at each cycle. The amplification cycle at which fluorescent signal is detected by the Abbott *m2000rt* is proportional to the log of the HCV RNA concentration present in the original sample.

PREVENTION OF NUCLEIC ACID CONTAMINATION

The possibility of nucleic acid contamination is minimized because:

- Reverse transcription, PCR amplification, and oligonucleotide hybridization occur in a sealed Abbott 96-Well Optical Reaction Plate.
- Detection is carried out automatically without the need to open the Abbott 96-Well Optical Reaction Plate.
- Pipettes with aerosol barrier tips or disposable transfer pipettes are used for all pipetting. The disposable pipettes or pipette tips are discarded after use.
- Separate dedicated areas are used to perform the Abbott RealTime HCV assay. Refer to the **SPECIAL PRECAUTIONS** section of this package insert.

REAGENTS

Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit (List No. 4J86-90)

1. **INTERNAL CONTROL** Abbott RealTime HCV Internal Control (List No. 4J86Y) (4 vials, 1.2 mL per vial)
< 0.01% noninfectious armored RNA with internal control sequences in negative human plasma. Negative human plasma tested and found to be nonreactive for HBsAg, HBV DNA, HCV RNA, HIV RNA, anti-HIV-1/HIV-2, and anti-HCV. Preservatives: 0.1% ProClin[®] 300 and 0.15% ProClin 950.
2. **AMPLIFICATION REAGENT PACK** Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Pack (List No. 4J86) (4 packs, 24 tests/pack)
 - 1 bottle (0.141 mL). Thermostable rTth Polymerase Enzyme (2.9 to 3.5 units/μL) in buffered solution.
 - 1 bottle (1.10 mL). HCV Oligonucleotide Reagent. < 0.1% synthetic oligonucleotides (4 primers and 2 probes) and < 0.3% dNTPs in a buffered solution with a reference dye. Preservatives: 0.1% ProClin 300 and 0.15% ProClin 950.
 - 1 bottle (0.40 mL). Activation Reagent. 30 mM manganese chloride solution. Preservatives: 0.1% ProClin 300 and 0.15% ProClin 950.

Abbott RealTime HCV Control Kit (List No. 4J86-80)

1. **CONTROL -** Abbott RealTime HCV Negative Control (List No. 4J86Z) (8 vials, 1.8 mL per vial)
Negative human plasma tested and found to be nonreactive for HBsAg, HBV DNA, HCV RNA, HIV RNA, anti-HIV-1/HIV-2, and anti-HCV. Preservatives: 0.1% ProClin 300 and 0.15% ProClin 950.
2. **CONTROL L** Abbott RealTime HCV Low Positive Control (List No. 4J86W) (8 vials, 1.3 mL per vial)
Noninfectious armored RNA with HCV sequences in negative human plasma. Negative human plasma tested and found to be nonreactive for HBsAg, HBV DNA, HCV RNA, HIV RNA, anti-HIV-1/HIV-2, and anti-HCV. Preservatives: 0.1% ProClin 300 and 0.15% ProClin 950.
3. **CONTROL H** Abbott RealTime HCV High Positive Control (List No. 4J86X) (8 vials, 1.3 mL per vial)
Noninfectious armored RNA with HCV sequences in negative human plasma. Negative human plasma tested and found to be nonreactive for HBsAg, HBV DNA, HCV RNA, HIV RNA, anti-HIV-1/HIV-2, and anti-HCV. Preservatives: 0.1% ProClin 300 and 0.15% ProClin 950.

Abbott RealTime HCV Calibrator Kit (List No. 4J86-70)

1. **CAL A** Abbott RealTime HCV Calibrator A (List No. 4J86A) (12 vials, 1.3 mL per vial)
Noninfectious armored RNA with HCV sequences in negative human plasma. Negative human plasma tested and found to be nonreactive for HBsAg, HBV DNA, HCV RNA, HIV RNA, anti-HIV-1/HIV-2, and anti-HCV. Preservatives: 0.1% ProClin 300 and 0.15% ProClin 950.
2. **CAL B** Abbott RealTime HCV Calibrator B (List No. 4J86B) (12 vials, 1.3 mL per vial)
Noninfectious armored RNA with HCV sequences in negative human plasma. Negative human plasma tested and found to be nonreactive for HBsAg, HBV DNA, HCV RNA, HIV RNA, anti-HIV-1/HIV-2, and anti-HCV. Preservatives: 0.1% ProClin 300 and 0.15% ProClin 950.

WARNINGS AND PRECAUTIONS

IVD

For In Vitro Diagnostic Use

The Abbott RealTime HCV assay is not for screening blood, plasma, serum or tissue donors for HCV, or to be used as a diagnostic test to confirm the presence of HCV infection.

Safety Precautions

Refer to the Abbott *m2000sp* and Abbott *m2000rt* Operations Manuals, Hazard Section, or the Manual Sample Preparation for Abbott RealTime RNA Assays, Handling Precaution section, for instructions on safety precautions.



CAUTION: This preparation contains human sourced and/or potentially infectious components. Components sourced from human blood have been tested and found to be nonreactive by FDA-licensed tests for antibody to HCV, antibody to HIV-1, antibody to HIV-2, and HBsAg. The material is also tested and found to be negative by FDA-licensed PCR methods for HIV-1 RNA and HCV RNA. No known test method can offer complete assurance that products derived from human sources or inactivated microorganisms will not transmit infection. These reagents and human specimens should be handled as if infectious using safe laboratory procedures, such as those outlined in Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories,¹⁸ OSHA Standards on Bloodborne Pathogens,¹⁹ CLSI Document M29-A4,²⁰ and other appropriate biosafety practices.²¹ Therefore all human sourced materials should be considered infectious.

These precautions include, but are not limited to, the following:

- Wear gloves when handling specimens or reagents.
- Do not pipette by mouth.
- Do not eat, drink, smoke, apply cosmetics, or handle contact lenses in areas where these materials are handled.
- Clean and disinfect spills of specimens by including the use of a tuberculocidal disinfectant such as 1.0% sodium hypochlorite or other suitable disinfectant.¹⁸
- Decontaminate and dispose of all potentially infectious materials in accordance with local, state, and federal regulations.²¹

Components of the Abbott RealTime HCV Calibrator Kit (List No. 4J86-70), the Abbott RealTime HCV Control Kit (List No. 4J86-80), and the Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit (List No. 4J86-90) contain the following components:

- 2-Methyl-2H-isothiazol-3-one
- Reaction mass of: 5-chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-one (EC no. 247-500-7) and 2-methyl-2H-isothiazol-3-one (EC no. 220-239-6)(3:1)
- Reaction mass of: 5-chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-one (EC no. 247-500-7) and 2-methyl-4-isothiazolin-3-one (EC no. 220-239-6)(3:1)

The following warnings apply:



Warning

H317	May cause an allergic skin reaction.
P261	Avoid breathing mist/vapours/spray.
P272	Contaminated work clothing should not be allowed out of the workplace.
P280	Wear protective gloves/protective clothing/eye protection.
P302+P352	IF ON SKIN: Wash with plenty of water.
P333+P313	If skin irritation or rash occurs: Get medical advice/attention.
P362+P364	Take off contaminated clothing and wash before reuse.
P501	Dispose of contents / container in accordance with local regulations.

SPECIAL PRECAUTIONS

Handling Precautions

The Abbott RealTime HCV assay is only for use with human serum and plasma specimens that have been handled and stored in capped tubes as described in the **SPECIMEN COLLECTION, STORAGE, AND TRANSPORT TO THE TEST SITE** section.

During preparation of samples, compliance with good laboratory practices is essential to minimize the risk of cross-contamination between samples, and the inadvertent introduction of ribonucleases (RNases) into samples during and after the extraction procedure.

Proper aseptic technique should always be used when working with RNA.

Amplification technologies such as PCR are sensitive to accidental introduction of product from previous amplification reactions. Incorrect results could occur if either the clinical specimen or the RealTime reagents used in the amplification step become contaminated by accidental introduction of even a few molecules of amplification product. Measures to reduce the risk of contamination in the laboratory include physically separating the activities involved in performing PCR in compliance with good laboratory practices.

Work Areas

Use 3 dedicated areas within the laboratory for performing the Abbott RealTime HCV assay with manual sample preparation using the Abbott mSample Preparation System and the Abbott m2000rt:

- The **Reagent Preparation Area** is dedicated to combining the Abbott RealTime HCV amplification reagent components to create the amplification master mix and transferring aliquots of the master mix to the reaction plate. Laboratory coats, pipettes, pipette tips, and vortexers used in the **Reagent Preparation Area** must remain in this area and not be moved to either the **Sample Preparation Area** or the **Amplification Area**.
- The **Sample Preparation Area** is dedicated to processing samples (specimens, Abbott RealTime HCV Controls, and Calibrators), and to adding processed samples, controls, and calibrators to the Abbott 96-Well Optical Reaction Plate. **All reagents used in the Sample Preparation Area should remain in this dedicated area at all times. Laboratory coats, pipettes, pipette tips, and vortexers used in the Sample Preparation Area must remain in this area and not be moved to either the Reagent Preparation Area or the Amplification Area. Do not bring amplification product into the Sample Preparation Area.**
- The **Amplification Area** is dedicated to the amplification and detection of amplified product. Laboratory coats and equipment used in the **Amplification Area** must remain in this area and not be moved to either the **Reagent Preparation Area** or the **Sample Preparation Area**.

Only 2 dedicated areas, Sample Preparation Area and Amplification Area, are recommended when the Abbott m2000sp and Abbott m2000rt are used.

Components contained within a kit are intended to be used together. Do not mix components from different kit lots. For example, do not use the negative control from control kit lot X with the positive controls from control kit lot Y.

Do not use kits or reagents after the dates shown on kit labels.

Work areas and instrument platforms must be considered potential sources of contamination. Change gloves after contact with potential contaminants (specimens, eluates, and/or amplified product) before handling unopened reagents, negative control, positive controls, calibrators, or specimens. Refer to the Abbott *m2000sp* and Abbott *m2000rt* Operations Manuals for instrument cleaning procedures.

If the Abbott *m2000sp* instrument run is aborted, dispose of all commodities and reagents according to the Abbott *m2000sp* Operations Manual. If the Abbott *m2000sp* master mix addition protocol is aborted, seal the Abbott 96-Well Optical Reaction Plate in a sealable plastic bag and dispose according to the Abbott *m2000sp* Operations Manual, Hazards section, along with the gloves used to handle the plate.

If the Abbott *m2000rt* instrument run is interrupted or aborted, seal the Abbott 96-Well Optical Reaction Plate in a sealable plastic bag and dispose according to the Abbott *m2000rt* Operations Manual along with the gloves used to handle the plate.

Decontaminate and dispose of all potentially biohazardous materials in accordance with local, state, and federal regulations.²¹ All materials should be handled in a manner that minimizes the chance of potential contamination of the work area.

NOTE: Autoclaving the sealed Reaction Plate will not degrade the amplified product and may contribute to the release of the amplified product by opening the sealed plate. The laboratory area can become contaminated with amplified product if the waste materials are not carefully handled and contained before and after processing.

Aerosol Containment

To reduce the risk of nucleic acid contamination due to aerosols formed during manual pipetting, aerosol barrier pipette tips must be used for all manual pipetting. The pipette tips must be used only 1 time. Clean and disinfect spills of specimens and reagents as stated in the Abbott *m2000sp* and Abbott *m2000rt* Operations Manuals.

Contamination and Inhibition

The following precautions should be observed to minimize the risks of RNase contamination, cross-contamination between samples, and inhibition:

- Wear appropriate personal protective equipment at all times.
- Use powder-free gloves.
- Change gloves after having contact with potential contaminants (specimens, eluates, and/or amplified product).
- To reduce the risk of nucleic acid contamination due to aerosols formed during pipetting, pipettes with aerosol barrier tips must be used for all pipetting. The length of the tip should be sufficient to prevent contamination of the pipette barrel. While pipetting, care should be taken to avoid touching the pipette barrel to the inside of the sample tube or container. The use of extended aerosol barrier pipette tips is recommended.
- Change aerosol barrier pipette tips between ALL manual liquid transfers.
- The Abbott *m* Sample Preparation System (4 × 24 Preps) reagents are single use only. Use new reagent troughs or vessels, reaction vessels, and newly opened reagents for every new Abbott RealTime HCV assay run. At the end of each run, discard all remaining reagents from the worktable as stated in the Abbott *m2000sp* Operations Manual and the Abbott *m*Sample Preparation System (4 × 24 Preps) product information sheet.

STORAGE INSTRUCTIONS

Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit (List No. 4J86-90).

 -10°C The Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Pack and Internal Control vials must be stored at -10°C or colder when not in use. Care must be taken to separate the Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Pack that is in use from direct contact with samples, calibrators, and controls.

Abbott RealTime HCV Control Kit (List No. 4J86-80).

 -10°C The Abbott RealTime HCV Negative and Positive Controls must be stored at -10°C or colder.

Abbott RealTime HCV Calibrator Kit (List No. 4J86-70).

 -10°C The Abbott RealTime HCV Calibrator A and Calibrator B must be stored at -10°C or colder.

SHIPPING CONDITIONS

- Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit: Ship on dry ice.
- Abbott RealTime HCV Control Kit: Ship on dry ice.
- Abbott RealTime HCV Calibrator Kit: Ship on dry ice.

INDICATION OF INSTABILITY OR DETERIORATION OF REAGENTS

When a positive or negative control value is out of the expected range, it may indicate deterioration of the reagents. Associated test results are invalid and samples must be retested. Assay recalibration may be necessary.

INSTRUMENT PROCEDURE

The Abbott RealTime HCV application files must be installed on the Abbott *m2000sp* and Abbott *m2000rt* systems from the Abbott RealTime HCV *m2000* ROW System Combined Application CD-ROM prior to performing the assay. For detailed information on application file installation, refer to the Abbott *m2000sp* and Abbott *m2000rt* Operations Manuals, Operating Instructions section.

SPECIMEN COLLECTION, STORAGE, AND TRANSPORT TO THE TEST SITE

Specimen Collection and Storage

Human serum and plasma (EDTA and ACD-A) specimens may be used with the Abbott RealTime HCV assay. Follow the manufacturer's instructions for processing collection tubes.

Freshly drawn specimens (whole blood) may be held at 2°C to 30°C for up to 6 hours prior to centrifugation.

Separate serum or plasma from cells by centrifugation.

After centrifugation, serum or plasma may be removed from cells. Serum or plasma specimens may be stored:

- at 15°C to 30°C for up to 24 hours
- at 2°C to 8°C for up to 3 days
- at -70°C or colder for longer term²²⁻²⁵

Multiple freeze/thaw cycles should be avoided. If frozen, thaw specimens at 15°C to 30°C or at 2°C to 8°C. Once thawed, if specimens are not being processed immediately, they can be stored at 2°C to 8°C for up to 6 hours.

NOTE: Serum and plasma specimens should not be frozen in non-gel blood collection tubes.

Specimen Transport

Ship specimens according to recommended storage temperature and time listed in the **Specimen Collection and Storage** section above. For domestic and international shipments, specimens should be packaged and labeled in compliance with applicable state, federal, and international regulations covering the transport of clinical, diagnostic, or biological specimens.

ABBOTT REALTIME HCV ASSAY PROCEDURE

This Abbott RealTime HCV package insert contains 2 assay protocols:

- Samples prepared for amplification using the manual sample preparation method, follow **ASSAY PROTOCOL I**.
- Samples prepared for amplification using the Abbott *m2000sp* instrument follow **ASSAY PROTOCOL II**.
The Abbott RealTime HCV assay provides 2 sample volume options (0.2 mL and 0.5 mL). (See assay protocol step 6 and **INTERPRETATION OF RESULTS** section.)

Materials Provided

- Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit (List No. 4J86-90)

Materials Required But Not Provided

- Abbott RealTime HCV Calibrator Kit (List No. 4J86-70)
- Abbott RealTime HCV Control Kit (List No. 4J86-80)

For manual sample preparation, refer to the Materials and Equipment Required Section of the Manual Sample Preparation for Abbott RealTime RNA Assays procedure (List No. 06L73).

For Abbott *m2000sp* Instrument Sample Preparation Area

- Abbott *m2000sp* instrument
- 5 mL Reaction Vessels
- Abbott *m*Sample Preparation System (4 × 24 Preps) (List No. 04J70-24)
- Calibrated precision pipettes capable of delivering 20 to 1000 µL
- Aerosol barrier pipette tips for 20 to 1000 µL pipettes
- 13 to 16 mm sample tubes
- 200 µL and 1000 µL disposable tips
- Vortex mixer
- Abbott Optical Adhesive Covers (List No. 04J71-75)
- Abbott Adhesive Cover Applicators
- Abbott Splash-Free Support Base (List No. 9K31-01)
- Master Mix Vial
- 200 mL reagent vessels
- Abbott 96-Deep-Well Plate (List No. 04J71-30)
- Abbott RealTime HCV *m2000* ROW System Combined Application CD-ROM (List No. 1L69)
- Abbott 96-Well Optical Reaction Plate (List No. 04J71-70)
- Centrifuge capable of 2,000g

For Manual Sample Preparation Reagent Preparation Area

- PCR cooler, either StrataCooler® 96 Benchtop Cooler or Eppendorf PCR-Cooler
- Abbott 96-Well Optical Reaction Plate (List No. 04J71-70)
- Calibrated precision pipettes capable of delivering 20 to 1000 µL
- Aerosol barrier pipette tips for 20 to 1000 µL pipettes
- Single-use RNase/DNase-free tube or container
- Vortex mixer
- Abbott Optical Adhesive Covers (List No. 04J71-75)

For Abbott *m2000rt* Instrument Amplification Area

- Abbott *m2000rt* instrument
- Abbott RealTime HCV *m2000* ROW System Combined Application CD-ROM (List No. 1L69)
- Abbott *m2000rt* Optical Calibration Kit (List No. 04J71-93)

- Abbott Adhesive Cover Applicators
- Abbott Splash-Free Support Base (List No. 9K31-01)

Other Materials

- Biological safety cabinet approved for working with infectious materials
- Sealable plastic bags
- RNase-free water (Eppendorf or equivalent)*
- 1.7 mL molecular biology grade microcentrifuge tubes (Dot Scientific, Inc. or equivalent)*
- Cotton tip applicators (Puritan or equivalent)*

*NOTE: These 3 items are used in the procedure for Monitoring the Laboratory for the Presence of Contamination. Refer to the QUALITY CONTROL PROCEDURES section of this package insert.

Procedural Precautions

Read the instructions in this package insert carefully before processing samples.

The Abbott RealTime HCV Calibrators, Internal Control, Negative Control, and Low and High Positive Control vials are intended for single-use only and should be discarded after use.

Use aerosol barrier pipette tips or disposable pipettes only 1 time when pipetting specimens, IC, or amplification reagents. To prevent contamination to the pipette barrel while pipetting, care should be taken to avoid touching the pipette barrel to the inside of the sample tube or container. The use of extended aerosol barrier pipette tips is recommended.

Monitoring procedures for the presence of amplification product can be found in the QUALITY CONTROL PROCEDURES section in this package insert.

To reduce the risk of nucleic acid contamination, clean and disinfect spills of specimens by including the use of a tuberculocidal disinfectant such as 1.0% sodium hypochlorite or other suitable disinfectant.

The Abbott RealTime HCV Calibrators and Controls must be prepared in conjunction with the specimens to be tested. The use of the Abbott RealTime HCV Controls and Calibrators is integral to the performance of the Abbott RealTime HCV assay. Refer to the QUALITY CONTROL PROCEDURES section of this package insert for details.

ASSAY PROTOCOL I: MANUAL SAMPLE PREPARATION METHOD AND ABBOTT *m2000rt* INSTRUMENT

For a detailed description of how to perform an Abbott *m2000rt* protocol refer to the Abbott *m2000rt* Operations Manual, Operating Instructions section.

Laboratory personnel must be trained to operate the Abbott *m2000rt* instrument. The operator must have a thorough knowledge of the software applications and must follow good laboratory practices.

1. Thaw assay controls and IC at 15°C to 30°C or at 2°C to 8°C. Thaw calibrators at 15°C to 30°C or at 2°C to 8°C only if performing a calibration run; see QUALITY CONTROL PROCEDURES section of this package insert.
 - Once thawed, assay controls, IC, and calibrators can be stored at 2°C to 8°C for up to 24 hours before use.
 - Vortex each assay calibrator and each control 3 times for 2 to 3 seconds before use. Ensure that the contents of each vial are at the bottom after vortexing by tapping the vials on the bench to bring liquid to the bottom of the vial.
2. Thaw amplification reagents at 15°C to 30°C or at 2°C to 8°C and store at 2°C to 8°C until required for the amplification master mix procedure.
 - Once thawed, the amplification reagents can be stored at 2°C to 8°C for up to 24 hours if not used immediately.

Sample Preparation Area

For the manual sample preparation method refer to Extraction Protocol Section of the Manual Sample Preparation for Abbott RealTime RNA Assays procedure.

3. Gently invert the Abbott *mSample* Preparation bottles to ensure a homogeneous solution. If crystals are observed in any of the reagent bottles upon opening, allow the reagent to equilibrate at room temperature until the crystals disappear. Do not use the reagents until the crystals have dissolved.
4. Vortex each IC 3 times for 2 to 3 seconds before use.

5. Use a calibrated precision **PIPETTE DEDICATED FOR INTERNAL CONTROL USE ONLY** to add 500 µL of IC to each bottle of *mLysis* Buffer. Mix by gently inverting the container 5 to 10 times to minimize foaming.
6. A negative control, a low positive control, and a high positive control are included in each run.
 - The Abbott RealTime HCV assay provides 2 sample volume options for manual sample preparation (0.2 mL and 0.5 mL).
 - If frozen, thaw specimens at 15°C to 30°C or at 2°C to 8°C. Once thawed, specimens can be stored at 2°C to 8°C for up to 6 hours if not processed immediately.
 - Vortex each specimen 3 times for 2 to 3 seconds. **Specimens showing particulate matter or turbidity should be clarified by centrifugation at 2,000g for 5 minutes prior to testing.** Aliquot each specimen into clean tubes or vials if necessary. Avoid touching the inside of the cap when opening tubes.
 - **The assembly of the amplification master mix and sample eluates into the Abbott 96-Well Optical Reaction Plate (step 13) must be initiated within 1 hour after completion of Sample Preparation.**

Amplification Area

7. Switch on and initialize the Abbott *m2000rt* instrument.

NOTE: The Abbott *m2000rt* instrument requires 15 minutes to warm up.

8. Create the Abbott *m2000rt* test order. Refer to the Operating Instructions section of the Abbott *m2000rt* Operations Manual. From the Protocol screen, select the appropriate application file corresponding to the sample volume being tested.
 - Enter calibrator (needed if a calibration curve has not been stored on the Abbott *m2000rt*) and control lot specific values in the test order for accurate calibration and control evaluation. Lot-specific values are specified in each Abbott RealTime HCV Calibrator and Control Kit Card.

Reagent Preparation Area

All reagent preparation must take place in the dedicated Reagent Preparation Area. Refer to the Handling Precautions section of this package insert before preparing reagents.

NOTE: Change gloves before handling the amplification reagents.

9. Prepare the amplification master mix.
 - Each amplification reagent pack supports up to 24 reactions.
 - Prior to opening the amplification reagents, ensure that the contents of the vials are at the bottom by tapping the vials in an upright position on the bench to bring the liquid to the bottom of the vials.
 - Prepare the master mix by using a **PIPETTE DEDICATED FOR REAGENT USE ONLY** to add 271 µL of the HCV Activation Reagent (Reagent 1) and 949 µL of the HCV Oligonucleotide Reagent (Reagent 2) together in the Thermostable rTth DNA Polymerase Enzyme bottle (Reagent 3).
 - If performing 25 to 48 reactions, prepare a second amplification master mix with a second amplification reagent pack.
 - **The Abbott *m2000rt* protocol (step 16) must be initiated within 40 minutes of the addition of Activation Reagent into the first rTth Enzyme Reagent bottle (step 9).**
10. Pipette the contents of the master mix from the enzyme bottle(s) into a single-use RNase/DNase-free tube and vortex to mix.
11. Place an Abbott 96-Well Optical Reaction Plate in a PCR cooler, stored as indicated in the PCR cooler instruction manual. Using a **DEDICATED PIPETTE**, dispense 50 µL aliquots of the amplification master mix into the Abbott 96-Well Optical Reaction Plate. A calibrated repeat pipettor may be used. Visually verify that 50 µL has been dispensed into each well.
12. Transfer the Abbott 96-Well Optical Reaction Plate on the PCR cooler to the Sample Preparation Area.

Sample Preparation Area

13. In the Sample Preparation Area, transfer 50 µL of sample eluate to the Abbott 96-Well Optical Reaction Plate on the PCR cooler. **Use a separate pipette tip for each sample eluate transfer.** During the transfer of each sample, mix the reaction by pipetting up and down 3 to 5 times. Visually verify that 100 µL has been dispensed into each well.

- Seal the Abbott 96-Well Optical Reaction Plate according to the instructions in the Abbott *m2000rt* Operations Manual.
- Remove the Abbott 96-Well Optical Reaction Plate from the PCR cooler to the Abbott Splash-Free Support Base. Centrifuge the Abbott 96-Well Optical Reaction Plate in the Abbott Splash-Free Support Base at 500*g* for 5 minutes. Transfer to the Amplification Area.

NOTE: Do not transfer the PCR cooler to the Amplification Area.

Amplification Area

- Place the Abbott 96-Well Optical Reaction Plate in the Abbott *m2000rt* instrument. From the Protocol screen, select the appropriate application file corresponding to the sample volume being tested. Initiate the Abbott RealTime HCV protocol, as described in the Abbott *m2000rt* Operations Manual, Operating Instructions Section.

POST PROCESSING PROCEDURES

- Clean the PCR cooler as described in the PCR cooler instruction manual and return to the Reagent Preparation Area.
- Place the Abbott 96-Well Optical Reaction Plate in a sealable plastic bag and dispose of according to the Abbott *m2000rt* Operations Manual along with the gloves used to handle the plate.
- Clean the Splash-Free Support Base before next use, according to the Abbott *m2000rt* Operations Manual.
- For the manual sample preparation method users, refer to the Clean Up section of the Manual Sample Preparation for Abbott RealTime RNA Assays Procedure (List No. 06L73).

ASSAY PROTOCOL II: ABBOTT *m2000sp* INSTRUMENT AND ABBOTT *m2000rt* INSTRUMENT

For a detailed description of how to perform an Abbott *m2000sp* instrument and Abbott *m2000rt* instrument protocol refer to the Abbott *m2000sp* and Abbott *m2000rt* Operations Manuals, Operating Instructions sections. The 96-sample capability requires Abbott *m2000sp* Software Version 4.0 or higher. Please follow Abbott *m2000sp* Operations Manual (List 09K20-04 or higher) and addendum or addenda.

Laboratory personnel must be trained to operate the Abbott *m2000sp* and Abbott *m2000rt* instruments. The operator must have a thorough knowledge of the applications run on the instruments and must follow good laboratory practices.

- Thaw assay controls and IC at 15°C to 30°C or at 2°C to 8°C. Thaw calibrators at 15°C to 30°C or at 2°C to 8°C only if performing a calibration run; see **QUALITY CONTROL PROCEDURES** section of this package insert.
 - Once thawed, assay controls, IC, and calibrators can be stored at 2°C to 8°C for up to 24 hours before use.
 - Vortex each assay calibrator and each control 3 times for 2 to 3 seconds before use. Ensure that the contents of each vial are at the bottom after vortexing by tapping the vials on the bench to bring liquid to the bottom of the vial.
- Thaw amplification reagents at 15°C to 30°C or at 2°C to 8°C and store at 2°C to 8°C until required for the amplification master mix procedure.
 - Once thawed the amplification reagents can be stored at 2°C to 8°C for up to 24 hours if not used immediately.

NOTE: Use 1 bottle of *m*Lysis Buffer, 1 vial of IC, and 1 Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit to support up to 24 reactions. Use a second set of reagents to support 25 to 48 reactions, a third set of reagents to support 49 to 72 reactions and a fourth set of reagents to support 73 to 96 reactions WITH THE EXCEPTION OF *m*MICROPARTICLES. USE ONLY TWO BOTTLES OF *m*MICROPARTICLES WHEN PROCESSING 25 TO 96 REACTIONS.

- Gently invert the Abbott *m*Sample Preparation bottles to ensure a homogeneous solution. If crystals are observed in any of the reagent bottles upon opening, allow the reagent to equilibrate at room temperature until the crystals disappear. Do not use the reagents until the crystals have dissolved.
- Vortex each IC 3 times for 2 to 3 seconds before use.
- Use a calibrated precision **PIPETTE DEDICATED FOR INTERNAL CONTROL USE ONLY** to add 500 µL of IC to each bottle of *m*Lysis Buffer. Mix by gently inverting the container 5 to 10 times to minimize foaming.

- A total of 96 samples can be processed in each run.** A negative control, a low positive control, and a high positive control are included in each run, therefore allowing a maximum of 93 specimens to be processed per run.

- The Abbott RealTime HCV assay minimum sample volume and associated rack requirements on the Abbott *m2000sp* are:

		Abbott RealTime HCV Minimum Sample Volume Assay Application	
Rack	Tube Diameter ^a	0.2 mL	0.5 mL
13 mm	11.6 mm - 14.0 mm	0.7 mL	1.0 mL
16 mm	15.0 mm - 16.0 mm	1.0 mL	1.3 mL

^a Refers to sample tube outer diameter

- If frozen, thaw specimens at 15°C to 30°C or at 2°C to 8°C. Once thawed, specimens can be stored at 2°C to 8°C for up to 6 hours, if not processed immediately.
 - Vortex each specimen 3 times for 2 to 3 seconds before loading on the Abbott *m2000sp* worktable. **Specimens showing particulate matter or turbidity should be clarified by centrifugation at 2,000*g* for 5 minutes prior to testing.** Aliquot each specimen into clean tubes or vials if necessary. Refer to the Abbott *m2000sp* Operations Manual for tube sizes. Avoid touching the inside of the cap when opening tubes.
- Place the low and high positive controls, the negative control, the calibrators, if applicable, and the patient specimens into the Abbott *m2000sp* sample rack.
 - Place the 5 mL Reaction Vessels into the Abbott *m2000sp* 1 mL subsystem carrier.
 - Load the Abbott *m*Sample Preparation System reagents and the Abbott 96 Deep-Well Plate on the Abbott *m2000sp* worktable as described in the Abbott *m2000sp* Operations Manual, Operating Instructions.
 - From the Protocol screen, select the appropriate application file corresponding to the sample volume being tested. Initiate the sample extraction protocol as described in the Abbott *m2000sp* Operations Manual, Operating Instruction.
 - Enter calibrator (needed if a calibration curve has not been stored on the Abbott *m2000rt*) and control lot specific values in the **Sample Extraction: Worktable Setup, Calibrator and Control** fields. Lot-specific values are specified in each Abbott RealTime HCV Calibrator and Control Kit Card.
 - The Abbott *m2000sp* Master Mix Addition protocol (step 12) must be initiated within 1 hour after completion of Sample Preparation.**

NOTE: Change gloves before handling the amplification reagents.

- Load the amplification reagents and the master mix vial on the Abbott *m2000sp* worktable after sample preparation is completed.
 - Each amplification reagent pack supports up to 24 reactions.
 - Prior to opening the amplification reagents, ensure that the contents are at the bottom of the vials by tapping the vials in an upright position on the bench.
 - Remove and discard the amplification vial caps.
 - A second amplification reagent pack is required if performing 25 to 48 reactions.
 - A third amplification reagent pack is required if performing 49 to 72 reactions.
 - A fourth amplification reagent pack is required if performing 73 to 96 reactions.
- Select the appropriate deep well plate that matches the corresponding sample preparation extraction. Initiate the Abbott *m2000sp* Master Mix Addition protocol. Follow the instructions as described in the Abbott *m2000sp* Operations Manual, Operating Instructions section.

NOTE: The operator should not manually fill any empty/unfilled wells in the Abbott 96-Well Optical Reaction Plate.

- After sample extraction is complete, the Abbott *m2000sp* automatically fills any empty wells in the Abbott 96-Well Optical Reaction Plate when there are greater than 48 samples processed within a run. Plate fill is not performed for runs containing 48 samples or fewer.

- If prompted by the instrument, Reagent Carrier 2 should remain in place, minimally containing the reagent vessel for *mElution* Buffer (Reagent Carrier 2, location 6). If this reagent vessel has been unloaded, place a new reagent vessel with the *mElution* Buffer label into Reagent Carrier 2, location 6. System fluid will be added to the reagent vessel and used to fill empty wells. Once this process is complete, the system will continue with the master mix addition.

NOTE: System instructions for use of the automated plate-filling feature are found in the Abbott *m2000sp* Operations Manual (List No. 9K20-04 or higher), section 5, Operating Instructions, Sample Extraction—Closed Mode.

- The Abbott *m2000rt* protocol (step 16) must be started within 50 minutes of the initiation of the Master Mix Addition protocol (step 12).

NOTE: If the run is aborted for any reason subsequent to step 12, a new 96-well PCR plate must be used if the Abbott *m2000sp* Master Mix Addition Protocol (Step 12) will be repeated.

13. Switch on and initialize the Abbott *m2000rt* instrument in the amplification area.

NOTE: The Abbott *m2000rt* requires 15 minutes to warm-up.

NOTE: Remove gloves before returning to the sample preparation area.

14. Seal the Abbott 96-Well Optical Reaction Plate after the Abbott *m2000sp* instrument has completed addition of samples and master mix according to the Abbott *m2000sp* Operations Manual, Operating Instructions section.
15. Place the sealed optical reaction plate into the Splash-Free Support Base for transfer to the Abbott *m2000rt* instrument.
16. Place the Abbott 96-Well Optical Reaction Plate in the Abbott *m2000rt* instrument. From the Protocol screen, select the appropriate application file corresponding to the sample volume being tested. Initiate the Abbott RealTime HCV protocol, as described in the Abbott *m2000rt* Operations Manual, Operating Instructions section.

NOTE: If creating the Abbott *m2000rt* test order manually, enter sample IDs in the corresponding PCR tray locations according to the “Wells for Selected Plate” grid, found on the detail screen of the “PCR Plate Results” on the Abbott *m2000sp*. See Section 5 of the Abbott *m2000sp* Operations Manual.

POST PROCESSING PROCEDURES

1. Remove the Abbott 96 Deep-Well Plate from the worktable and dispose of according to the Abbott *m2000sp* Operations Manual.
2. Place the Abbott 96-Well Optical Reaction Plate in a sealable plastic bag and dispose according to the Abbott *m2000rt* Operations Manual, along with the gloves used to handle the plate.
3. Clean the Splash-Free Support Base before next use, according to the Abbott *m2000rt* Operations Manual.

QUALITY CONTROL PROCEDURES

Abbott *m2000rt* Optical Calibration

Refer to the Calibration Procedures section in the Abbott *m2000rt* Operations Manual for a detailed description of how to perform an Abbott *m2000rt* Optical Calibration.

Optical calibration of the Abbott *m2000rt* instrument is required for the accurate measurement and discrimination of dye fluorescence during the Abbott RealTime HCV assay.

The following Abbott *m2000rt* Optical Calibration Plates are used to calibrate the Abbott *m2000rt* instrument for the Abbott RealTime HCV assay:

- FAM™ Plate (Carboxyfluorescein)
- ROX™ Plate (Carboxy-X-rhodamine)
- VIC® Plate (Proprietary dye)

Assay Calibration

For a detailed description of how to perform an assay calibration refer to the Abbott *m2000sp* and Abbott *m2000rt* Operations Manuals, Operating Instructions sections.

A calibration curve is required to quantitate the HCV RNA concentration of specimens and controls. Two assay calibrators are run in replicates of 3 to generate a calibration curve (HCV concentration versus the threshold cycle [C_t] at which a reactive level of fluorescent signal is detected). The calibration curve slope and intercept are calculated and

stored on the instrument. The concentration of HCV RNA in a sample is calculated from the stored calibration curve. Results are automatically reported on the Abbott *m2000rt* workstation.

Follow the procedure for sample extraction, master mix addition, amplification and detection protocols as stated in the Abbott *m2000sp* Operations Manual and the Abbott *m2000rt* Operations Manual.

Once an Abbott RealTime HCV calibration is accepted and stored, it may be used for 6 months. During this time, all subsequent samples may be tested without further calibration unless:

- An Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit with a new lot number is used.
- An Abbott *mSample* Preparation System (4 × 24 Preps) with a new lot number is used.
- An Abbott RealTime HCV application file for a different sample volume is used.

Detection of Inhibition

An IC threshold cycle (C_t) assay validity parameter is established during a calibration run.

A defined, consistent quantity of IC is introduced into each specimen, calibrator, and control at the beginning of sample preparation and measured on the Abbott *m2000rt* instrument to demonstrate proper specimen processing and assay validity. The IC is composed of an RNA sequence unrelated to the HCV target sequence.

The median amplification cycle at which the IC target sequence fluorescent signal is detected in calibration samples establishes an IC C_t validity range to be met by all subsequent processed specimens.

An error control flag is displayed when a specimen or control fails to meet this specification. Refer to the Abbott *m2000rt* Operations Manual for an explanation of the corrective actions for the error control flag. Specimens whose IC C_t value exceeds the established range must be retested starting with sample preparation.

Negative and Positive Controls

A negative control, a low positive control, and a high positive control are included in each test order to evaluate run validity.

The lot specific values for the low positive control and high positive control are specified on each Abbott RealTime HCV Control Kit Card and must be entered into the assay test order when a run is performed.

An error control flag is displayed when a control result is out of range. Refer to the Abbott *m2000rt* Operations Manual for an explanation of the corrective actions for the error control flag. If negative or positive controls are out of range, all of the specimens and controls from that run must be reprocessed, beginning with sample preparation.

The presence of HCV must not be detected in the negative control. HCV detected in the negative control is indicative of contamination by other samples or by amplified product introduced during sample preparation or during preparation of the Abbott 96-Well Optical Reaction Plate. To avoid contamination, clean the Abbott *m2000sp* instrument and the Abbott *m2000rt* instrument and repeat sample processing for controls and specimens following the **Procedural Precautions**. If negative controls are persistently reactive, contact your Abbott representative.

Monitoring the Laboratory for the Presence of Contamination

It is recommended that this test be done at least once a month to monitor laboratory surfaces and equipment for contamination by amplification product. It is very important to test all areas that may have been exposed to processed specimens, controls, and calibrators, and/or amplification product. This includes routinely handled objects such as pipettes, the Abbott *m2000sp* and Abbott *m2000rt* function keys, laboratory bench surfaces, microcentrifuges, and centrifuge adaptors.

1. Add 0.8 mL RNase-free water to a 1.7 mL molecular biology grade microcentrifuge tube.
2. Saturate the cotton tip of an applicator (Puritan or equivalent) in the RNase-free water from the microcentrifuge tube.
3. Using the saturated cotton tip of the applicator, wipe the area to be monitored using a sweeping motion. Place the applicator into the microcentrifuge tube.
4. Swirl the cotton tip in RNase-free water 10 times, and then press the applicator along the inside of the tube so that the liquid drains back into the solution at the bottom of the microcentrifuge tube. Discard the applicator.
5. Pipette 0.5 mL of *mWash* 1 buffer to a clean tube using the pipette dedicated for Internal Control use.
6. Add 20 µL of the *mWash* 1 buffer to each microcentrifuge tube.
7. Cap the microcentrifuge tube.

8. Test this sample according to the assay procedure section of this package insert.
 - Transfer liquid from the microcentrifuge tube to a 5 mL Reaction Vessel.
 - Bring the volume to 1.5 mL with RNase-free water.
9. The presence of contamination is indicated by the detection of HCV nucleic acid in the swab samples.
10. If HCV nucleic acid is detected on equipment, follow the cleaning and decontaminating guidelines given in that equipment's operations manual. If HCV nucleic acid is detected on surfaces, clean the contaminated areas with 1.0% (v/v) sodium hypochlorite solution, followed by 70% ethanol or water.

NOTE: Chlorine solutions may pit equipment and metal. Use sufficient amounts or repeated applications of 70% ethanol or water until chlorine residue is no longer visible.

11. Repeat testing of the contaminated area by following steps 1 through 10.

RESULTS

Calculation

The concentration of viral HCV RNA in a sample or control is calculated from the stored calibration curve. The Abbott *m2000rt* instrument automatically reports the results on the Abbott *m2000rt* workstation. Assay results can be reported in IU/mL or Log IU/mL.

INTERPRETATION OF RESULTS

Sample Volume	Result	Interpretation
0.5 mL	Not Detected	Target not detected
	< 1.08 Log IU/mL ^a	Detected
	1.08 to 8.00 Log IU/mL	
	> 8.00 Log IU/mL	> ULQ ^c
0.2 mL	Not Detected	Target not detected
	< 1.48 Log IU/mL ^b	Detected
	1.48 to 8.00 Log IU/mL	
	> 8.00 Log IU/mL	> ULQ

^a 12 IU/mL

^b 30 IU/mL

^c ULQ = upper limit of quantitation

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

- **FOR IN VITRO DIAGNOSTIC USE**
- Optimal performance of this test requires appropriate specimen collection, handling, preparation, and storage (refer to the **SPECIMEN COLLECTION, STORAGE, AND TRANSPORT TO THE TEST SITE** section of this package insert).
- Human serum and plasma specimens (ACD-A or EDTA) may be used with the Abbott RealTime HCV assay. The use of other anticoagulants has not been validated with the Abbott RealTime HCV assay.
- Use of the Abbott RealTime HCV assay is limited to personnel who have been trained in the procedures of a molecular diagnostic assay and the Abbott *m2000sp* and Abbott *m2000rt* instruments.
- The instruments and assay procedures reduce the risk of contamination by amplification product. However, nucleic acid contamination from the calibrators, positive controls, or specimens must be controlled by good laboratory practice and careful adherence to the procedures specified in this package insert.
- As with any diagnostic test, results from the Abbott RealTime HCV assay should be interpreted in conjunction with other clinical and laboratory findings. A specimen with the result of "Not Detected" cannot be presumed to be negative for HCV RNA.

SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS

The following performance characteristics were determined using the Abbott RealTime HCV assay with the Abbott *m2000sp* and the 0.5 mL sample preparation procedure, unless otherwise specified.

Limit of Detection (LoD)

The LoD is defined as the HCV RNA concentration detected with a probability of 95% or greater.

Limit of Detection, 0.5 mL Sample Volume

The LoD of the Abbott RealTime HCV assay is 12 IU/mL with the 0.5 mL sample preparation procedure.

The LoD was determined by testing dilutions of the Second WHO International Standard for Hepatitis C Virus RNA (NIBSC 96/798) prepared in HCV negative human plasma. Testing was performed with 3 lots of amplification reagents on 3 instrument systems. The results, representative of the analytical sensitivity of the Abbott RealTime HCV assay, are summarized in Table 1.

Table 1. Detection Rates for 0.5 mL Sample Volume (LoD)

(IU/mL)	Number Tested	Number Detected	Percent Detected
25.0	57	57	100
20.0	57	57	100
15.0	57	55	96
12.5	57	53	93
10.0	57	56	98
7.5	57	51	89
5.0	57	46	81
2.5	57	33	58

Probit analysis of the data determined that the concentration of HCV RNA detected with 95% probability was 10.5 IU/mL (95% CI 8.6-14.0 IU/mL).

Limit of Detection, 0.2 mL Sample Volume

The LoD of the Abbott RealTime HCV assay is 30 IU/mL with the 0.2 mL sample preparation procedure and was determined as described for the 0.5 mL sample preparation procedure. The results, representative of the analytical sensitivity performance of the Abbott RealTime HCV assay, are summarized in Table 2.

Table 2. Detection Rates for 0.2 mL Sample Volume (LoD)

(IU/mL)	Number Tested	Number Detected	Percent Detected
50.0	60	59	98
35.0	60	60	100
25.0	60	59	98
20.0	59 ^a	48	81
15.0	60	53	88
12.5	60	54	90
10.0	60	39	65
7.5	60	27	45

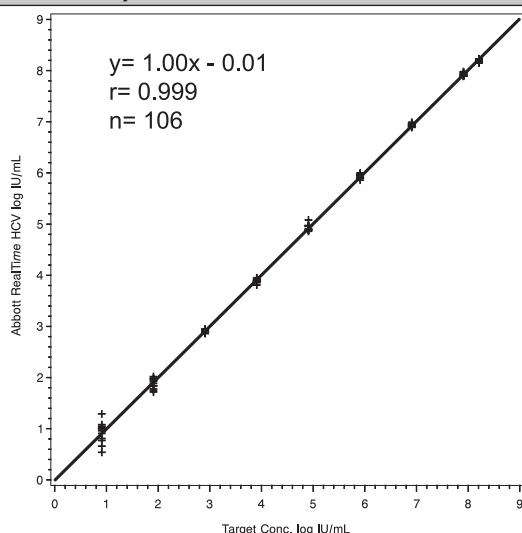
^a One sample was inhibited and was excluded from the data analysis.

Probit analysis of the data determined that the concentration of HCV RNA detected with 95% probability was 23.8 IU/mL (95% CI 17.4-59.7 IU/mL).

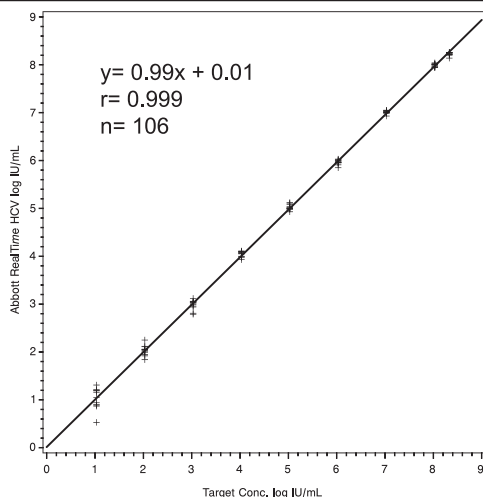
Linear Range

The upper limit of quantitation (ULQ) for the Abbott RealTime HCV assay is 100 million IU/mL and the lower limit of quantitation is equivalent to LoD (12 IU/mL for the 0.5 mL sample preparation procedure, 30 IU/mL for the 0.2 mL sample preparation procedure).

A 9-member panel prepared by diluting HCV armored RNA from 8.21 log IU/mL to 0.91 log IU/mL in HCV negative human plasma was tested. The results, representative of the Abbott RealTime HCV assay linearity, are shown in Figure 1.

Figure 1. Linearity in Plasma

A 9-member panel prepared by diluting HCV armored RNA from 8.33 log IU/mL to 1.03 log IU/mL in HCV negative human serum was tested. The results, representative of the Abbott RealTime HCV assay linearity, are shown in Figure 2.

Figure 2. Linearity in Serum

Linearity analysis was performed following the CLSI EP06-A²⁶ guideline. The Abbott RealTime HCV assay was shown to be linear in serum and plasma across the range of HCV RNA concentrations tested.

Precision

The precision of the Abbott RealTime HCV assay was evaluated for the 0.5 mL sample preparation procedure using the Abbott *m2000sp* instrument and the manual sample preparation method. An 8-member HCV RNA panel was prepared. Panel members 1, 3, and 5 were dilutions of an HCV viral stock in negative human plasma. Panel members 2 and 4 were dilutions of an HCV viral stock in negative human serum. Panel members 6 through 8 were prepared by diluting HCV armored RNA in negative human plasma. One lot of amplification reagents was assigned to each of 3 Abbott *m2000* instruments. For the precision study using the Abbott *m2000sp*, the panel members were tested in replicates of 4 in the first run on each instrument pair and replicates of 5 in each subsequent run, for a total of 15 runs. For the precision study using the manual sample preparation method, new dilutions of panel members 1, 2, 3, 5, 7, and 8 were prepared. These panel members were tested in replicates of 2 or 3 in 5 runs on each Abbott *m2000rt* instrument. Analysis was performed according to CLSI EP10-A2.²⁷ Within-run, between-run, and inter-assay (within-run and between-run) standard deviations were determined. The Abbott RealTime HCV assay was designed to achieve an inter-assay standard deviation (SD) of less than or equal to 0.25 log IU/mL of HCV RNA for samples containing HCV concentrations from 100 to 100 million IU/mL. The results, representative of the precision of the Abbott RealTime HCV assay, are summarized in Tables 3 and 4.

Table 3. Precision with the Abbott *m2000sp* and Abbott *m2000rt* Instruments

Panel Member	n	Conc. Mean (IU/mL)	Conc. Mean (Log IU/mL)	Within-Run Component SD ^a	Between-Run Component SD ^a	Inter-Assay SD ^{a,b}
1	65 ^c	8	0.88	0.25	0.00	0.25
2	72	91	1.96	0.08	0.04	0.09
3	72	564	2.75	0.05	0.03	0.06
4	72	8,853	3.95	0.03	0.02	0.04
5	71 ^d	61,320	4.79	0.04	0.02	0.04
6	71 ^d	925,118	5.97	0.04	0.02	0.04
7	71 ^d	10,045,506	7.00	0.07	0.01	0.07
8	71 ^d	109,257,360	8.04	0.04	0.01	0.04

^a Standard deviations (SD) are in Log IU/mL.

^b Inter-assay contains within-run and between-run components.

^c HCV RNA was not detected in 7 replicates.

^d One replicate was excluded from the data analysis due to an instrument error.

Table 4. Precision with Manual Sample Preparation Method

Panel Member	n	Conc. Mean (IU/mL)	Conc. Mean (Log IU/mL)	Within-Run Component SD ^a	Between-Run Component SD ^a	Inter-Assay SD ^{a,b}
1	41 ^c	8	0.93	0.20	0.00	0.20
2	42	79	1.90	0.09	0.03	0.10
3	42	651	2.81	0.06	0.08	0.10
5	41 ^d	51,114	4.71	0.09	0.08	0.12
7	42	9,628,784	6.98	0.07	0.01	0.07
8	42	95,761,398	7.98	0.05	0.04	0.06

^a Standard deviations (SD) are in log IU/mL.

^b Inter-assay contains within-run and between-run components.

^c HCV RNA was not detected in 1 replicate.

^d One replicate was excluded from the data analysis due to an instrument error.

Potentially Interfering Substance

The susceptibility of the Abbott RealTime HCV assay to interference by elevated levels of endogenous substances was evaluated. HCV negative samples and samples containing 1,000 IU/mL of HCV RNA were tested according to Table 5.

Table 5. Potential Interfering Substances

Potential Interfering Substance	No. Negative Samples Tested	No. Positive Samples Tested
Bilirubin	10	10
Bilirubin Diluent ^a	10	10
Hemoglobin	10	10
Protein	10	10
Liposyn	10	10
Liposyn Diluent ^a	10	10

^a Control condition

No interference in the performance of the Abbott RealTime HCV assay was observed in the presence of the following substances for all HCV positive and negative samples tested:

- Hemoglobin 500 mg/dL
- Liposyn (Triglycerides) 3000 mg/dL
- Bilirubin 20 mg/dL
- Protein 9 g/dL

Antivirals and antibiotics at concentrations in excess of peak plasma or serum levels were tested in 5 pools. No interference in the performance of the Abbott RealTime HCV assay was observed in the presence of the drug pools listed in Table 6 for all HCV positive and negative samples tested.

Table 6. Potentially Interfering Therapeutic Drugs by Drug Pool

Drug Pool	Drugs Tested
1	Zidovudine, Saquinavir, Ritonavir, Clarithromycin, Interferon 2a, Interferon 2b
2	Abacavir sulfate, Amprenavir, Peginterferon 2a, Peginterferon 2b, Ribavirin
3	Tenofovir disoproxil fumarate, Lamivudine, Indinavir sulfate, Ganciclovir, Valganciclovir hydrochloride, Acyclovir
4	Stavudine, Efavirenz, Lopinavir, Enfuvirtide, Ciprofloxacin
5	Zalcitabine, Nevirapine, Nelfinavir, Azithromycin, Valacyclovir

The assay was also evaluated by testing 70 specimens that had been either obtained from individuals diagnosed or screened for an autoimmune disorder (systemic lupus erythematosus [SLE], anti-nuclear antibodies [ANA], and rheumatoid factor [RF]) or serologically characterized as positive for the following viral markers: HBsAg, anti-HTLV-I/II, anti-HIV-1, anti-HIV-2. An additional 10 specimens that were PCR positive for a flavivirus (West Nile virus [n=4] and GB virus C [n=6]) were tested.

HCV RNA was not detected in 77 of the 80 specimens tested. HCV RNA was detected, but less than LoD, in 3 specimens (1 RF, 1 SLE and 1 anti-HIV-1). Insufficient volume did not allow for confirmation.

Specificity

The target specificity of the Abbott RealTime HCV assay is greater than or equal to 99.5% after resolution. In a representative study, specificity was evaluated by testing 56 HCV seronegative serum and 56 HCV seronegative plasma specimens. The specimens were tested on 3 Abbott m2000 instrument systems with 3 lots of amplification reagents. HCV RNA was not detected, resulting in 100% (112/112) specificity (95% CI 96.76-100.00%).

Cross-Reactivity

The viruses and microorganisms listed in Table 7 were evaluated for potential cross-reactivity in the Abbott RealTime HCV assay. Purified nucleic acid or viral lysate from each microorganism or virus was added to HCV RNA negative samples and samples that contained 1,000 IU/mL HCV RNA.

Table 7. Potentially Cross-Reactive Microorganisms/Viruses

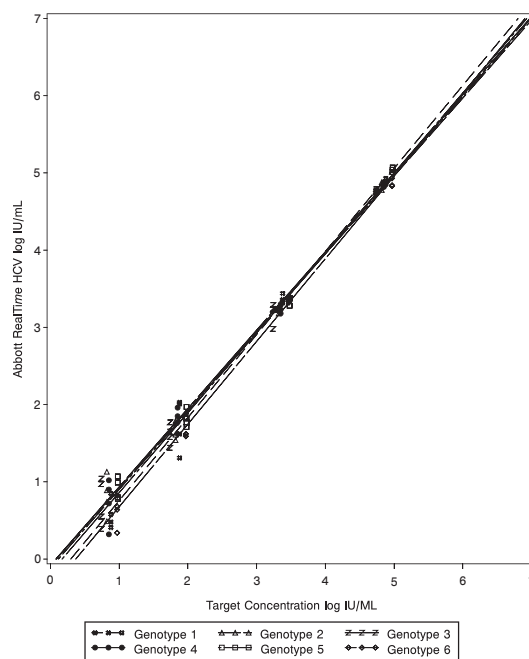
Microorganism / Virus	Microorganism / Virus
Human immunodeficiency virus 1	Vaccinia virus
Human immunodeficiency virus 2	BK human polyomavirus
Human T-lymphotropic virus 1	Human papilloma virus 16
Hepatitis B virus	Human papilloma virus 18
Epstein-Barr virus	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
Herpes simplex virus 1	<i>Chlamydia trachomatis</i>
Herpes simplex virus 2	<i>Candida albicans</i>
Cytomegalovirus	<i>Staphylococcus aureus</i>
Human herpesvirus 6B	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
Human herpesvirus 8	<i>Mycobacterium gordonae</i>
Varicella-zoster virus	<i>Mycobacterium smegmatis</i>
Dengue virus 4	

No interference in the performance of the Abbott RealTime HCV assay was observed in the presence of the potential cross-reactants for all positive and negative samples tested.

Detection and Quantitation of HCV Genotypes

The ability of the Abbott RealTime HCV assay to detect and quantitate HCV genotypes was evaluated in 3 studies. In the first study, dilution linearity was demonstrated by diluting 6 specimens, one of each genotype 1 through 6, to target concentrations of 5.0 log IU/mL, 3.5 log IU/mL, 2.0 log IU/mL, and 1.0 log IU/mL. Four replicates were tested at each concentration of each genotype. These representative data are shown in Figure 3. The correlation coefficients ranged from 0.994 to 0.998.

Figure 3. Linearity Across HCV Genotypes

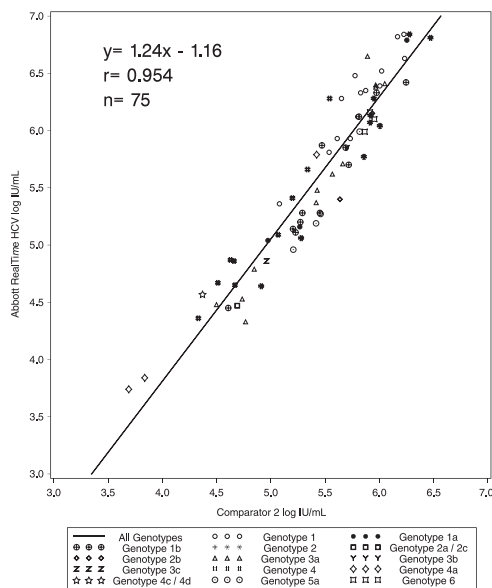


In the second study, a total of 75 specimens representative of each genotype were tested with the Abbott RealTime HCV assay. The results are summarized in Table 8. The correlation between the Abbott RealTime HCV assay results and those of a comparator assay is shown in Figure 4. Method comparison analysis was performed according to CLSI Document EP09-A2.²⁶

Table 8. HCV Genotype Detection

HCV Genotypes	Number of Specimens Tested	Number of Specimens Detected	Percent Detected
1	14	14	100
1a	3	3	100
1b	12	12	100
2	9	9	100
2a/2c	1	1	100
2b	2	2	100
3a	12	12	100
3b	1	1	100
3c	1	1	100
4	9	9	100
4a	3	3	100
4c/4d	1	1	100
5a	4	4	100
6	3	3	100

Figure 4. HCV Genotype Detection - Correlation between Abbott RealTime HCV and Comparator



In the third study, purified RNA transcripts from genotypes 1 through 6 were diluted to a target concentration of 1,000 IU/mL and tested. The results are summarized in **Table 9**. The results demonstrated equivalent quantitation of the genotypes tested.

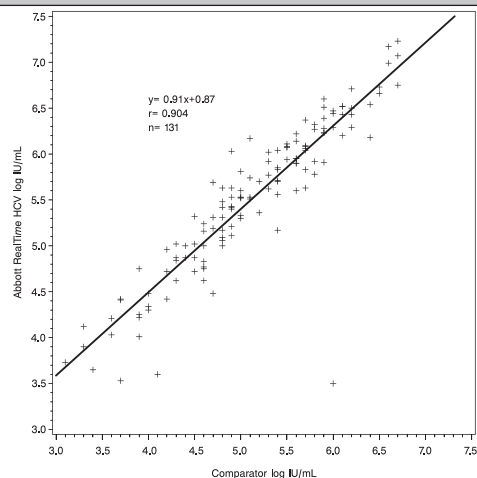
Table 9. HCV Genotype Transcript Quantitation

HCV Genotype	Mean Concentration (log IU/mL)
1	3.00
2	3.04
3	2.98
4	2.80
5	2.82
6	3.14

Correlation

Specimens from 131 HCV infected patients were tested with the Abbott RealTime HCV assay and a comparator assay. Method comparison analysis was performed following **CLSI EP09-A2**.²⁸ The correlation plot is shown in **Figure 5**. One specimen was identified as an outlier and upon re-analysis excluding the outlier, the correlation coefficient was 0.950.

Figure 5. Assay Correlation between Abbott RealTime HCV and Comparator



BIBLIOGRAPHY

- Clarke B. Molecular virology of hepatitis C virus. *J Gen Virol.* 1997;78 (Pt 10):2397-2410. doi:10.1099/0022-1317-78-10-2397.
- Choo QL, Kuo G, Weiner AJ, Overby LR, Bradley DW, Houghton M. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science.* 1989;244(4902):359-362. doi:10.1126/science.2523562.
- Kuo G, Choo QL, Alter HJ, et al. An assay for circulating antibodies to a major etiologic virus of human non-A, non-B hepatitis. *Science.* 1989;244(4902):362-364. doi:10.1126/science.2496467.
- EASL International Consensus Conference on Hepatitis C. Paris, 26-28, February 1999, Consensus Statement. European Association for the Study of the Liver. *J Hepatol.* 1999;30(5):956-961.
- NIH Consensus Statement on Management of Hepatitis C: 2002. *NIH Consens State Sci Statements.* 2002;19(3):1-46.
- McHutchison JG, Gordon SC, Schiff ER, et al. Interferon alpha-2b alone or in combination with ribavirin as initial treatment for chronic hepatitis C. Hepatitis Interventional Therapy Group. *N Engl J Med.* 1998;339(21):1485-1492. doi:10.1056/NEJM199811193392101.
- Davis GL, Esteban-Mur R, Rustgi V, et al. Interferon alpha-2b alone or in combination with ribavirin for the treatment of relapse of chronic hepatitis C. International Hepatitis Interventional Therapy Group. *N Engl J Med.* 1998;339(21):1493-1499. doi:10.1056/NEJM199811193392102.
- Manns MP, McHutchison JG, Gordon SC, et al. Peginterferon alpha-2b plus ribavirin compared with interferon alpha-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial. *Lancet.* 2001;358(9286):958-965. doi:10.1016/s0140-6736(01)06102-5.
- Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR, et al. Peginterferon alpha-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med.* 2002;347(13):975-982. doi:10.1056/NEJMoa020047.
- Hadziyannis SJ, Sette H Jr, Morgan TR, et al. Peginterferon-alpha2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose. *Ann Intern Med.* 2004;140(5):346-355. doi:10.7326/0003-4819-140-5-200403020-00010.
- Strader DB, Wright T, Thomas DL, Seeff LB; American Association for the Study of Liver Diseases. Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C. *Hepatology.* 2004;39(4):1147-1171. doi:10.1002/hep.20119.
- Gerken G, Rothaar T, Rumi MG, et al. Performance of the COBAS AMPLICOR HCV MONITOR test, version 2.0, an automated reverse transcription-PCR quantitative system for hepatitis C virus load determination. *J Clin Microbiol.* 2000;38(6):2210-2214. doi:10.1128/JCM.38.6.2210-2214.2000.
- Germer JJ, Heimgartner PJ, Ilstrup DM, Harmsen WS, Jenkins GD, Patel R. Comparative evaluation of the VERSANT HCV RNA 3.0, QUANTIPLEX HCV RNA 2.0, and COBAS AMPLICOR HCV MONITOR version 2.0 Assays for quantification of hepatitis C virus RNA in serum. *J Clin Microbiol.* 2002;40(2):495-500. doi:10.1128/JCM.40.2.495-500.2002.
- Leckie G, Schneider G, Abravaya K, et al. Performance attributes of the LCx HCV RNA quantitative assay. *J Virol Methods.* 2004;115(2):207-215. doi:10.1016/j.jviromet.2003.10.001.
- Saldanha J, Lelie N, Heath A. Establishment of the first international standard for nucleic acid amplification technology (NAT) assays for HCV RNA. WHO Collaborative Study Group. *Vox Sang.* 1999;76(3):149-158. doi:10.1159/000031040.
- Myers TW, Gelfand DH. Reverse transcription and DNA amplification by a *Thermus thermophilus* DNA polymerase. *Biochemistry.* 1991;30(31):7661-7666. doi:10.1021/bi00245a001.
- Smith DB, Mellor J, Jarvis LM, et al. Variation of the hepatitis C virus 5' non-coding region: implications for secondary structure, virus detection and typing. The International HCV Collaborative Study Group. *J Gen Virol.* 1995;76 (Pt 7):1749-1761. doi:10.1099/0022-1317-76-7-1749.
- US Department of Health and Human Services. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, Fifth edition. US Government Printing Office; December 2009.
- US Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration, 29 CFR Part 1910.1030, Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens.

20. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections: Approved Guideline—Fourth Edition*. CLSI Document M29-A4. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2014.
21. World Health Organization. *Laboratory Biosafety Manual*. 3rd ed. World Health Organization; 2004.
22. Davis GL, Lau JY, Urdea MS, et al. Quantitative detection of hepatitis C virus RNA with a solid-phase signal amplification method: definition of optimal conditions for specimen collection and clinical application in interferon-treated patients. *Hepatology*. 1994;19(6):1337-1341.
23. Cuypers HT, Bresters D, Winkel IN, et al. Storage conditions of blood samples and primer selection affect the yield of cDNA polymerase chain reaction products of hepatitis C virus. *J Clin Microbiol*. 1992;30(12):3220-3224. doi:10.1128/jcm.30.12.3220-3224.1992.
24. Ginocchio CC, Wang XP, Kaplan MH, et al. Effects of specimen collection, processing, and storage conditions on stability of human immunodeficiency virus type 1 RNA levels in plasma. *J Clin Microbiol*. 1997;35(11):2886-2893. doi:10.1128/jcm.35.11.2886-2893.1997.
25. Sebire K, McGavin K, Land S, Middleton T, Birch C. Stability of human immunodeficiency virus RNA in blood specimens as measured by a commercial PCR-based assay. *J Clin Microbiol*. 1998;36(2):493-498. doi:10.1128/JCM.36.2.493-498.1998.
26. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). *Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline*. CLSI Document EP06-A. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly NCCLS): Wayne, PA; 2003.
27. Clinical Laboratory Standards Institute. *Preliminary Evaluation of Quantitative Clinical Laboratory Methods; Approved Guideline – Second Edition*. CLSI Document EP10 A2. CLSI: Wayne, PA, 2006.
28. Clinical Laboratory Standards Institute. *Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline – Second Edition*. CLSI Document EP09-A2. CLSI: Wayne, PA, 2002.

TECHNICAL ASSISTANCE:

For technical assistance, call Abbott Technical Services at 1-800-553-7042 (within the US) or +49-6122-580 (outside the US), or visit the Abbott website at www.molecular.abbott.

SUMMARY OF SAFETY AND PERFORMANCE STATEMENT

A summary of safety and performance (SSP) for this device is available at <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>. This is the SSP location after the launch of European Database on Medical Devices. Search for device using UDI-DI provided on the outer packaging of the device.

This product is licensed from Chiron Corporation and is covered by one or more of the following US patents 5,714,596, 5,712,088, 5,863,719, 5,372,928, 5,851,759, 6,074,816 and their foreign equivalents.

THE PURCHASE OF THIS PRODUCT ALLOWS THE PURCHASER TO USE IT FOR AMPLIFICATION OF NUCLEIC ACID SEQUENCES AND FOR DETECTION OF NUCLEIC ACID SEQUENCES FOR HUMAN *IN VITRO* DIAGNOSTICS. NO GENERAL PATENT OR OTHER LICENSE OF ANY KIND OTHER THAN THIS SPECIFIC RIGHT OF USE FROM PURCHASE IS GRANTED HEREBY. THIS PROVISION DOES NOT PROHIBIT THE RESALE OF THIS PRODUCT.

Armored RNA® is a patented technology jointly developed by Ambion, Inc. and Cenetron Diagnostics, LLC. US patents #5,677,124, #5,919,625, #5,939,262 and patents pending.

Armored RNA is a registered trademark of Ambion, Inc.

ProClin is a registered trademark of Rohm and Haas.

StrataCooler is a registered trademark of Stratagene.

FAM and ROX are trademarks of Life Technologies Corporation or its subsidiaries in the US and/or certain other countries.

VIC is a registered trademark of Life Technologies Corporation or its subsidiaries in the US and/or certain other countries.

Abbott *m*, *m2000*, *RealTime*, *m2000rt*, and *m2000sp* are trademarks of Abbott.

Abbott Molecular Inc. is the legal manufacturer of the

Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit (List No. 4J86-90)

Abbott RealTime HCV Control Kit (List No. 4J86-80)

Abbott RealTime HCV Calibrator Kit (List No. 4J86-70)

The Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit is imported into the European Union by Abbott Diagnostics GmbH, located at Max-Planck-Ring 2, 65205 Wiesbaden, Germany.



Abbott Molecular Inc.
1300 East Touhy Avenue
Des Plaines, IL 60018 USA



Abbott GmbH
Max-Planck-Ring 2
65205 Wiesbaden, Germany

© 2005, 2024 Abbott. All Rights Reserved.

February 2024

51-602124/R13

Abbott RealTime HCV

Supplement for Dried Blood Spot (DBS)

en

GTIN

REF

04J86-010

IVD

REF 04J86-010

51-608440/R3

51-608440/R3

NOTE: Changes Highlighted

Key to Symbols Used

GTIN

Global Trade Item Number

REF

Reference Number

IVD

In Vitro Diagnostic Medical Device



Maximum Time Allowed



Upper Limit of Temperature



Temperature Limit

EC REP

Authorized Representative in the
European Community/European Union



Manufacturer

CUSTOMER SERVICE INTERNATIONAL: CALL YOUR ABBOTT REPRESENTATIVE

This package insert must be read carefully prior to use. Package insert instructions must be followed accordingly. Reliability of assay results cannot be guaranteed if there are any deviations from the instructions in this package insert.

This Instructions For Use (IFU) is a supplement to the Abbott RealTime HCV assay (List No. 4J86) package insert, specifically for Dried Blood Spot (DBS) sample type.

NOTICE TO USER

If a serious incident occurs in relation to this device, the incident should be reported to the manufacturer and to the appropriate competent authority of the member state in which the user and/or the patient is established. To report to the manufacturer, see the contact information provided in the customer service or technical assistance section of these instructions.

NAME

Abbott RealTime HCV

INTENDED USE FOR DBS

The Abbott RealTime HCV assay is an in vitro reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) assay for the quantitation of hepatitis C viral RNA (HCV RNA) in whole blood spotted on cards as dried blood spots (DBS) (ie, obtained via venipuncture or capillary blood) from HCV-infected individuals. The Abbott RealTime HCV assay is intended for use as an aid in the management of HCV-infected patients undergoing antiviral therapy. The Abbott RealTime HCV assay is not for screening blood, plasma, serum or tissue donors for HCV, or to be used as a diagnostic test to confirm the presence of HCV infection.

INTENDED USER

The intended users for the Abbott RealTime HCV assay are laboratory professionals.

SUMMARY AND EXPLANATION OF THE TEST

Hepatitis C virus (HCV) is one of the major causes of liver disease. It was estimated that about 1.1% of the population are chronically infected with hepatitis C¹ and approximately 700,000 people die each year from hepatitis C-related liver disease.² HCV is a positive-strand RNA virus and transmitted primarily through intravenous drug use and through blood products. About 55 to 85% of HCV-infected individuals develop chronic hepatitis, with up to 30% of chronically infected individuals developing

cirrhosis.¹ In patients with cirrhosis, the incidence of hepatocellular carcinoma is 2 to 4% per year.¹

Quantitative measurement of HCV RNA level in peripheral blood has been shown to be an essential parameter in management of various anti-HCV therapies.⁶⁻¹³ With the advent of direct acting antiviral regimens, the treatments for HCV infection are advanced dramatically. The objective of anti-HCV therapies is to achieve a sustained virologic response (SVR), presented as continued absence of detectable HCV RNA.²⁻⁵ Measurements of HCV viral load have been used to individualize treatment duration and response-guided therapy or to determine and predict sustained or non-sustained virologic response of antiviral therapy.²⁻⁵

The majority of global HCV burden is found in low- and middle-income countries (LMICs).¹⁴ Identification of patients with active HCV infection is very limited in these resource-constrained areas. Whole blood collected as Dried Blood Spot (DBS) can be used as an alternative to serum or plasma for HCV RNA testing. DBS represents a feasible option that eliminates many logistical and technical limitations associated with serum or plasma collection, processing, storage, and shipment. World Health Organization (WHO) Guidelines on Hepatitis C testing include recommendations for using DBS in HCV virological testing in resource-limited areas.¹⁴

The Abbott RealTime HCV assay for DBS uses reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) technology combined with homogeneous real time fluorescent detection for the quantitation of HCV RNA in DBS. The selection of a conserved region of the HCV genome provides for the detection of genotypes 1 through 6. The assay is standardized against the 2nd WHO International Standard for Hepatitis C Virus RNA (NIBSC Code 96/798)¹⁵ and results are reported in international units/mL (IU/mL) or its log base 10 equivalent.

BIOLOGICAL PRINCIPLES OF THE PROCEDURE

The Abbott RealTime HCV assay for DBS requires 3 reagent kits:

- Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit
- Abbott RealTime HCV Control Kit
- Abbott RealTime HCV Calibrator Kit

The Abbott RealTime HCV assay for DBS uses RT-PCR to generate amplified product from the HCV RNA genome in human DBS specimens. The steps of the Abbott RealTime HCV assay for DBS consist of pre-analytical DBS treatment, sample preparation, RT-PCR assembly, amplification, detection, and result reporting. Pre-analytical DBS treatment is performed using the Abbott mSample Preparation System DBS Buffer Kit, prior to specimen loading on the Abbott m2000sp system. Following the pre-analytical DBS treatment, all subsequent steps are executed automatically by the Abbott m2000sp and Abbott m2000rt systems.

Refer to the Abbott RealTime HCV assay (List No. 4J86) package insert for more details on sample preparation, RT-PCR assembly, amplification, and detection.

AMPLIFICATION REAGENT EXTENDED USE

The optional amplification reagent extended use feature allows amplification reagent packs and IC to be used a total of 2 times. Amplification reagent packs containing prepared master mix may be stored at -10°C or colder, capped and protected from light, for up to 14 days before the second use. The internal control (IC) may be stored capped at -10°C or colder for up to 14 days before the second use. The second use should not exceed the expiration date of the reagent.

An overview of this feature is provided in Appendix 1 of this IFU.

Throughout this IFU, amplification reagent packs and IC that have not yet been used will be referred to as new amplification reagent packs and IC (ie, initial use). Amplification reagent packs that have been used once and contain prepared master mix will be referred to as partial amplification reagent packs. IC vials that have been used once will be referred to as partial IC vials.

PREVENTION OF NUCLEIC ACID CONTAMINATION

Refer to the Abbott RealTime HCV assay (List No. 4J86) package insert.

REAGENTS

Refer to the Abbott RealTime HCV assay (List No. 4J86) package insert.

WARNINGS AND PRECAUTIONS

IVD

For In Vitro Diagnostic Use

The Abbott RealTime HCV assay for DBS is not for screening blood, plasma, serum, or tissue donors for HCV, or to be used as a diagnostic test to confirm the presence of HCV infection.

SAFETY PRECAUTIONS

Refer to the Abbott RealTime HCV assay (List No. 4J86) package insert.

Abbott RealTime HCV assay for DBS only uses Abbott *m2000sp* and Abbott *m2000rt* instruments.

SPECIAL PRECAUTIONS

Handling Precautions for DBS Specimens

The Abbott RealTime HCV assay for DBS is only for use with whole blood or DBS specimens that have been handled and stored as described in the **SPECIMEN COLLECTION, STORAGE, AND TRANSPORT TO THE TEST SITE** section.

Refer to the Abbott RealTime HCV assay (List No. 4J86) package insert.

Handling precautions specific for DBS:

- Ensure that DBS cards are fully dried prior to storage in bag with desiccants. Inappropriate spotting, drying, storage and handling of DBS may lead to inaccurate test results.
- To avoid carryover contamination, use a new pipette tip for each DBS sample when pushing the spot out from the perforated DBS card. If a non-perforated DBS card is used, ensure that the tool used to excise the spot is decontaminated prior to and after contact with the DBS sample.

Work Areas

Only two dedicated areas, Sample Preparation Area and Amplification Area, are recommended when the Abbott *m2000sp* and Abbott *m2000rt* are used.

Refer to the Abbott RealTime HCV assay (List No. 4J86) package insert.

Aerosol Contamination

Refer to the Abbott RealTime HCV assay (List No. 4J86) package insert.

Contamination and Inhibition

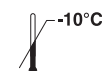
Refer to the Abbott RealTime HCV assay (List No. 4J86) package insert.

Contamination From External dU-Containing Amplified Product

Laboratories that use or have used HCV amplification assays that include post-PCR processing of the amplified product may be contaminated by dU-containing amplified product. Such contamination may cause inaccurate results in the Abbott RealTime HCV assay for DBS. Refer to the **Monitoring the Laboratory for the Presence of Contamination** section of the Abbott RealTime HCV assay (List No. 4J86) package insert. When negative controls are persistently reactive or where contamination with dU-containing HCV amplified product is likely to have occurred, it is recommended that the laboratory use uracil-N-glycosylase (UNG) contamination control procedure if decontamination of the laboratory is unsuccessful.

STORAGE INSTRUCTIONS

Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit (List No. 4J86-90)



- **New** and **Partial** Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Packs and Internal Control (IC) vials must be stored at -10°C or colder when not in use. Care must be taken to separate the Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Pack that is in use from direct contact with samples, calibrators, and controls.
- **Partial** amplification reagent packs and IC must be stored at -10°C or colder, capped, upright, and protected from light, following initial use. If stored this way, **partial** amplification reagent packs with prepared master mix may be used a second time within 14 days of initial use. IC may also be used a second time within 14 days of being thawed, if stored capped at -10°C or colder. After 2 uses, partial amplification reagent packs and IC should be discarded. The second use should not exceed the expiration date of the reagent.

Abbott RealTime HCV Control Kit (List No. 4J86-80)



- The Abbott RealTime HCV Negative and Positive Controls must be stored at -10°C or colder.

Abbott RealTime HCV Calibrator Kit (List No. 4J86-70)



- The Abbott RealTime HCV Calibrator A and Calibrator B must be stored at -10°C or colder.

SHIPPING CONDITIONS

Refer to the Abbott RealTime HCV assay (List No. 4J86) package insert.

INDICATION OF INSTABILITY OR DETERIORATION OF REAGENTS

Refer to the Abbott RealTime HCV assay (List No. 4J86) package insert.

INSTRUMENT PROCEDURE

The Abbott RealTime HCV for DBS application file must be installed on the Abbott *m2000sp* and Abbott *m2000rt* systems from the Abbott RealTime HCV *m2000* ROW System Combined Application CD-ROM (List No. 01L69-040 or higher) prior to performing the assay. For detailed information on application file installation, refer to the Abbott *m2000sp* and Abbott *m2000rt* Operations Manuals, Operating Instructions section.

SPECIMEN COLLECTION, STORAGE, AND TRANSPORT TO THE TEST SITE

Specimen Collection and Storage

- To prepare DBS, use finger prick or EDTA whole blood. EDTA whole blood should be maintained under controlled temperature conditions during storage and shipment (2°C to 8°C for up to 48 hours, or ambient temperature not exceeding 30°C for up to 24 hours).
- EDTA whole blood collected in a tube should be mixed thoroughly by gentle inversions prior to spotting. Spot the blood onto the one-half-inch (12 millimeter) circles on Ahlstrom-Munktel TFN paper card or Whatman 903, ensuring that the entire circle is covered. It is recommended that at least 70 μL of blood (approximately 3 to 5 blood drops) be used for each circle to ensure full coverage.
- Air dry the card at ambient temperature for a minimum of 3 hours. Package each card in a sealable bag with desiccant packs (at least 2 to 3 desiccant packs).
- DBS specimen cards can be stored under the conditions as specified in the table below prior to assay processing.

DBS Specimen Card Storage

Condition	Maximum Storage Time
2°C to 30°C at ambient humidity	18 weeks
$\leq 37^{\circ}\text{C}$ at ambient humidity	12 weeks
$\leq 45^{\circ}\text{C}$ at ambient humidity	8 weeks
$\leq 38^{\circ}\text{C}$ at high humidity ($\leq 85\%$)	4 weeks
-25°C to -15°C at ambient humidity	18 weeks
-70°C or colder at ambient humidity	18 weeks

Specimen Transport

Ship specimens according to the recommended storage temperature and time listed in the **Specimen Collection and Storage** section above. For domestic and international shipments, specimens should be packaged and labeled in compliance with applicable state, federal, and international regulations covering the transport of clinical, diagnostic, or biological specimens.

ABBOTT REALTIME HCV ASSAY PROCEDURE FOR DBS

Materials Required But Not Provided

- Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit (List No. 4J86-90)
- Abbott RealTime HCV Calibrator Kit (List No. 4J86-70)
- Abbott RealTime HCV Control Kit (List No. 4J86-80)

For Abbott *m2000sp* Instrument Sample Preparation Area

- Abbott *mSample* Preparation System DBS Buffer Kit (List No. 09N02-001)
- Abbott *m2000sp* instrument (List No. 09K14-01, 09K14-02)
- Abbott *mSample* Preparation System (4 $\times$ 24 Preps) (List No. 04J70-24)
- Calibrated precision pipettes capable of delivering 20 to 1000 μL (Calibrated precision pipettes capable of delivering < 20 μL may be required if using UNG.)

- Aerosol barrier pipette tips for 20 to 1000 µL pipettes (Aerosol barrier pipette tips capable of delivering < 20 µL may be required if using UNG.)
- Vortex Mixer
- Master Mix Tube (List No. 04J71-80)
- Abbott 96-Deep-Well Plate (List No. 04J71-30)
- 5 mL Reaction Vessels (List No. 04J71-20)
- 200 mL reagent vessels (List No. 04J71-60)
- Abbott 96-Well Optical Reaction Plate (List No. 04J71-70)
- Abbott Optical Adhesive Covers (List No. 04J71-75)
- Abbott Adhesive Cover Applicators (List 9K32-01)
- Abbott Splash-Free Support Base (List No. 9K31-01)
- Abbott RealTime HCV *m2000* ROW System Combined Application CD-ROM (List No. 01L69-040 or higher)
- *m2000* System 13mm DBS-PoS Set (List No. 09N03-001)
- 1.4 mL Micro Vial 15mm Caps (List No. 03N20-01) optional
- Uracil N-Glycosylase (UNG)^a (List No. 6L87-02)

^aIf needed, per the **Contamination From External dU-Containing Amplified Product** section of this IFU.

For Abbott *m2000rt* Instrument Amplification Area

- Abbott *m2000rt* instrument (List No. 9K15-01)
- Abbott RealTime HCV *m2000* ROW System Combined Application CD-ROM (List No. 01L69-040 or higher)
- Abbott *m2000rt* Optical Calibration Kit (List No. 04J71-93)

Other Materials

- Biological safety cabinet approved for working with infectious materials
- Sealable bag for DBS card
- Desiccant pack for DBS card
- Ahlstrom-Munktel TFN paper card and/or Whatman 903
- Sealable plastic bag for disposal of 96-well reaction plate
- RNase-free water (Eppendorf or equivalent)^b
- 1.7 mL molecular biology grade microcentrifuge tubes (Dot Scientific, Inc. or equivalent)^b
- Cotton Tip Applicators (Puritan or equivalent)^b

^bNote: These 3 items are used in the procedure for Monitoring the Laboratory for the Presence of Contamination. Refer to the **QUALITY CONTROL PROCEDURES** section in the Abbott RealTime HCV assay (List No. 4J86) package insert.

Procedural Precautions

- Read the instructions in this IFU carefully before processing specimens.
- Amplification reagents and internal control may be used up to 2 times, as described in this IFU. The Abbott RealTime HCV Calibrators, Negative Control, Low Positive Control, and High Positive Control vials are intended for single-use only and should be discarded after use.
- Use aerosol barrier pipette tips or disposable pipettes only 1 time when pipetting specimens or IC. To prevent contamination to the pipette barrel while pipetting, care should be taken to avoid touching the pipette barrel to the inside of the sample tube or container. The use of extended aerosol barrier pipette tips is recommended.
- Monitoring procedures for the presence of amplification product can be found in the **QUALITY CONTROL PROCEDURES** section.
- To reduce the risk of nucleic acid contamination, clean and disinfect spills of specimens by including the use of a tuberculocidal disinfectant such as 1.0% sodium hypochlorite or other suitable disinfectant.
- The Abbott RealTime HCV Calibrators and Controls must be prepared in conjunction with the specimens to be tested. The use of the Abbott RealTime HCV Controls and Calibrators is integral to the performance of the Abbott RealTime HCV assay. Refer to the **QUALITY CONTROL PROCEDURES** section.
- The Abbott *m2000sp* Master Mix Addition protocol must be initiated within 1 hour after completion of Sample Preparation.
- If the Abbott *m2000sp* master mix addition protocol is aborted, then discard the amplification reagents that were being used for the second time. New reagent packs being used for the first time may be saved and stored for later use as described in this manual.

- The Abbott *m2000rt* protocol must be started within 50 minutes of the initiation of the Master Mix Addition protocol. If the Abbott *m2000rt* instrument run is not initiated within 50 minutes, or is interrupted or aborted, seal the Abbott 96-Well Optical Reaction Plate in a sealable plastic bag and dispose according to the Abbott *m2000rt* Operations Manual along with the gloves used to handle the plate.

IMPORTANT: Amplification reagents that will be used a second time must be stored at – 10°C or colder within 50 minutes of the initiation of the master mix addition protocol.

ASSAY PROTOCOL: DBS SAMPLES USING THE ABBOTT *m2000sp* AND THE ABBOTT *m2000rt* INSTRUMENTS

For a detailed description of how to perform an Abbott *m2000sp* instrument and Abbott *m2000rt* instrument protocol, refer to the Abbott *m2000sp* and Abbott *m2000rt* Operations Manuals, Operating Instructions sections. The DBS protocol requires Abbott *m2000sp* Software Version 6.0 or higher. Please follow Abbott *m2000sp* Operations Manual (List 09K20 version 6 or higher).

A total of 96 samples can be processed in each run. An Abbott RealTime HCV Negative Control, Low Positive Control, and High Positive Control are included in each run, therefore allowing a maximum of 93 DBS specimens to be processed per run when calibrators are not included. Process Calibrators and Controls directly as liquid samples; step 1 through step 5 are for DBS only. Do not process plasma or serum specimens on any run where DBS protocol is used. For each DBS sample, a single Abbott Master Mix Tube should be used for the entire sample processing procedure. Ensure DBS samples are labeled throughout processing.

1. Fill the Abbott Master Mix Tube with 1.3 mL of *m*DBS buffer from the Abbott *m*Sample Preparation system DBS Buffer Kit (List No. 09N02-001).

NOTE: Do not use *m*Lysis Buffer or any other reagents for this step

2. Hold perforated DBS paper card above the Abbott Master Mix Tube.
3. Push the DBS circle out of the card using a clean pipette tip, 1 DBS circle per Abbott Master Mix Tube. Each DBS should be approximately one-half-inch (12 millimeters) in diameter.

NOTE: USE A NEW PIPETTE TIP FOR EACH DBS SAMPLE TO PREVENT CROSS-CONTAMINATION.

Alternatively, from non-perforated DBS paper, cut out 1 entire DBS (approximately one-half-inch in diameter) for each specimen and transfer to an Abbott Master Mix Tube.

NOTE: Avoid direct contact of the cutting surface with DBS specimens. Decontaminate the tool used to cut DBS between specimens if necessary, according to good laboratory practices.

4. Ensure that the DBS circle is fully submerged in the *m*DBS Buffer by tapping the tube or using the pipette tip to push the DBS into the buffer.

NOTE: If a pipette tip is used to push the DBS into the buffer, ensure that the pipette tip does not cause DBS buffer volume loss due to liquid containment in the tip and/or absorption of the buffer by the tip filter.

5. Manually shake or swirl the sample tubes. Do not vortex the samples. Incubate for 30 minutes (± 2 minutes) at ambient temperature.
6. Meanwhile, thaw assay controls and internal control (IC) at 15°C to 30°C or at 2°C to 8°C. Thaw calibrators at 15°C to 30°C or at 2°C to 8°C only if performing a calibration run.

NOTE: Once thawed, assay controls, IC, and calibrators can be stored at 2°C to 8°C for up to 24 hours before use.

7. Vortex each assay calibrator and each control 3 times for 2 to 3 seconds before use. Ensure that the contents of each vial are at the bottom by tapping the vials on the bench to bring liquid to the bottom of the vial. Ensure bubbles or foam is not generated; if present, remove with a sterile pipette tip, using a new tip for each vial.
8. Thaw amplification reagents at 15°C to 30°C or at 2°C to 8°C and store at 2°C to 8°C until required for the amplification master mix procedure.
9. Select **new** and/or **partial** amplification reagent packs to be used in the run. Refer to the Abbott *m2000sp* Operations Manual (List No. 09K20 version 6 or higher), Operating Instructions section, for instructions pertaining to amplification reagent pack inventory management. Amplification reagent packs must have the same lot number.

Thaw **new** amplification reagents at 15°C to 30°C or at 2°C to 8°C and store at 2°C to 8°C until required for the amplification master mix procedure.

NOTE: Once thawed, the new amplification reagents can be stored at 2°C to 8°C for up to 24 hours if not used immediately. Partial amplification reagent packs being used a second time should NOT be stored at 2°C to 8°C before use. They should be kept at –10°C or colder until needed for master mix addition. Once removed from the freezer, cumulative room temperature exposure should not exceed 25 minutes, including instances where packs are removed from storage, but not used. If 25 minutes is exceeded, discard the partial amplification reagent packs.

The following table shows the number of sample preparation reagents and internal control vials needed based on the number of reactions.

Sample Preparation Reagents and Internal Control Requirements				
Reagent	1 to 24 Reactions	25 to 48 Reactions	49 to 72 Reactions	73 to 96 Reactions
<i>m</i> Microparticles	1 bottle	2 bottles	2 bottles	2 bottles
<i>m</i> Lysis	1 bottle	2 bottles	3 bottles	4 bottles
<i>m</i> Wash 1	1 bottle	2 bottles	3 bottles	4 bottles
<i>m</i> Wash 2	1 bottle	2 bottles	3 bottles	4 bottles
<i>m</i> Elution Buffer	1 bottle	2 bottles	3 bottles	4 bottles
Internal Control ^a	1 new vial or 1 partial vial	1 new vial or 2 partial vials	2 new vials or 3 partial vials	2 new vials or 4 partial vials

^a A combination of new and partial vials of Internal Control may be used.

- Gently invert the Abbott *m*Sample Preparation bottles to ensure a homogeneous solution. If crystals are observed in any of the reagent bottles upon opening, allow the reagent to equilibrate at room temperature until the crystals disappear. Do not use the reagents until the crystals have dissolved.
 - Vortex each IC 3 times for 2 to 3 seconds before use.
 - Use a calibrated precision pipette **DEDICATED FOR INTERNAL CONTROL USE ONLY** to add 500 µL of IC to each bottle of *m*Lysis Buffer. Mix by gently inverting the container 5 to 10 times to minimize foaming. Partial vials of IC can be recapped and stored at –10°C or colder for a second use.
 - Place the low and high positive controls, the negative control, and the calibrators, if applicable, into the Abbott *m*2000sp sample racks.
 - After the incubation is complete, manually shake or swirl the DBS sample tubes and then place them into the Abbott *m*2000sp sample racks.
- NOTE:** Ensure that the Abbott *m*2000sp sample racks have been calibrated specifically for the Abbott RealTime HCV procedure for DBS.
- Load the sample racks carefully to avoid splashing. If used, bar codes on tube labels must face right for scanning. Ensure that each tube is placed securely in the sample rack so that the bottom of the tube reaches the inside bottom of the rack.
 - Load filled sample racks onto the Abbott *m*2000sp in consecutive sample rack positions, with the first rack farthest to the right on the worktable, and any additional rack progressively to the left of the first rack.
 - Place the 5 mL Reaction Vessels into the Abbott *m*2000sp 1 mL subsystem carrier.
 - Load the Abbott *m*Sample Preparation System reagents and the Abbott 96 Deep-Well Plate on the Abbott *m*2000sp worktable as described in the Abbott *m*2000sp Operations Manual, Operating Instructions section.
 - From the Protocol screen, select the HCV RNA DBS application file. Initiate the sample extraction protocol as described in the Abbott *m*2000sp Operations Manual, Operating Instruction section.
 - Enter calibrator (needed if a calibration curve has not been stored on the Abbott *m*2000rt) and control lot specific values in the Sample Extraction: Worktable Setup, Calibrator and Control fields. Lot-specific values are specified in each Abbott RealTime HCV Calibrator and Control Kit Card.

- The Abbott *m*2000sp Master Mix Addition protocol (step 28) must be initiated within 1 hour after completion of Sample Preparation.

NOTE: Change gloves before handling the amplification reagents.

- Load the amplification reagents and the master mix tube (if needed) on the Abbott *m*2000sp worktable after sample preparation is completed. The following table shows the number of amplification reagent packs needed based on the number of reactions. If only 1 amplification reagent pack is being used, no master mix tube is required.

Amplification Reagent Pack Requirements ^a			
1 to 24 Reactions	25 to 48 Reactions	49 to 72 Reactions	73 to 96 Reactions
1 if new ; up to 4 with partial packs	2 if new ; up to 4 with partial packs	3 if new ; up to 4 with partial packs	4 new or partial packs

^a Refer to the Abbott *m*2000sp Operations Manual (List No. 09K20 version 6 or higher) for instructions on inventory management to determine the maximum number of reactions that can be tested with the partial packs selected.

- Partial amplification reagent packs can only be used on the same Abbott *m*2000sp instrument used for the reagent pack's initial preparation. Using an amplification reagent pack for a second time on a different instrument will result in an error, which may delay the run.
- Partial and new amplification reagent packs may be used together.

IMPORTANT: Partial amplification reagent packs should be stored at –10°C or colder until immediately before the second use.

Confirm that master mix is thawed before placing partial pack(s) on the Abbott *m*2000sp worktable. Once removed from –10°C or colder storage, partial amplification reagent packs being used a second time must be used within 25 minutes or discarded. This applies to cumulative room temperature exposure, including instances where packs are removed from storage, but not used.

- Ensure that the contents of new amplification reagent packs are at the bottom of the vials prior to opening the amplification reagents by tapping the vials in an upright position on the bench 5 to 10 times.
 - Do not tap partial amplification reagent packs being used a second time. Tapping may result in loss of master mix volume in the cap.
 - Remove caps. If a new amplification reagent pack will be stored for a second use, the vials will need to be recapped for storage. If planning to reuse the original caps to recap the reagent vials, save the original caps. If planning to use fresh caps to recap the reagent vials, original caps may be discarded.
- If the uracil N-glycosylase (UNG) is used for contamination control, follow the instructions below.**
- Use a PIPETTE DEDICATED FOR REAGENT USE ONLY to add specified volume of 1 U/µL UNG (List No. 6L87-02) to the reagent vial in position 3 of new and partial amplification reagent packs. Manually mix by pipetting gently up and down for all partial packs. Do not mix new packs.
 - Use the table below to determine the volume of UNG to add to the reagent vial in position 3 of new and partial amplification reagent packs. The reagent vial in position 3 of a new reagent pack contains the thermostable rTth polymerase enzyme. The reagent vial in position 3 of a partial reagent pack contains the master mix.

Volume of UNG to Add to the Reagent Vial in Position 3 of Each Amplification Reagent Pack	
Tests Remaining in the Pack	Add This Volume of UNG (µL)
1	5
2	6
3	7
4	8
5	9
6	10
7	11
8	12
9	13
10	13
11	14
12	15
13	16
14	17
15	18
16	19
17	20
18	21
19	22
20	23
21	24
22	25
23	26
24 (new pack)	27

NOTE: The volume of UNG added to the reagent vial in position 3 depends upon the number of tests remaining in the reagent pack, and not the number of samples being run. Refer to the Abbott *m2000sp* Operations Manual for instructions pertaining to amplification reagent pack inventory management and how to determine the number of tests remaining in a reagent pack.

- Partial amplification packs are loaded to the left of new amplification reagent packs on the Abbott *m2000sp* worktable.
- Ensure that amplification reagent packs are firmly seated on the instrument.
- Select the appropriate deep-well plate that matches the corresponding sample preparation extraction. Initiate the Abbott *m2000sp* Master Mix Addition protocol. Follow the instructions as described in the Abbott *m2000sp* Operations Manual, Operating Instructions section.

NOTE: The operator should not manually fill any empty/unfilled wells in the Abbott 96-Well Optical Reaction Plate.

- After sample extraction is complete, the Abbott *m2000sp* automatically fills any empty wells in the Abbott 96-Well Optical Reaction Plate with *mElution* buffer when there are greater than 48 samples processed within a run. Plate fill is not performed for runs containing 48 samples or fewer.
- If prompted by the instrument, Reagent Carrier 2 should remain in place, minimally containing the reagent vessel for *mElution* Buffer (Reagent Carrier 2, location 6). If this reagent vessel has been unloaded, place a new reagent vessel with the *mElution* Buffer label into Reagent Carrier 2, location 6. System fluid will be added to the reagent vessel and used to fill empty wells. Once this process is complete, the system will continue with the master mix addition.

NOTE: System instructions for use of the automated plate-filling feature are found in the Abbott *m2000sp* Operations Manual (List No. 09K20 version 6 or higher), section 5, Operating Instructions, Sample Extraction-Closed Mode.

- The Abbott *m2000rt* protocol (step 33) must be started within 50 minutes of the initiation of the Master Mix Addition protocol (step 28).

NOTE: If the run is aborted for any reason subsequent to step 28, a new Abbott 96-Well Optical Reaction Plate must be used if the Abbott *m2000sp* Master Mix Addition Protocol (step 28) will be repeated.

- Switch on and initialize the Abbott *m2000rt* instrument in the Amplification Area.

NOTE: The Abbott *m2000rt* requires 15 minutes to warm-up.

NOTE: Remove gloves before returning to the sample preparation area.

- Seal the Abbott 96-Well Optical Reaction Plate after the Abbott *m2000sp* instrument has completed addition of samples and master mix according to the Abbott *m2000sp* Operations Manual, Operating Instructions section.

- Place the sealed optical reaction plate into the Abbott Splash-Free Support Base for transfer to the Abbott *m2000rt* instrument.

If the uracil N-glycosylase (UNG) is used, follow the instructions below:

- Transfer the sealed optical plate to the Abbott Splash-Free Support Base and incubate at room temperature (15°C to 30°C) for 10 minutes. Following room temperature incubation, transfer the Abbott 96-Well Optical Reaction Plate on the Abbott Splash-Free Support Base to the Abbott *m2000rt* instrument.

- Place the Abbott 96-Well Optical Reaction Plate in the Abbott *m2000rt* instrument. From the Protocol screen, select the HCV RNA DBS application file. Initiate the protocol as described in the Abbott *m2000rt* Operations Manual, Operating Instructions section.

NOTE: Test order transfer through the use of CD-ROM or network connection with export and import features of the *m2000sp* and *m2000rt* software is recommended. If creating the Abbott *m2000rt* test order manually, enter sample IDs in the corresponding PCR tray locations according to the “Wells for Selected Plate” grid, found on the detail screen of the “PCR Plate Results” on the Abbott *m2000sp*. See Section 5 of the Abbott *m2000sp* Operations Manual.

- If a prepared partial amplification reagent pack is to be used a second time, cap the 3 reagent vials with the saved caps or new caps (List No. 3N20-01) and promptly store the reagents at –10°C or colder, protected from light, and in an upright position. Discard any amplification reagent packs that are exhausted or have been used twice.

IMPORTANT: Amplification reagents that will be used a second time must be stored at –10°C or colder within 50 minutes of the initiation of the master mix addition protocol.

POST PROCESSING PROCEDURES

- Remove the Abbott 96 Deep-Well Plate from the worktable and dispose of according to the Abbott *m2000sp* Operations Manual.
- Place the Abbott 96-Well Optical Reaction Plate in a sealable plastic bag and dispose according to the Abbott *m2000rt* Operations Manual along with the gloves used to handle the plate.
- Clean the Abbott Splash-Free Support Base before next use, according to the Abbott *m2000rt* Operations Manual.

QUALITY CONTROL PROCEDURES

Abbott *m2000rt* Optical Calibration

Refer to the Abbott RealTime HCV assay (List No. 4J86) package insert.

Assay Calibration

Refer to the Abbott RealTime HCV assay (List No. 4J86) package insert. For DBS testing using Abbott *m2000sp* and Abbott *m2000rt*: Once an Abbott RealTime HCV calibration is accepted and stored, it may be used for 6 months. During this time, all subsequent samples may be tested without further calibration unless:

- An Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit with a new lot number is used.
- An Abbott *mSample* Preparation System (4 x 24 Preps) with a new lot number is used.
- A new Abbott RealTime HCV RNA DBS application file is installed.

Detection of Inhibition

Refer to the Abbott RealTime HCV assay (List No. 4J86) package insert.

Negative and Positive Controls

Refer to the Abbott RealTime HCV assay (List No. 4J86) package insert.

Monitoring the Laboratory for the Presence of Contamination

Refer to the Abbott RealTime HCV assay (List No. 4J86) package insert.

RESULTS FOR DBS SPECIMENS

The reported DBS sample concentration result from the Abbott m2000rt DBS protocol run represents the HCV viral concentration in the plasma of the whole blood specimen from which the DBS specimen is obtained. The Abbott m2000rt instrument automatically reports the results on the Abbott m2000rt workstation. Assay results can be reported in International Units IU/mL, or Log IU/mL.

Interpretation of Results

Result	Interpretation
Not Detected	Target not detected
<2.66 Log IU/mL ^a	Detected
2.66 to 8.00 Log IU/mL	
>8.00 Log IU/mL	>ULQ ^b

^a 462 IU/mL

^b ULQ = upper limit of quantitation

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

- **FOR IN VITRO DIAGNOSTIC USE**
- Optimal performance of this test requires appropriate specimen collection, storage, and transport to the test site (refer to the **SPECIMEN COLLECTION, STORAGE, AND TRANSPORT TO THE TEST SITE** section of this package insert).
- Whole blood specimens collected in EDTA tubes may be used to generate DBS that are tested with the Abbott RealTime HCV assay for DBS. The use of other anticoagulants has not been validated with the Abbott RealTime HCV assay for DBS.
- Use of the Abbott RealTime HCV assay for DBS is limited to personnel who have been trained in the procedures of DBS preparation and pre-processing, a molecular diagnostic assay and the Abbott m2000 system.
- The instruments and assay procedures reduce the risk of contamination by amplification product. However, nucleic acid contamination from the calibrators, positive controls, or specimens must be controlled by good laboratory practices and careful adherence to the procedures specified in this package insert.
- As with any diagnostic test, results from the Abbott RealTime HCV assay for DBS should be interpreted in conjunction with other clinical and laboratory findings. A specimen with a result of "Not Detected" cannot be presumed to be negative for HCV RNA.
- Inappropriate collection, drying, storage, and handling of DBS cards may lead to inaccurate test results.
- Ahlstrom-Munktel TFN and Whatman 903 DBS cards may be used. The use of other cards has not been validated with Abbott RealTime HCV assay.

SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS FOR DBS SPECIMENS

Limit of Detection (LoD)

The LoD of the Abbott RealTime HCV assay is 462 IU/mL with the DBS sample type. The LoD was determined by testing DBS samples prepared with a dilution series of the WHO International Standard for Hepatitis C Virus RNA diluted in HCV negative whole blood. Testing for each HCV RNA concentration was performed with 4 lots of amplification reagents across 3 days. The results, representative of the analytical sensitivity performance of the Abbott RealTime HCV assay for DBS, are summarized in **Table 1**.

Table 1. Abbott RealTime HCV for DBS Limit of Detection (LoD)

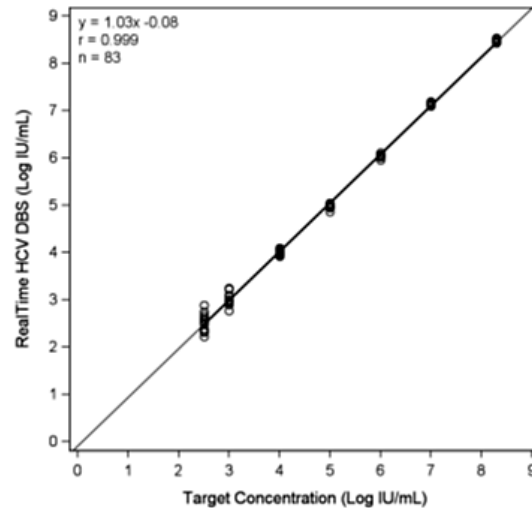
HCV RNA (IU/mL)	Number Tested	Number Detected	Percent Detected
500	84	83	99
400	84	80	95
350	84	75	89
300	84	73	87
150	84	54	64
50	84	26	31

Probit analysis of the data determined that the concentration of HCV RNA detected from dried blood spot with 95% probability was 462 IU/mL (95% CI 381 to 593 IU/mL).

Linear Range

The upper limit of quantitation (ULQ) for the Abbott RealTime HCV assay is 100 million IU/mL and the lower limit of quantitation is equivalent to the LoD (462 IU/mL) for the DBS claim. A 7-member DBS panel was prepared with HCV armored RNA diluted to concentrations ranging from 200 million IU/mL to 316 IU/mL in HCV negative whole blood. The results, representative of the Abbott RealTime HCV assay linearity for DBS, are shown in **Figure 1**.

Figure 1. Abbott RealTime HCV Assay for DBS Linearity



The Abbott RealTime HCV assay for DBS is shown to be linear across the range of HCV RNA concentrations tested (316 to 200 million IU/mL, 2.5 to 8.3 Log IU/mL).

Specificity

The target specificity of the Abbott RealTime HCV assay for DBS is greater than or equal to 99.5%. Specificity was determined by analyzing 119 HCV sero-negative specimens, across 2 lots of amplification reagents. The overall specificity was 100% (119/119).

Precision

Precision was evaluated by testing a 6-member DBS panel targeted to cover the HCV RNA concentration range from 316 IU/mL to 200 million IU/mL. Panel members with concentrations lower than 5 Log IU/mL (100,000 IU/mL) were prepared with HCV positive clinical specimen diluted in HCV negative whole blood, while panel members with concentrations greater than 5 Log IU/mL (100,000 IU/mL) were prepared with HCV armored RNA diluted in HCV negative whole blood. Each panel member was tested in 5 replicates once per day for 5 days, on 3 Abbott m2000sp/rt pairs with 3 amplification reagent lots. Within run, between run, and inter-assay (within-run and between-run) standard deviations (SD) were determined. The Abbott RealTime HCV assay for DBS was designed to achieve an inter-assay standard deviation (SD) of less than or equal to 0.25 Log IU/mL of HCV RNA for samples containing HCV concentrations from 10,000 to 100 million IU/mL. The results, representative of the precision of the Abbott RealTime HCV assay for DBS, are summarized in **Table 2**.

Table 2. Abbott RealTime HCV Assay for DBS Precision

Panel Member	N	Mean Concentration (IU/mL)	Mean Concentration (Log IU/mL)	Within-Run Component SD ^{a,e}	Between-Run Component SD ^a	Inter-Assay SD ^{a,b}	Between-Lot/Instrument Component SD ^a	Total ^{c,e}
1	63 ^d	420	2.62	0.26	0.07	0.27	0.00	0.27
2	75	1,435	3.16	0.23	0.00	0.23	0.09	0.25
3	75	13,211	4.12	0.06	0.04	0.07	0.05	0.09
4	75	395,427	5.60	0.04	0.03	0.05	0.02	0.05
5	75	14,008,770	7.15	0.12	0.04	0.13	0.05	0.14
6	75	316,713,566	8.50	0.04	0.03	0.05	0.05	0.07

^a Standard deviations (SD) are in Log IU/mL.

^b Inter-Assay contains Within-Run and Between-Run components.

^c Total includes Within-Run, Between-Run, and Between-Lot/Instrument components.

^d Mean concentration of panel member 1 is below LLoQ. The precision estimates are based on the replicates that are quantitated.

^e Within-Run SD is also known as Repeatability. Total SD is also known as Reproducibility.

Repeatability and Reproducibility for Panel Member 1 (near LLoQ) were 0.26 Log IU/mL and 0.27 Log IU/mL respectively, and for Panel Member 2 (near LLoQ) were 0.23 Log IU/mL and 0.25 Log IU/mL respectively. Repeatability and reproducibility for Panel Member 5 (near ULQ) were 0.12 Log IU/mL and 0.14 Log IU/mL respectively, and for Panel Member 6 (near ULQ) were 0.04 Log IU/mL and 0.07 Log IU/mL respectively.

Correlation

HCV RNA quantitation was compared between the Abbott RealTime HCV assay using dried blood spots and the CE-marked comparator assay, Abbott RealTime HCV testing using human plasma. Plasma and DBS specimens from a total of 346 subjects (collected and tested in Georgia, Cameroon, and Greece) were included in the analysis. Both DBS prepared from venous blood and DBS prepared from capillary blood (finger prick) were tested by the Abbott RealTime HCV assay for DBS. The quantitative results from specimens that fell within the assays' dynamic ranges were analyzed by the least squares linear regression method and Bland-Altman bias method (DBS capillary versus plasma N=346, DBS venous versus plasma N=346, and DBS capillary versus DBS venous N=345). For the correlation between DBS capillary and plasma, the correlation coefficient was 0.843, the slope was 0.91 (95% CI 0.85 to 0.97), and the intercept was 0.48 Log IU/mL (95% CI 0.12 to 0.84) (Figure 2). For the correlation between DBS venous and plasma, the correlation coefficient was 0.840, the slope was 0.94 (95% CI 0.88 to 1.00), and the intercept was 0.31 Log IU/mL (95% CI -0.07 to 0.69) (Figure 3). For the correlation between DBS capillary and DBS venous, the correlation coefficient was 0.943, the slope was 0.91 (95% CI 0.87 to 0.94), and the intercept was 0.53 Log IU/mL (95% CI 0.33 to 0.72) (Figure 4). Additionally, Bland-Altman plots for these same comparisons are presented in Figure 5, Figure 6, and Figure 7. The mean bias difference between DBS capillary and plasma was -0.05 Log IU/mL. The mean bias difference between DBS venous and plasma was -0.04 Log IU/mL. The mean bias difference between DBS capillary and DBS venous was -0.02 Log IU/mL.

Predicted bias between the DBS Capillary and Plasma was evaluated at LLoQ and ULQ target levels. In addition, predicted bias between DBS Venous and Plasma was evaluated at LLoQ and ULQ target levels. Refer to Table 3 for the predicted bias summary.

Table 3. Predicted Bias Between DBS (Capillary or Venous) and Plasma at LLoQ and ULQ

Comparison	Level	Viral Load Target Level (Log IU/mL)	Predicted Bias (Log IU/mL)
DBS Capillary vs Plasma	LLoQ	2.66	0.24
	ULQ	8.00	-0.26
DBS Venous vs Plasma	LLoQ	2.66	0.15
	ULQ	8.00	-0.17

Figure 2. DBS Capillary and Plasma

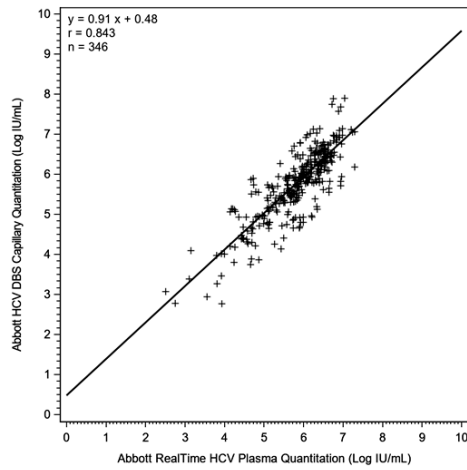


Figure 5. DBS Capillary Versus Plasma

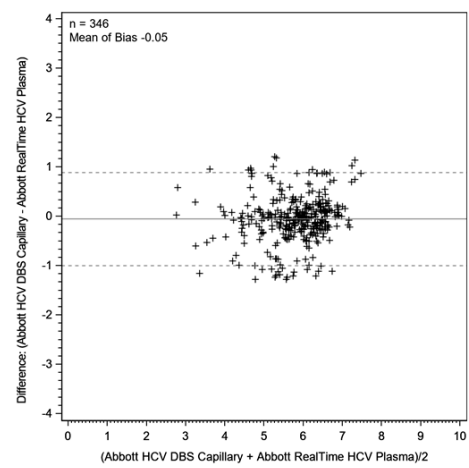


Figure 3. DBS Venous and Plasma

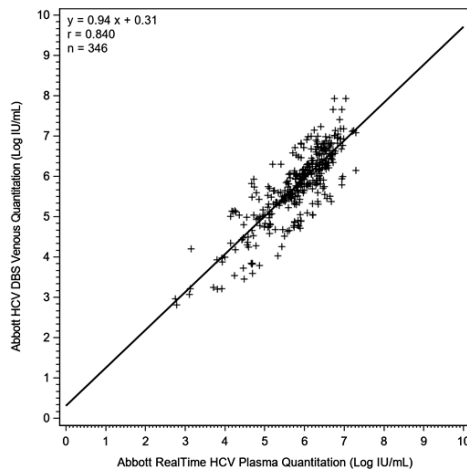


Figure 6. DBS Venous Versus Plasma

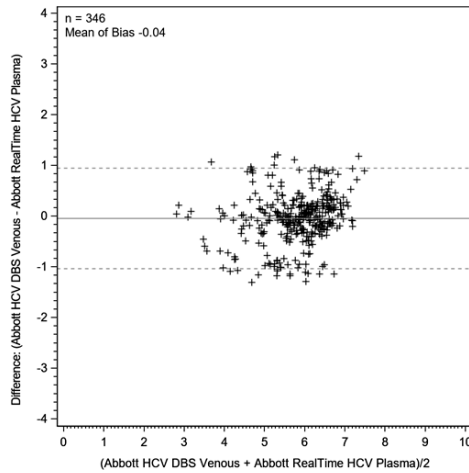


Figure 4. DBS Capillary and DBS Venous

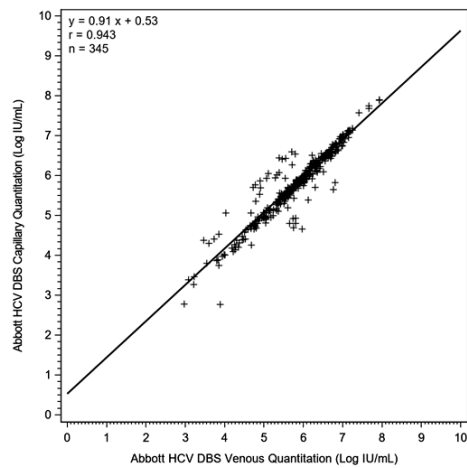
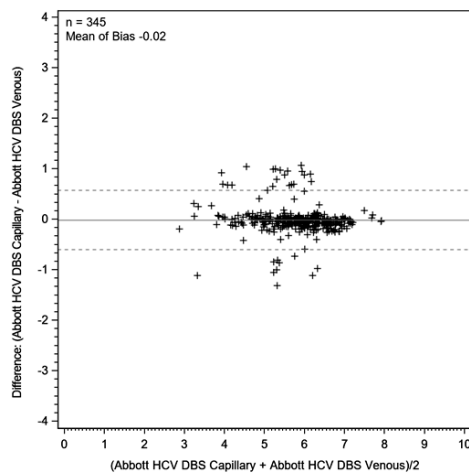


Figure 7. DBS Capillary Versus DBS Venous



BIBLIOGRAPHY

1. Gower E, Estes C, Blach S, Razavi-Shearer K, Razavi H. Global epidemiology and genotype distribution of the hepatitis C virus infection. *J Hepatol.* 2014;61(1 Suppl):S45-S57. doi:10.1016/j.jhep.2014.07.027
2. Guidelines for the screening, care and treatment of persons with chronic hepatitis C infection. World Health Organization (WHO); updated April 2016. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/205035>
3. AASLD/IDSA HCV guidance panel. *Recommendations for testing, managing, and treating hepatitis C.* AASLD/IDSA; updated October 24, 2022. <https://www.hcvguidelines.org/>
4. European Association for the Study of the Liver. EASL Recommendations on Treatment of Hepatitis C 2018. *J Hepatol.* 2018;69(2):461-511. doi:10.1016/j.jhep.2018.03.026
5. Miller MH, Agarwal K, Austin A, et al. Review article: 2014 UK consensus guidelines - hepatitis C management and direct-acting anti-viral therapy. *Aliment Pharmacol Ther.* 2014;39(12):1363-1375. doi:10.1111/apt.12764
6. Davis GL, Esteban-Mur R, Rustgi V, et al. Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin for the treatment of relapse of chronic hepatitis C. International Hepatitis Interventional Therapy Group. *N Engl J Med.* 1998;339(21):1493-1499. doi:10.1056/NEJM199811193392102
7. Manns MP, McHutchison JG, Gordon SC, et al. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial. *Lancet.* 2001;358(9286):958-965. doi:10.1016/s0140-6736(01)06102-5
8. Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR, et al. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med.* 2002;347(13):975-982. doi:10.1056/NEJMoa020047
9. Hadziyannis SJ, Sette H Jr, Morgan TR, et al. Peginterferon-alpha2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose. *Ann Intern Med.* 2004;140(5):346-355. doi:10.7326/0003-4819-140-5-200403020-00010
10. Orlent H, Deltenre P, Francque S, et al. Update of the Belgian Association for the Study of the Liver guidelines for the treatment of chronic hepatitis C genotype 1 with protease inhibitors. *Acta Gastroenterol Belg.* 2012;75(2):245-259.
11. Halfon P, Bourlière M, Pénaranda G, Khiri H, Ouzan D. Real-time PCR assays for hepatitis C virus (HCV) RNA quantitation are adequate for clinical management of patients with chronic HCV infection. *J Clin Microbiol.* 2006;44(7):2507-2511. doi:10.1128/JCM.00163-06
12. Kowdley KV, Nelson DR, Lalezari JP, et al. On-treatment HCV RNA as a predictor of sustained virological response in HCV genotype 3-infected patients treated with daclatasvir and sofosbuvir. *Liver Int.* 2016;36(11):1611-1618. doi:10.1111/liv.13165
13. Yoshida EM, Sulkowski MS, Gane EJ, et al. Concordance of sustained virological response 4, 12, and 24 weeks post-treatment with sofosbuvir-containing regimens for hepatitis C virus. *Hepatology.* 2015;61(1):41-45. doi:10.1002/hep.27366
14. WHO Guidelines on Hepatitis B and C Testing. World Health Organization (WHO); 2017. <https://www.who.int/publications/i/item/9789241549981>
15. Saldanha J, Heath A, Aberham C, et al. World Health Organization collaborative study to establish a replacement WHO international standard for hepatitis C virus RNA nucleic acid amplification technology assays. *Vox Sang.* 2005;88(3):202-204. doi:10.1111/j.1423-0410.2005.00606.x

TECHNICAL ASSISTANCE

For technical assistance, call Abbott Technical Services at 1-800-553-7042 (within the US) or +49-6122-580 (outside the US), or visit the Abbott website at www.molecular.abbott.

SUMMARY OF SAFETY AND PERFORMANCE STATEMENT

A summary of safety and performance (SSP) for this device is available at <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>. This is the SSP location after the launch of European Database on Medical Devices. Search for device using UDI-DI provided on the outer packaging of the device.

Abbott RealTime HCV is imported into the European Union by Abbott Diagnostics GmbH, located at Max-Planck- Ring 2, 65205 Wiesbaden, Germany



Abbott Molecular Inc.
1300 East Touhy Avenue
Des Plaines, IL 60018 USA



Abbott GmbH
Max-Planck-Ring 2
65205 Wiesbaden, Germany

© 2020, 2024 Abbott. All Rights Reserved.

51-608440/R3

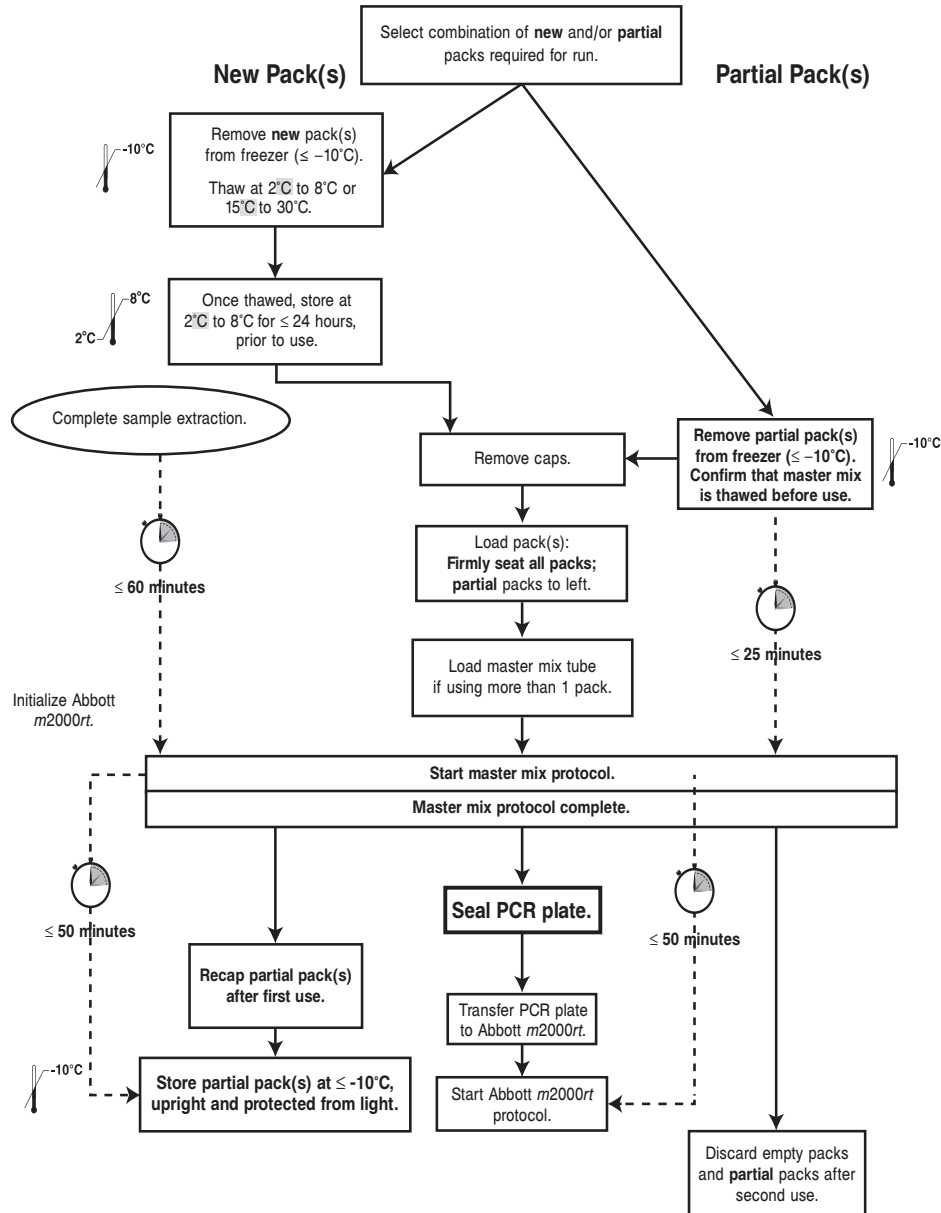
August 2024

APPENDIX 1. OVERVIEW OF THE ABBOTT REALTIME HCV AMPLIFICATION REAGENT EXTENDED USE FEATURE

The amplification reagent extended use feature allows for the use of an amplification reagent pack and internal control (IC) a total of 2 times. Amplification reagent packs that have not yet been used to prepare master mix are referred to as **new** amplification reagent packs. Amplification reagent packs that have been used once and contain prepared master mix are referred to as **partial** amplification reagent packs. Refer to the instructions provided in this manual for additional details.

Storage Conditions (Amplification Reagent Pack and Internal Control Vials)		
Pack Type	Storage Temperature	Storage Time
New Packs	-10°C or colder	Until date shown on label
New IC	-10°C or colder	Until date shown on label
Partial Packs	-10°C or colder (protected from light)	Up to 14 days after initial use
Partial IC	-10°C or colder	Up to 14 days after initial use

- If using UNG for contamination control procedure, refer to the Assay Protocol step 25 and 32 for specific instructions.



- Amplification reagent packs eligible for extended use must have a 6-digit serial number above the barcode.
- Partial** amplification reagent packs can only be used a second time on the same instrument as the initial use. Using them on a different instrument will generate a processing error, which may delay the run.
- Partial** and **new** amplification reagent packs may be used together. All amplification reagent packs used on the instrument for a run must have the same lot number.

Abbott RealTime HCV

Ergänzung für Dried Blood Spot (DBS, Trockenblutproben)

de

GTIN

REF

04J86-010

IVD

51-608440/R3

REF 04J86-010

51-608440/R3

Bitte Änderungen beachten

Erläuterung der verwendeten Symbole	
	Global Trade Item Number
	Bestellnummer
	In-vitro-Diagnostikum
	Maximal zulässige Zeitspanne
	Temperaturobergrenze
	Temperaturgrenze
	Bevollmächtigter in der Europäischen Gemeinschaft/Europäischen Union
	Hersteller

BEI FRAGEN WENDEN SIE SICH BITTE AN IHREN ABBOTT KUNDENDIENST

Diese Packungsbeilage muss vor der Verwendung aufmerksam gelesen werden. Die Anweisungen der Packungsbeilage sind zu befolgen. Bei Abweichungen von den Anweisungen dieser Packungsbeilage kann die Zuverlässigkeit der Assay-Ergebnisse nicht garantiert werden.

Diese Gebrauchsanweisung ist eine Ergänzung zur Packungsbeilage des Abbott RealTime HCV-Assays (Bestellnr. 4J86), speziell für den Probentyp Dried Blood Spot (DBS, Trockenblutproben).

HINWEIS FÜR BENUTZER

Bei schwerwiegenden Vorfällen im Zusammenhang mit diesem Produkt sollte der Vorfall dem Hersteller und der zuständigen Behörde des Landes, in dem der Benutzer und/oder Patient wohnhaft sind, gemeldet werden. Kontaktinformationen zum Hersteller enthält der Abschnitt „Kundendienst“ in dieser Packungsbeilage.

NAME

Abbott RealTime HCV

ZUR VERWENDUNG MIT DBS

Der Abbott RealTime HCV-Assay nutzt einen Assay mit In-vitro-Reverse-Transkriptase-Polymerase-Kettenreaktion (RT-PCR) zur Quantifizierung von RNA des Hepatitis-C-Virus (HCV-RNA) in Vollblut von HCV-infizierten Personen, das als Trockenblutprobe (DBS) auf Karten aufgebracht wurde (d. h. entnommen über Venenpunktion oder Kapillarblut). Der Abbott RealTime HCV-Assay ist als Hilfsmittel bei der Behandlung von HCV-infizierten, antiviral behandelten Patienten vorgesehen. Der Abbott RealTime HCV Assay ist nicht zum Screening von Blut-, Plasma-, Serum- oder Gewebespender auf HCV oder zur Verwendung als diagnostischer Test zur Bestätigung einer HCV-Infektion vorgesehen.

VORGESEHENE BENUTZER

Die vorgesehenen Benutzer des Abbott RealTime HCV-Assays sind Laborfachkräfte.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERLÄUTERUNG DES TESTS

Das Hepatitis-C-Virus (HCV) ist eine der Hauptursachen für eine Lebererkrankung. Schätzungen zufolge sind etwa 1,1 % der Bevölkerung chronisch mit Hepatitis C infiziert¹ und sterben jedes Jahr etwa 700.000 Menschen an Hepatitis-C-bedingten Lebererkrankungen.² HCV ist ein RNA-Virus mit positiver Polarität, das hauptsächlich über intravenösen Drogenkonsum und über Blutprodukte übertragen wird. Etwa 55 bis 85 % der HCV-infizierten Personen erkranken an chronischer Hepatitis, wobei bis zu 30 % der chronisch infizierten Personen eine Leberzirrhose entwickeln.¹ Bei Patienten mit Leberzirrhose liegt die Inzidenz eines hepatozellulären Karzinoms bei 2 bis 4 % pro Jahr.¹ Die quantitative Messung des Gehalts an HCV-RNA im peripheren Blut

hat sich als wesentlicher Parameter beim Management verschiedener Anti-HCV-Therapien erwiesen.⁶⁻¹³ Mit der Einführung von direkt wirkenden antiviralen Therapieverfahren hat sich die Behandlung von HCV-Infektionen dramatisch weiterentwickelt. Ziel der Anti-HCV-Therapien ist es, ein dauerhaftes virologisches Ansprechen (SVR) zu erreichen, das sich als dauerhaftes Fehlen nachweisbarer HCV-RNA zeigt.²⁻⁵ Messungen der HCV-Viruslast wurden zur Individualisierung der Behandlungsdauer und der reaktionsorientierten Therapie oder zur Bestimmung und Prognose einer dauerhaften bzw. nicht dauerhaften virologischen Reaktion auf die antivirale Therapie eingesetzt.²⁻⁵ Der Großteil der globalen HCV-Belastung betrifft Länder mit niedrigem und mittlerem Einkommen (LMICs).¹⁴ Die Identifizierung von Patienten mit aktiver HCV-Infektion ist in diesen Gebieten aufgrund der eingeschränkten Ressourcen sehr begrenzt. Vollblut in Form von Dried Blood Spot (DBS, Trockenblutprobe) kann als Alternative zu Serum oder Plasma für HCV-RNA-Tests eingesetzt werden. Die DBS-Methode ist eine praktikable Option, die viele logistische und technische Einschränkungen im Zusammenhang mit der Gewinnung, Verarbeitung, Lagerung und dem Versand von Serum oder Plasma beseitigt. Die Leitlinien der Weltgesundheitsorganisation (WHO) zu Hepatitis-C-Tests enthalten Empfehlungen für die Verwendung der DBS-Methode bei virologischen HCV-Tests in Gebieten mit begrenzten Ressourcen.¹⁴ Der Abbott RealTime HCV-Assay für DBS verwendet die Reverse-Transkriptase-Polymerase-Kettenreaktion (RT-PCR) in Kombination mit einem homogenen Echtzeit-Fluoreszenznachweis zur Quantifizierung der HCV-RNA in DBS. Die Auswahl einer konservierten Region des HCV-Genoms ermöglicht den Nachweis der Genotypen 1 bis 6. Der Assay wurde gegen den 2. Internationalen WHO-Standard für Hepatitis C Virus-RNA (NIBSC-Code 96/798) standardisiert¹⁵, und die Ergebnisse werden in internationalen Einheiten/ml (IE/ml) oder dem entsprechenden Logarithmus zur Basis 10 angegeben.

BIOLOGISCHE VERFAHRENSGRUNDLAGEN

Der Abbott RealTime HCV-Assay für DBS umfasst 3 Reagenzkits:

- Abbott RealTime HCV Amplifikation Reagent Kit
- Abbott RealTime HCV Control Kit
- Abbott RealTime HCV Calibrator Kit

Der Abbott RealTime HCV-Assay für DBS verwendet RT-PCR zur Erzeugung eines amplifizierten Produkts aus dem HCV-RNA-Genom in humanen DBS-Proben. Die Schritte des Abbott RealTime HCV-Assays für DBS bestehen aus präanalytischer DBS-Behandlung, Probenvorbereitung, RT-PCR-Aufbau, Amplifikation, Detektion und Ergebnisausgabe. Die präanalytische DBS-Behandlung wird mit dem Abbott mSample Preparation System DBS Buffer Kit durchgeführt, bevor die Probe in das Abbott m2000sp System geladen wird. Nach der präanalytischen DBS-Behandlung werden alle nachfolgenden Schritte automatisch von den Systemen Abbott m2000sp und Abbott m2000rt ausgeführt.

Weitere Informationen zu Probenvorbereitung, RT-PCR-Aufbau, Amplifikation und Detektion finden Sie in der Packungsbeilage des Abbott RealTime HCV-Assays (Bestellnr. 4J86).

ERWEITERTE VERWENDUNG FÜR DAS AMPLIFIKATIONSREAGENZ

Mit der optionalen erweiterten Verwendungsfunktion für das Amplifikationsreagenz können die Reagenzpackungen zur Amplifikation und die IC insgesamt 2 x verwendet werden. Reagenzpackungen zur Amplifikation mit vorbereitetem Master Mix können vor der zweiten Verwendung bis zu 14 Tage lang verschlossen und vor Licht geschützt bei -10 °C oder kälter gelagert werden. Die interne Kontrolle (IC) kann vor der zweiten Verwendung bis zu 14 Tage lang verschlossen bei -10 °C oder kälter gelagert werden. Die zweite Verwendung muss vor Ablauf des Verfallsdatums des Reagenz erfolgen.

Eine Übersicht über diese Funktion finden Sie in Anhang 1 dieser Gebrauchsanweisung.

In dieser Gebrauchsanweisung werden Reagenzpackungen zur Amplifikation und IC, die noch nicht verwendet wurden, als neue Reagenzpackungen zur Amplifikation bzw. neue IC (d. h. erstmalige Anwendung) bezeichnet. Reagenzpackungen zur Amplifikation, die einmal verwendet wurden und einen vorbereiteten Master Mix enthalten, werden als partielle Reagenzpackungen zur Amplifikation bezeichnet. IC-Fläschchen, die einmal verwendet wurden, werden als partielle IC-Fläschchen bezeichnet.

VERMEIDEN EINER NUKLEINSÄUREKONTAMINATION

Siehe Packungsbeilage des Abbott RealTime HCV-Assays (Bestellnr. 4J86).

REAGENZIEN

Siehe Packungsbeilage des Abbott RealTime HCV-Assays (Bestellnr. 4J86).

WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

IVD

Zur Verwendung als In-vitro-Diagnostikum

Der Abbott RealTime HCV-Assay für DBS ist nicht zum Screening von Blut-, Plasma-, Serum- oder Gewebespendern auf HCV oder zur Verwendung als diagnostischer Test zur Bestätigung einer HCV-Infektion vorgesehen.

SICHERHEITSVORKEHRUNGEN

Siehe Packungsbeilage des Abbott RealTime HCV-Assays (Bestellnr. 4J86). Der Abbott RealTime HCV-Assay für DBS verwendet nur die Geräte *Abbott m2000sp* und *Abbott m2000rt*.

BESONDERE VORSICHTSMASSNAHMEN

Vorsichtsmaßnahmen bei der Handhabung von DBS-Proben

Der Abbott RealTime HCV-Assay für DBS ist nur zur Verwendung mit Vollblut oder DBS-Proben vorgesehen, die wie im Abschnitt **PROBENENTNAHME, LAGERUNG UND TRANSPORT ZUM TESTSTANDORT** beschrieben behandelt und gelagert wurden.

Siehe Packungsbeilage des Abbott RealTime HCV-Assays (Bestellnr. 4J86). Spezifische Vorsichtsmaßnahmen bei der Handhabung von DBS:

- Sicherstellen, dass die DBS-Karten vor der Lagerung in einem Beutel mit Trockenmittel vollständig getrocknet sind. Unsachgemäßes Auftragen, Trocknen, Lagern und Handhaben der DBS-Proben kann zu ungenauen Testergebnissen führen.
- Um eine Kontamination anderer Proben zu vermeiden, für jede DBS-Probe eine neue Pipettenspitze verwenden, wenn Sie den Spot aus der perforierten DBS-Karte herausdrücken. Wenn eine nicht perforierte DBS-Karte verwendet wird, sicherstellen, dass das zum Abtrennen des Spots verwendete Werkzeug vor und nach dem Kontakt mit der DBS-Probe dekontaminiert wird.

Arbeitsbereiche

Nur zwei fest zugeordnete Bereiche, **Probenvorbereitungsbereich und Amplifikationsbereich**, werden zur Bearbeitung empfohlen, wenn *Abbott m2000sp* und *Abbott m2000rt* verwendet werden.

Siehe Packungsbeilage des Abbott RealTime HCV-Assays (Bestellnr. 4J86).

Kontamination durch Aerosole

Siehe Packungsbeilage des Abbott RealTime HCV-Assays (Bestellnr. 4J86).

Kontamination und Hemmung

Siehe Packungsbeilage des Abbott RealTime HCV-Assays (Bestellnr. 4J86).

Kontamination durch externe dU-(Desoxy-Uracil)haltige

Amplifikationsprodukte

Labore, die HCV-Amplifikationsassays verwenden oder verwendet haben, die die post-PCR-Verarbeitung des amplifizierten Produkts beinhalten, sind möglicherweise durch dU-haltige Amplifikationsprodukte kontaminiert. Eine derartige Kontamination kann zu ungenauen Ergebnissen im Abbott RealTime HCV-Assay für DBS führen. Weitere Informationen finden Sie im Abschnitt **Kontaminationskontrolle des Labors** in der Packungsbeilage des Abbott RealTime HCV-Assays (Bestellnr. 4J86). Wenn Negativ-Kontrollen dauerhaft reaktiv sind oder wenn eine Kontamination mit einem dU-haltigen HCV-Amplifikationsprodukt wahrscheinlich ist, wird empfohlen, dass das Labor das Uracil-N-Glycosylase (UNG)-Kontaminationskontrollverfahren verwendet, wenn die Dekontamination des Labors nicht erfolgreich ist.

LAGERUNGSANWEISUNGEN

Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit (Bestellnr. 4J86-90)

-  **Neue** und **partielle** Abbott RealTime HCV Reagenzpackungen zur Amplifikation und Flaschen mit interner Kontrolle (IC) müssen bei -10 °C oder kälter gelagert werden, wenn sie nicht verwendet werden. Es ist darauf zu achten, dass die Abbott RealTime HCV Reagenzpackung zur Amplifikation, die gerade verwendet wird, nicht in direkten Kontakt mit Proben, Kalibratoren und Kontrollen kommt.
- **Partielle** Reagenzpackungen zur Amplifikation und IC müssen nach der ersten Verwendung verschlossen, aufrecht und vor Licht geschützt bei -10 °C oder kälter gelagert werden. Bei entsprechender Lagerung können **partielle** Reagenzpackungen zur Amplifikation mit vorbereitetem Master Mix innerhalb von 14 Tagen nach der ersten Verwendung ein zweites Mal verwendet werden. Auch die IC kann innerhalb von 14 Tagen nach dem Auftauen ein zweites Mal verwendet werden, wenn sie verschlossen bei -10 °C oder kälter gelagert wird. Nach 2 Einsätzen müssen die partiellen Reagenzpackungen zur Amplifikation und die partielle IC entsorgt werden. Die zweite Verwendung muss vor Ablauf des Verfallsdatums des Reagenz erfolgen.

Abbott RealTime HCV Control Kit (Bestellnr. 4J86-80)

-  Die Abbott RealTime HCV negativen und positiven Kontrollen müssen bei -10 °C oder kälter gelagert werden.

Abbott RealTime HCV Calibrator Kit (Bestellnr. 4J86-70)

-  Abbott RealTime HCV Kalibrator A und Kalibrator B müssen bei -10 °C oder kälter gelagert werden.

VERSANDBEDINGUNGEN

Siehe Packungsbeilage des Abbott RealTime HCV-Assays (Bestellnr. 4J86).

ANZEICHEN AUF INSTABILITÄT ODER ZERFALL DER REAGENZIEN

Siehe Packungsbeilage des Abbott RealTime HCV-Assays (Bestellnr. 4J86).

GERÄTEVERFAHREN

Vor der Durchführung des Assays muss die Anwendungsdatei für Abbott RealTime HCV für DBS auf den Systemen *Abbott m2000sp* und *Abbott m2000rt* von der Abbott RealTime HCV *m2000 ROW* System Combined Application CD-ROM installiert werden (Bestellnr. 01L69-040 oder höher). Detaillierte Informationen zur Installation von Anwendungsdateien finden Sie in den *Abbott m2000sp* und *Abbott m2000rt* Bedienungsanleitungen, Kapitel Anweisungen zur Bedienung.

PROBENENTNAHME, LAGERUNG UND TRANSPORT ZUM TESTSTANDORT

Probenentnahme und Lagerung

- Zur Vorbereitung des DBS mittels Fingerstich gewonnenes Vollblut oder EDTA-Vollblut verwenden. EDTA-Vollblut muss während Lagerung und Versand unter kontrollierten Temperaturbedingungen gehalten werden (2 °C bis 8 °C für bis zu 48 Stunden oder für bis zu 24 Stunden bei einer Umgebungstemperatur von maximal 30 °C).
- In ein Röhrchen entnommenes EDTA-Vollblut vor dem Auftragen gründlich durch mehrmaliges vorsichtiges Umdrehen durchmischen. Das Blut auf die 12-mm-Kreise auf der Ahlstrom-Munkell TFN-Papierkarte oder Whatman 903 auftragen und dabei sicherstellen, dass der gesamte Kreis bedeckt ist. Es wird empfohlen, für jeden Kreis mindestens 70 µl Blut (ca. 3 bis 5 Blutropfen) zu verwenden, um eine vollständige Abdeckung zu gewährleisten.
- Die Karte mindestens 3 Stunden lang bei Raumtemperatur an der Luft trocknen lassen. Jede Karte in einem verschließbaren Beutel mit Trockenmittelpackungen (mindestens 2 bis 3 Trockenmittelpackungen) verpacken.
- DBS-Probenkarten können vor der Assay-Verarbeitung unter den in der nachfolgenden Tabelle angegebenen Bedingungen aufbewahrt werden.

Lagerung der DBS-Probenkarte

Lagerungsbedingung	Maximale Lagerungszeit
2 °C bis 30 °C bei Umgebungsfeuchtigkeit	18 Wochen
≤ 37 °C bei Umgebungsfeuchtigkeit	12 Wochen
≤ 45 °C bei Umgebungsfeuchtigkeit	8 Wochen
≤ 38 °C bei hoher Luftfeuchtigkeit (≤ 85 %)	4 Wochen
-25 °C bis -15 °C bei Umgebungsfeuchtigkeit	18 Wochen
-70 °C oder kälter bei Umgebungsfeuchtigkeit	18 Wochen

Probentransport

Die Proben gemäß der empfohlenen Lagertemperatur und -zeit, die im obigen Abschnitt **Probenentnahme und Lagerung** aufgeführt sind, versenden. Bei einem Versand ins In- und Ausland sind die Proben gemäß den geltenden regionalen, nationalen und internationalen Bestimmungen zum Transport klinischer, diagnostischer oder biologischer Proben zu verpacken und zu kennzeichnen.

ABBOTT REALTIME HCV-TESTVERFAHREN FÜR DBS

Erforderliche Materialien, die nicht im Lieferumfang enthalten sind

- Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit (Bestellnr. 4J86-90)
- Abbott RealTime HCV Calibrator Kit (Bestellnr. 4J86-70)
- Abbott RealTime HCV Control Kit (Bestellnr. 4J86-80)

Für den Probenvorbereitungsbereich des Abbott m2000sp Geräts

- Abbott mSample Preparation System DBS Buffer Kit (Bestellnr. 09N02-001)
- Abbott m2000sp Gerät (Bestellnr. 09K14-01, 09K14-02)
- Abbott mSample Preparation System (4 × 24 Präparationen) (Bestellnr. 04J70-24)
- Kalibrierte Präzisionspipetten mit einem Abgabevolumen von 20 bis 1000 µl (Kalibrierte Präzisionspipetten mit einem Abgabevolumen von < 20 µl sind möglicherweise bei Verwendung von UNG erforderlich.)

- Pipettenspitzen mit Aerosol-Barriere für 20- bis 1000-µl-Pipetten (Pipettenspitzen mit Aerosol-Barriere und einem Abgabevolumen von < 20 µl sind möglicherweise bei Verwendung von UNG erforderlich.)
- Vortexmischer
- Mastermix-Röhrchen (Bestellnr. 04J71-80)
- Abbott 96-Deep-Well Plate (Bestellnr. 04J71-30)
- 5-ml-Reaktionseinsätze (Bestellnr. 04J71-20)
- 200-ml-Reagenzeinsätze (Bestellnr. 04J71-60)
- Abbott 96-Well Optical Reaction Plate (Bestellnr. 04J71-70)
- Abbott Optical Adhesive Covers (Bestellnr. 04J71-75)
- Abbott Adhesive Cover Applicators (Bestellnr. 9K32-01)
- Abbott Splash-Free Support Base (Bestellnr. 9K31-01)
- Abbott RealTime HCV m2000 ROW System Combined Application CD-ROM (Bestellnr. 01L69-040 oder höher)
- m2000 System 13mm DBS-PoS Set (Bestellnr. 09N03-001)
- 1,4-ml-Mikroröhrchen mit 15-mm-Verschluss (Bestellnr. 03N20-01), optional
- Uracil N-Glycosylase (UNG)^a (Bestellnr. 6L87-02)

^aBei Bedarf, gemäß dem Abschnitt **Kontamination durch externe dU-haltige Amplifikationsprodukte** in dieser Gebrauchsanweisung.

Für den Amplifikationsbereich des Abbott m2000rt Geräts

- Abbott m2000rt Gerät (Bestellnr. 9K15-01)
- Abbott RealTime HCV m2000 ROW System Combined Application CD-ROM (Bestellnr. 01L69-040 oder höher)
- Abbott m2000rt Optical Calibration Kit (Bestellnr. 04J71-93)

Sonstige Materialien

- Biologische Sicherheitswerkbank, zugelassen für die Arbeit mit infektiösen Materialien
- Verschließbarer Beutel für DBS-Karte
- Trockenmittelpackung für DBS-Karte
- Ahlstrom-Munkell TFN-Papierkarte und/oder Whatman 903
- Verschließbarer Kunststoffbeutel zur Entsorgung von 96-Well-Reaktionsplatten
- RNase-freies Wasser (Eppendorf oder gleichwertig)^b
- 1,7-ml-Mikrozentrifugenröhrchen in molekularbiologischer Qualität (Dot Scientific, Inc. oder gleichwertig)^b
- Wattestäbchen (Puritan oder gleichwertig)^b

^b**Hinweis:** Diese 3 Positionen werden im Verfahren zur Kontaminationsüberprüfung im Labor verwendet. Weitere Informationen finden Sie im Abschnitt **VERFAHREN ZUR QUALITÄTSKONTROLLE** in der Packungsbeilage des Abbott RealTime HCV-Assays (Bestellnr. 4J86).

Vorsichtsmaßnahmen bei der Durchführung

- Die Anweisungen in dieser Gebrauchsanweisung vor der Probenverarbeitung sorgfältig durchlesen.
- Amplifikationsreagenzien und interne Kontrolle können maximal 2 x verwendet werden, wie in dieser Gebrauchsanweisung beschrieben. Die Fläschchen für Abbott RealTime HCV Calibrators, Negative Control, Low Positive Control und High Positive Control sind nur für den Einmalgebrauch bestimmt und müssen nach der Verwendung entsorgt werden.
- Pipettenspitzen mit Aerosol-Barriere und Einwegpipetten nur 1 x für die Pipettierung von Proben oder IC verwenden. Um eine Kontamination des Pipettenzylinders während der Pipettierung zu vermeiden, darauf achten, dass der Pipettenzylinder nicht mit der Innenseite des Probenröhrchens oder -behälters in Berührung kommt. Die Verwendung von extra langen Pipettenspitzen mit Aerosol-Barriere wird empfohlen.
- Überwachungsverfahren auf das Vorhandensein eines Amplifikationsprodukts finden Sie im Abschnitt **VERFAHREN ZUR QUALITÄTSKONTROLLE**.
- Um das Risiko einer Nukleinsäurekontamination zu verringern, verschüttete Proben mit einem tuberkuloziden Desinfektionsmittel wie 1,0%igem Natriumhypochlorit oder einem anderen geeigneten Desinfektionsmittel reinigen und desinfizieren.
- Die Abbott RealTime HCV Calibrators und Controls müssen zusammen mit den zu testenden Proben vorbereitet werden. Die Verwendung der Abbott RealTime HCV Controls und Calibrators ist von entscheidender Bedeutung für die Leistung des Abbott RealTime HCV-Assays. Nähere Informationen finden Sie im Abschnitt **VERFAHREN ZUR QUALITÄTSKONTROLLE**.
- Das Protokoll zur Abbott m2000sp Master Mix Addition muss innerhalb von 1 Stunde nach Abschluss der Probenvorbereitung eingeleitet werden.
- Wenn das Protokoll zur Abbott m2000sp Master Mix Addition abgebrochen wird, müssen die Amplifikationsreagenzien, die zum zweiten Mal verwendet wurden, entsorgt werden. Neue Reagenzpackungen, die zum ersten Mal verwendet werden, können aufbewahrt und für den späteren Gebrauch wie in diesem Handbuch beschrieben gelagert werden.

- Das Abbott m2000rt-Protokoll muss innerhalb von 50 Minuten nach Einleitung des Protokolls zur Master Mix Addition gestartet werden. Wenn der Abbott m2000rt Gerätelauflauf nicht innerhalb von 50 Minuten eingeleitet bzw. unterbrochen oder abgebrochen wird, muss die Abbott 96-Well Optical Reaction Plate in einem verschließbaren Plastikbeutel versiegelt und gemäß Abbott m2000rt Bedienungsanleitung zusammen mit den Handschuhen, die für die Handhabung der Platte verwendet wurden, entsorgt werden.
WICHTIG: Amplifikationsreagenzien, die ein zweites Mal verwendet werden, müssen innerhalb von 50 Minuten nach Beginn des Protokolls zur Master Mix Addition bei -10 °C oder kälter gelagert werden.

ASSAY-PROTOKOLL: DBS-PROBEN UNTER VERWENDUNG DER ABBOTT m2000sp UND ABBOTT m2000rt GERÄTE

Eine ausführliche Beschreibung der Durchführung von Abbott m2000sp und Abbott m2000rt Geräteprotokollen finden Sie in den Abbott m2000sp und Abbott m2000rt Bedienungsanleitungen, Kapitel Anweisungen zur Bedienung. Das DBS-Protokoll erfordert die Abbott m2000sp Software-Version 6.0 oder höher. Bitte befolgen Sie die Abbott m2000sp Bedienungsanleitung (Bestellnr. 09K20, Version 6 oder höher).

In einem Durchlauf können insgesamt 96 Proben bearbeitet werden. In jedem Durchlauf sind eine Abbott RealTime HCV Negativ-Kontrolle, eine niedrige Positiv-Kontrolle und eine hohe Positiv-Kontrolle enthalten, sodass pro Lauf maximal 93 DBS-Proben verarbeitet werden können, sofern keine Kalibratoren enthalten sind. Kalibratoren und Kontrollen werden direkt als flüssige Proben verarbeitet; Schritt 1 bis Schritt 5 sind nur für die DBS-Proben vorgesehen. Plasma- oder Serumproben bei keinem Lauf verarbeiten, bei dem das DBS-Protokoll verwendet wird. Für jede DBS-Probe sollte ein einzelnes Abbott Mastermix-Röhrchen für das gesamte Probenverarbeitungsverfahren verwendet werden. Die DBS-Proben müssen während der gesamten Verarbeitung gekennzeichnet sein.

1. Das Abbott Mastermix-Röhrchen mit 1,3 ml mDBS-Puffer aus dem Abbott mSample Preparation System DBS Buffer Kit füllen (Bestellnr. 09N02-001).

HINWEIS: Für diesen Schritt keinen mLysis Buffer oder andere Reagenzien verwenden

2. Die perforierte DBS-Papierkarte über das Abbott Mastermix-Röhrchen halten.
3. Den DBS-Kreis mit einer sauberen Pipettenspitze aus der Karte herausdrücken, 1 DBS-Kreis pro Abbott Mastermix-Röhrchen. Jeder DBS sollte einen Durchmesser von etwa 12 mm haben.

HINWEIS: FÜR JEDE DBS-PROBE EINE NEUE PIPETTENSPIITZE VERWENDEN, UM KREUZKONTAMINATION ZU VERMEIDEN.

Alternativ aus nicht perforiertem DBS-Papier für jede Probe 1 gesamten DBS (Durchmesser ca. 12 mm) ausschneiden und in ein Abbott Mastermix-Röhrchen überführen.

HINWEIS: Direkten Kontakt der Schnittfläche mit DBS-Proben vermeiden. Bei Bedarf das Werkzeug zum Schneiden der DBS zwischen den Proben entsprechend den Normen für gute Laborpraxis dekontaminieren.

4. Sicherstellen, dass der DBS-Kreis vollständig in den mDBS Buffer eingetaucht ist. Dazu auf das Röhrchen klopfen oder den DBS mit der Pipettenspitze in den Puffer schieben.
HINWEIS: Wenn der DBS mit einer Pipettenspitze in den Puffer geschoben wird, ist darauf zu achten, dass die Pipettenspitze aufgrund von Flüssigkeitsaufnahme in der Spitze und/oder Absorption des Puffers durch den Spitzenfilter keinen Verlust des DBS-Puffervolumens verursacht.
5. Die Probenröhrchen manuell schütteln oder schwenken. Die Proben nicht vortexen. 30 Minuten lang (± 2 Minuten) bei Raumtemperatur inkubieren.
6. Währenddessen die Assay-Kontrollen und die interne Kontrolle (IC) bei 15 °C bis 30 °C bzw. bei 2 °C bis 8 °C auftauen. Kalibratoren nur bei 15 °C bis 30 °C bzw. bei 2 °C bis 8 °C auftauen, wenn eine Kalibrierung durchgeführt wird.
HINWEIS: Nach dem Auftauen können Assay-Kontrollen, IC und Kalibratoren vor Gebrauch bis zu 24 Stunden lang bei 2 °C bis 8 °C gelagert werden.
7. Alle Testkalibratoren und alle Kontrollen vor dem Einsatz 3 x für je 2 bis 3 Sekunden vortexen. Sicherstellen, dass sich der Inhalt jedes Fläschchens am Boden befindet. Dazu mit den Fläschchen auf die Tischplatte klopfen, um die Flüssigkeit nach unten zu bringen. Es dürfen keine Luft- oder Schaumbblaschen vorhanden sein. Bläschen ggf. mit einer sterilen Pipettenspitze entfernen. Dabei für jedes Fläschchen eine frische Spitze verwenden.
8. Die Amplifikationsreagenzien bei 15 °C bis 30 °C bzw. bei 2 °C bis 8 °C auftauen und bei 2 °C bis 8 °C aufbewahren, bis sie für das Verfahren für den Master Mix zur Amplifikation benötigt werden.
9. **Neue und/oder partielle** Reagenzpackungen zur Amplifikation für den Lauf auswählen. Anweisungen zum Inventarmanagement der Reagenzpackung zur Amplifikation finden Sie in der Abbott m2000sp Bedienungsanleitung (Bestellnr. 09K20 Version 6 oder höher),

Kapitel Anweisungen zur Bedienung. Reagenzpackungen zur Amplifikation müssen dieselbe Chargennummer haben.
Neue Amplifikationsreagenzien bei 15 °C bis 30 °C bzw. bei 2 °C bis 8 °C auftauen und bei 2 °C bis 8 °C lagern, bis sie für das Verfahren für den Master Mix zur Amplifikation benötigt werden.

HINWEIS: Nach dem Auftauen können die neuen Amplifikationsreagenzien bis zu 24 Stunden bei 2 °C bis 8 °C gelagert werden, wenn sie nicht sofort verwendet werden. Die zum zweiten Mal verwendeten partiellen Reagenzpackungen zur Amplifikation vor Gebrauch NICHT bei 2 °C bis 8 °C lagern. Sie sind bei Temperaturen von -10 °C oder kälter aufzubewahren, bis sie für die Zugabe zum Master Mix benötigt werden. Nach der Entnahme aus dem Gefrierschrank darf ihre kumulative Exposition gegenüber Raumtemperatur 25 Minuten nicht überschreiten; auch dann, wenn die Packungen aus dem Lagerplatz entnommen, aber nicht verwendet werden. Wenn 25 Minuten überschritten werden, sind die partiellen Reagenzpackungen zur Amplifikation zu entsorgen.

Die folgende Tabelle zeigt die Anzahl der erforderlichen Reagenzien zur Probenvorbereitung und Fläschchen der internen Kontrolle basierend auf der Anzahl der Reaktionen.

Benötigte Reagenzien zur Probenvorbereitung und interne Kontrollen				
Reagenz	1 bis 24 Reaktionen	25 bis 48 Reaktionen	49 bis 72 Reaktionen	73 bis 96 Reaktionen
mMicroparticles	1 Flasche	2 Flaschen	2 Flaschen	2 Flaschen
mLysis	1 Flasche	2 Flaschen	3 Flaschen	4 Flaschen
mWash 1	1 Flasche	2 Flaschen	3 Flaschen	4 Flaschen
mWash 2	1 Flasche	2 Flaschen	3 Flaschen	4 Flaschen
mElution Buffer	1 Flasche	2 Flaschen	3 Flaschen	4 Flaschen
Interne Kontrolle ^a	1 neues Fläschchen oder 1 partielle Fläschchen	1 neues Fläschchen oder 2 partielle Fläschchen	2 neue Fläschchen oder 3 partielle Fläschchen	2 neue Fläschchen oder 4 partielle Fläschchen

^a Es kann eine Kombination aus neuen und partiellen Fläschchen der internen Kontrolle verwendet werden.

- Die Abbott mSample Preparation Flaschen vorsichtig umdrehen, um eine homogene Lösung zu gewährleisten. Wenn in einer der Reagenzflaschen beim Öffnen Kristalle zu sehen sind, dem Reagenz Zeit lassen, die Raumtemperatur anzunehmen, bis die Kristalle sich aufgelöst haben. Reagenzien erst verwenden, wenn keine Kristalle mehr vorhanden sind.
- Jedes IC-Fläschchen vor dem Gebrauch 3 x für je 2 bis 3 Sekunden vortexen.
- Mit einer kalibrierten Präzisionspipette ZUR AUSSCHLIESSLICHEN VERWENDUNG FÜR DIE INTERNE KONTROLLE 500 µl IC zu jeder Flasche mLysis Buffer hinzufügen. Durch vorsichtiges 5- bis 10-maliges Umdrehen vermischen, um Schaumbildung zu vermeiden. Partielle IC-Fläschchen können erneut verschlossen und für eine zweite Verwendung bei -10 °C oder kälter gelagert werden.
- Niedrige und hohe Positiv-Kontrollen, Negativ-Kontrolle und gegebenenfalls die Kalibratoren in die Abbott m2000sp Probenracks stellen.
- Nach Abschluss der Inkubation die DBS-Probenröhrchen manuell schütteln oder schwenken und dann in die Abbott m2000sp Probenracks stellen.
HINWEIS: Sicherstellen, dass die Abbott m2000sp Probenracks speziell für das Abbott RealTime HCV-Verfahren für DBS kalibriert wurden.
- Die Probenracks vorsichtig beladen, um Spritzer zu vermeiden. Bei Verwendung von Röhrchen mit Barcodes müssen die Etiketten zum Scannen nach rechts weisen. Sicherstellen, dass jedes Röhrchen sicher so im Probenrack sitzt, dass die Unterseite des Röhrchens die Unterseite des Racks erreicht.
- Die gefüllten Probenracks in aufeinander folgenden Probenrack-Positionen so auf das Abbott m2000sp laden, dass sich das erste Rack am weitesten rechts auf dem Arbeitstisch befindet und jedes weitere Rack jeweils links neben dem vorhergehenden Rack hinzugefügt wird.
- Die 5-ml-Reaktionseinsätze in den Abbott m2000sp Träger für das 1-ml-Subsystem stellen.
- Die Abbott mSample Preparation System Reagenzien und die Abbott 96 Deep-Well Plate auf den Abbott m2000sp Arbeitstisch laden, wie in der Abbott m2000sp Bedienungsanleitung, Kapitel Anweisungen zur Bedienung, beschrieben.

- Im Protokollbildschirm die HCV-RNA DBS-Anwendungsdatei auswählen. Das Probenextraktionsprotokoll einleiten, wie im Kapitel Anweisungen zur Bedienung der Abbott m2000sp Bedienungsanleitung beschrieben.
- Die kalibrator- (erforderlich, wenn keine Kalibrierungskurve auf dem Abbott m2000rt gespeichert ist) und kontrollchargenspezifischen Werte in die Felder für Kalibrator und Kontrolle im Bildschirm Probenextraktion: Konfiguration des Arbeitsbereichs eingeben. Die chargenspezifischen Werte sind auf jeder Abbott RealTime HCV Calibrator und Control Kit Card angegeben.

- Das Protokoll zur Abbott m2000sp Master Mix Addition (Schritt 28) muss innerhalb von 1 Stunde nach Abschluss der Probenvorbereitung eingeleitet werden.

HINWEIS: Wechseln Sie die Schutzhandschuhe, bevor Sie die Amplifikationsreagenzien handhaben.

- Die Amplifikationsreagenzien und das Mastermix-Röhrchen (falls erforderlich) nach Abschluss der Probenvorbereitung in den Abbott m2000sp Arbeitsbereich laden. Die nachfolgende Tabelle zeigt die Anzahl der benötigten Reagenzpackungen zur Amplifikation basierend auf der Anzahl der Reaktionen. Wenn nur 1 Reagenzpackung zur Amplifikation verwendet wird, ist kein Mastermix-Röhrchen erforderlich.

Amplifikationsreagenzpackung – Anforderungen ^a			
1 bis 24 Reaktionen	25 bis 48 Reaktionen	49 bis 72 Reaktionen	73 bis 96 Reaktionen
1, wenn neu; bis zu 4 bei partiellen Packungen	2, wenn neu; bis zu 4 bei partiellen Packungen	3, wenn neu; bis zu 4 bei partiellen Packungen	4 neue oder partielle Packungen

^a Anweisungen zum Inventarmanagement für die Bestimmung der maximalen Anzahl der Reaktionen, die mit den ausgewählten partiellen Packungen getestet werden können, finden Sie in der Abbott m2000sp Bedienungsanleitung (Bestellnr. 09K20 Version 6 oder höher).

- Partielle Reagenzpackungen zur Amplifikation können nur auf demselben Abbott m2000sp Gerät verwendet werden, das für die Erstpräparation der Reagenzpackung verwendet wurde. Erfolgt die zweite Verwendung einer Reagenzpackung zur Amplifikation auf einem anderen Gerät, führt dies zu einem Fehler, der den Lauf verzögern kann.
- Partielle und neue Reagenzpackungen zur Amplifikation können gemeinsam verwendet werden.

WICHTIG: Die partiellen Reagenzpackungen zur Amplifikation müssen bis unmittelbar vor der zweiten Verwendung bei -10 °C oder kälter gelagert werden. Der Master Mix muss aufgetaut sein, bevor die partielle(n) Packung(en) in den Abbott m2000sp Arbeitsbereich eingesetzt werden. Nach der Entnahme aus der Lagerung bei -10 °C oder kälter müssen die partiellen Reagenzpackungen zur Amplifikation für den zweiten Gebrauch innerhalb von 25 Minuten verwendet oder entsorgt werden. Dies gilt für die kumulative Exposition gegenüber Raumtemperatur, auch dann, wenn die Packungen aus der Lagerung entnommen, aber nicht verwendet werden.

- Vor Öffnen der Amplifikationsreagenzien sicherstellen, dass sich der Inhalt der neuen Amplifikationsreagenzpackungen am Boden der Fläschchen befindet. Dazu die Fläschchen in senkrechter Position 5- bis 10-mal auf die Tischplatte klopfen.
 - Nicht auf die zum zweiten Mal verwendeten partiellen Reagenzpackungen zur Amplifikation klopfen. Das Klopfen könnte dazu führen, dass Mastermix in der Verschlusskappe zurückbleibt.
- Die Verschlusskappen entfernen. Wenn eine neue Amplifikationsreagenzpackung für die zweite Verwendung eingelagert wird, müssen die Fläschchen zur Lagerung wieder verschlossen werden. Die Originalkappen aufbewahren, wenn diese zum Wiederverschließen der Reagenzfläschchen wiederverwendet werden sollen. Wenn die Reagenzfläschchen mit neuen Kappen verschlossen werden sollen, können die Originalkappen entsorgt werden.
Wenn die Uracil N-Glycosylase (UNG) zur Kontaminationskontrolle verwendet wird, den unten stehenden Anweisungen folgen.
- Mit einer PIPETTE ZUR AUSSCHLIESSLICHEN VERWENDUNG FÜR REAGENZIEN das angegebene Volumen von 1 E/µl UNG (Bestellnr. 6L87-02) in das Reagenzfläschchen in Position 3 von neuen und partiellen Reagenzpackungen zur Amplifikation geben. Durch vorsichtiges Auf- und Abpipettieren alle partiellen Packungen manuell mischen. Neue Packungen nicht mischen.
 - Anhand der nachstehenden Tabelle das UNG-Volumen bestimmen, das dem Reagenzfläschchen in Position 3 von neuen und partiellen Reagenzpackungen zur Amplifikation zuzugeben ist. Das Reagenzfläschchen in Position 3 einer neuen Reagenzpackung enthält das thermostabile Enzym rTh-Polymerase. Das Reagenzfläschchen in Position 3 einer partiellen Reagenzpackung enthält den Master Mix.

UNG-Volumen, das dem Reagenzfläschchen in Position 3 jeder Amplifikationsreagenzpackung zuzugeben ist	
Verbleibende Tests in der Packung	Zuzugebendes UNG-Volumen (µl)
1	5
2	6
3	7
4	8
5	9
6	10
7	11
8	12
9	13
10	13
11	14
12	15
13	16
14	17
15	18
16	19
17	20
18	21
19	22
20	23
21	24
22	25
23	26
24 (neue Packung)	27

HINWEIS: Das UNG-Volumen, das dem Reagenzfläschchen in Position 3 zugegeben wird, hängt von der Anzahl der verbleibenden Tests in der Reagenzpackung und nicht von der Anzahl der Proben ab, die getestet werden. Anweisungen zum Inventarmanagement der Reagenzpackung zur Amplifikation sowie zur Bestimmung der Anzahl der in einer Reagenzpackung verbleibenden Tests finden Sie in der Abbott *m2000sp* Bedienungsanleitung.

26. Partielle Reagenzpackungen zur Amplifikation werden im Abbott *m2000sp* Arbeitsbereich links von neuen Reagenzpackungen zur Amplifikation geladen.
27. Sicherstellen, dass die Reagenzpackungen zur Amplifikation fest im Gerät sitzen.
28. Die geeignete Deep-Well-Platte für die entsprechende Probenvorbereitungs-Extraktion auswählen. Das Protokoll zur Abbott *m2000sp* Master Mix Addition starten. Die Anweisungen im Kapitel Anweisungen zur Bedienung der Abbott *m2000sp* Bedienungsanleitung befolgen.

HINWEIS: Der Bediener sollte leere/nicht gefüllte Vertiefungen in der Abbott 96-Well Optical Reaction Plate nicht manuell füllen.

- Nach Abschluss der Probenextraktion füllt das Abbott *m2000sp* automatisch alle leeren Vertiefungen in der Abbott 96-Well Optical Reaction Plate mit *mElution* Buffer, wenn in einem Durchlauf mehr als 48 Proben verarbeitet werden. Bei Durchläufen mit maximal 48 Proben wird keine Plattenfüllung durchgeführt.
- Wenn vom Gerät dazu aufgefordert, sollte Reagenzträger 2 an seinem Platz bleiben und mindestens den Reagenzeinsatz für den *mElution* Buffer (Reagenzträger 2, Position 6) enthalten. Wenn dieser Reagenzeinsatz entladen wurde, einen neuen Reagenzeinsatz mit dem Etikett für *mElution* Buffer in Reagenzträger 2, Position 6, platzieren. Systemflüssigkeit wird in den Reagenzeinsatz gegeben und zum Füllen leerer Vertiefungen verwendet. Sobald dieser Vorgang abgeschlossen ist, fährt das System mit der Master Mix-Zugabe fort.

HINWEIS: Systemanweisungen für die Verwendung der Funktion zur automatischen Plattenfüllung sind der Abbott *m2000sp* Bedienungsanleitung (Bestellnr. 09K20, Version 6 oder höher), Abschnitt 5, Anweisungen zur Bedienung, Probenextraktion im geschlossenen Modus, zu entnehmen.

- Das Abbott *m2000rt* Protokoll (Schritt 33) muss innerhalb von 50 Minuten nach Einleitung des Protokolls zur Master Mix Addition (Schritt 28) gestartet werden.

HINWEIS: Wenn der Durchlauf aus irgendeinem Grund nach Schritt 28 abgebrochen wird, muss eine neue Abbott 96-Well Optical Reaction Plate verwendet werden, wenn das Protokoll zur Abbott *m2000sp* Master Mix Addition (Schritt 28) wiederholt wird.

29. Das Abbott *m2000rt* Gerät einschalten und im Amplifikationsbereich initialisieren.

HINWEIS: Das Abbott *m2000rt* benötigt 15 Minuten zum Aufwärmen.

HINWEIS: Legen Sie die Handschuhe ab, bevor Sie zum Probenvorbereitungsbereich zurückkehren.

30. Die Abbott 96-Well Optical Reaction Plate versiegeln, nachdem das Abbott *m2000sp* Gerät die Zugabe von Proben und Master Mix gemäß Kapitel Anweisungen zur Bedienung in der Abbott *m2000sp* Bedienungsanleitung abgeschlossen hat.
31. Die versiegelte Optical Reaction Plate in die Abbott Splash-Free Support Base einsetzen, um sie zum Abbott *m2000rt* Gerät zu bringen.
Wenn die Uracil N-Glycosylase (UNG) verwendet wird, den unten stehenden Anweisungen folgen:
32. Die versiegelte Optical Reaction Plate in die Abbott Splash-Free Support Base einsetzen und 10 Minuten lang bei Raumtemperatur (15 °C bis 30 °C) inkubieren. Nach der Inkubation bei Raumtemperatur die Abbott 96-Well Optical Reaction Plate in der Abbott Splash-Free Support Base zum Abbott *m2000rt* Gerät bringen.
33. Die Abbott 96-Well Optical Reaction Plate im Abbott *m2000rt* Gerät platzieren. Im Protokollbildschirm die HCV-RNA DBS-Anwendungsdatei auswählen. Das Protokoll wie im Kapitel Anweisungen zur Bedienung der Abbott *m2000rt* Bedienungsanleitung beschrieben einleiten.

HINWEIS: Es wird empfohlen, Testaufträge per CD-ROM oder Netzwerkverbindung mit den Export- und Importfunktionen der *m2000sp* und *m2000rt* Software zu übertragen. Wird die Abbott *m2000rt* Testanforderung manuell erstellt, die Proben-IDs in den entsprechenden PCR-Plattenpositionen gemäß der Tabelle „Vertiefungen der ausgewählten Platte“ im Bildschirm „PCR-Plattenergebnisse“ des Abbott *m2000sp* eingeben. Siehe Abschnitt 5 der Abbott *m2000sp* Bedienungsanleitung.

34. Wenn eine vorbereitete partielle Reagenzpackung zur Amplifikation ein zweites Mal verwendet werden soll, die drei Reagenzfläschchen mit den aufbewahrten Kappen oder neuen Kappen (Bestellnr. 3N20-01) verschließen und die Reagenzien sofort bei -10 °C oder kälter vor Licht geschützt und in aufrechter Position lagern. Alle Reagenzpackungen zur Amplifikation, die aufgebraucht sind oder zweimal verwendet wurden, entsorgen.

WICHTIG: Amplifikationsreagenzien, die ein zweites Mal verwendet werden, müssen innerhalb von 50 Minuten nach Beginn des Protokolls zur Master Mix Addition bei -10 °C oder kälter gelagert werden.

VERFAHREN ZUR NACHVERARBEITUNG

1. Die Abbott 96 Deep-Well Plate vom Arbeitsbereich entfernen und gemäß Abbott *m2000sp* Bedienungsanleitung entsorgen.
2. Die Abbott 96-Well Optical Reaction Plate in einen verschließbaren Plastikbeutel geben und gemäß Abbott *m2000rt* Bedienungsanleitung zusammen mit den Handschuhen, die für die Handhabung der Platte verwendet wurden, entsorgen.
3. Die Abbott Splash-Free Support Base vor der nächsten Verwendung gemäß Abbott *m2000rt* Bedienungsanleitung reinigen.

VERFAHREN ZUR QUALITÄTSKONTROLLE

Optische Kalibrierung des Abbott *m2000rt*

Siehe Packungsbeilage des Abbott RealTime HCV-Assays (Bestellnr. 4J86).

Assay-Kalibrierung

Siehe Packungsbeilage des Abbott RealTime HCV-Assays (Bestellnr. 4J86).

Für DBS-Tests mit Abbott *m2000sp* und Abbott *m2000rt*: Wenn eine Abbott RealTime HCV-Kalibrierung akzeptiert und gespeichert wurde, kann sie 6 Monate lang verwendet werden. In diesem Zeitraum können alle nachfolgenden Proben ohne weitere Kalibrierung getestet werden, es sei denn:

- Es wird ein Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit mit einer neuen Chargennummer verwendet.
- Es wird ein Abbott *mSample* Preparation System (4 x 24 Präparationen) mit einer neuen Chargennummer verwendet.
- Es wird eine neue Abbott RealTime HCV RNA DBS-Anwendungsdatei installiert.

Detektion einer Inhibition

Siehe Packungsbeilage des Abbott RealTime HCV-Assays (Bestellnr. 4J86).

Negativ- und Positivkontrolle

Siehe Packungsbeilage des Abbott RealTime HCV-Assays (Bestellnr. 4J86).

Kontaminationskontrolle des Labors

Siehe Packungsbeilage des Abbott RealTime HCV-Assays (Bestellnr. 4J86).

ERGEBNISSE FÜR DBS-PROBEN

Die ausgegebene DBS-Probenkonzentration aus dem Durchlauf mit dem Abbott m2000rt DBS-Protokoll stellt die HCV-Viruskonzentration im Plasma der Vollblutprobe dar, aus der die DBS-Probe entnommen wird. Das Abbott m2000rt Gerät gibt die Ergebnisse automatisch auf der Abbott m2000rt Datenstation aus. Assay-Ergebnisse können in internationalen Einheiten (IE/ml) oder in log IE/ml ausgegeben werden.

Interpretation der Ergebnisse

Ergebnis	Interpretation
Not Detected (Nicht detektiert)	Ziel nicht detektiert
<2,66 log IE/ml ^a	Detektiert
2,66 bis 8,00 log IE/ml	
>8,00 log IE/ml	> ULQ ^b

^a 462 IE/ml

^b ULQ = obere Quantifizierungsgrenze

GRENZEN DES VERFAHRENS

- **ZUR VERWENDUNG ALS IN-VITRO-DIAGNOSTIKUM**
- Für eine optimale Leistung dieses Tests muss die Probe ordnungsgemäß entnommen, gelagert und zum Teststandort transportiert werden (siehe Abschnitt **PROBENTNAHME, LAGERUNG UND TRANSPORT ZUM TESTSTANDORT** dieser Packungsbeilage).
- Vollblutproben, die in EDTA-Röhrchen entnommen wurden, können zur Erzeugung von Trockenblutproben (DBS) verwendet werden, die mit dem Abbott RealTime HCV Assay für DBS getestet werden. Die Verwendung anderer Antikoagulanzen wurde mit dem Abbott RealTime HCV Assay für DBS nicht validiert.
- Der Abbott RealTime HCV Assay für DBS darf ausschließlich von Personen verwendet werden, die in den Verfahren zur DBS-Vorbereitung und -Vorverarbeitung, einem molekulardiagnostischen Assay und dem Abbott m2000 System geschult wurden.
- Die Geräte und Assay-Verfahren verringern das Risiko einer Kontamination durch Amplifikationsprodukt. Dennoch ist darauf zu achten, Kontaminationen mit Nukleinsäuren aus den Kalibratoren, Positivkontrollen oder Proben durch Vorgehen nach guter Laborpraxis und genaue Einhaltung der in dieser Packungsbeilage aufgeführten Verfahrensanweisungen zu vermeiden.
- Wie bei jedem diagnostischen Test sind die Ergebnisse des Abbott RealTime HCV Assays für DBS in Verbindung mit anderen klinischen und Laborbefunden zu interpretieren. Eine Probe mit dem Ergebnis „Not Detected“ (Nicht detektiert) ist nicht automatisch negativ für HCV-RNA.
- Eine unsachgemäße Entnahme, Trocknung, Lagerung und Handhabung der DBS-Karten kann zu ungenauen Testergebnissen führen.
- Es können Ahlstrom-Munktell TFN und Whatman 903 DBS-Karten verwendet werden. Die Verwendung anderer Karten wurde mit dem Abbott RealTime HCV Assay nicht validiert.

SPEZIFISCHE LEISTUNGSDATEN FÜR DBS-PROBEN

Nachweisgrenze (LoD)

Die LoD des Abbott RealTime HCV Assays beträgt beim Probentyp DBS 462 IE/ml. Die LoD wurde durch Testen von DBS-Proben bestimmt, die mit einer Verdünnungsreihe des internationalen WHO-Standards für Hepatitis-C-Virus-RNA vorbereitet wurden, die in HCV-negativem Vollblut verdünnt wurde. Die Tests für jede HCV-RNA-Konzentration wurden mit vier Chargen Amplifikationsreagenzien über drei Tage durchgeführt. Die Ergebnisse, die repräsentativ für die analytische Sensitivität des Abbott RealTime HCV Assays für DBS sind, sind in **Tabelle 1** zusammengefasst.

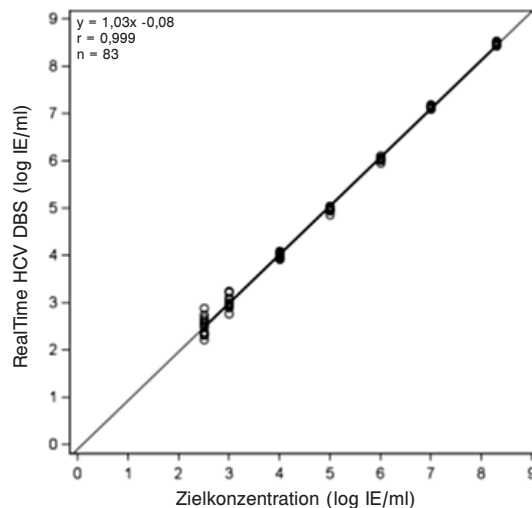
HCV-RNA (IE/ml)	Anzahl getestet	Anzahl nachgewiesen	Prozentsatz nachgewiesen
500	84	83	99
400	84	80	95
350	84	75	89
300	84	73	87
150	84	54	64
50	84	26	31

Eine Probit-Analyse der Daten ergab, dass die Konzentration der HCV-RNA, die in einer Trockenblutprobe mit einer Wahrscheinlichkeit von 95 % nachgewiesen wurde, 462 IE/ml betrug (95%-KI 381 bis 593 IE/ml).

Linearer Bereich

Die obere Quantifizierungsgrenze (ULQ) für den Abbott RealTime HCV Assay beträgt 100 Millionen IE/ml, die untere Quantifizierungsgrenze entspricht der Nachweisgrenze (462 IE/ml) für DBS-Proben. Ein DBS-Panel mit 7 Proben wurde mit HCV-Armored-RNA vorbereitet, die auf Konzentrationen von 200 Millionen IE/ml bis 316 IE/ml in HCV-negativem Vollblut verdünnt wurde. Die Ergebnisse, die repräsentativ für die Linearität des Abbott RealTime HCV Assays für DBS sind, sind in **Abbildung 1** dargestellt.

Abbildung 1. Abbott RealTime HCV Assay für DBS – Linearität



Der Abbott RealTime HCV Assay für DBS ist im Bereich der getesteten HCV-RNA-Konzentrationen (316 bis 200 Millionen IE/ml, 2,5 bis 8,3 log IE/ml) nachweislich linear.

Spezifität

Die Zielspezifität des Abbott RealTime HCV Assays für DBS ist größer oder gleich 99,5 %. Die Spezifität wurde durch Analyse von 119 seronegativen HCV-Proben über zwei Chargen von Amplifikationsreagenzien hinweg bestimmt. Die Gesamtspezifität betrug 100 % (119/119).

Präzision

Die Präzision wurde durch Testen eines DBS-Panels aus 6 Proben bewertet, das einen HCV-RNA-Konzentrationsbereich von 316 IE/ml bis 200 Millionen IE/ml abdeckt. Panel-Proben mit einer Konzentration unter 5 log IE/ml (100.000 IE/ml) wurden mit einer HCV-positiven klinischen Probe vorbereitet, die in HCV-negativem Vollblut verdünnt wurde, während Panel-Proben mit einer Konzentration über 5 log IE/ml (100.000 IE/ml) mit HCV-Armored-RNA vorbereitet wurden, die in HCV-negativem Vollblut verdünnt wurde. Je fünf Replikate jeder Panel-Probe wurden über fünf Tage einmal täglich auf drei Abbott m2000sp/rt Gerätepaaren mit drei Chargen Amplifikationsreagenzien getestet. Die Standardabweichungen (s) innerhalb des Durchlaufs, zwischen Durchläufen und zwischen Assays (Inter-Assay; innerhalb des Durchlaufs und zwischen Durchläufen) wurden ermittelt. Der Abbott RealTime HCV Assay für DBS hat eine vorgesehene Inter-Assay-Standardabweichung (s) von höchstens 0,25 log IE/ml HCV-RNA bei Proben mit HCV-Konzentrationen von 10.000 bis 100 Millionen IE/ml. Die Ergebnisse, die repräsentativ für die Präzision des Abbott RealTime HCV Assays für DBS sind, sind in **Tabelle 2** zusammengefasst.

Tabelle 2. Abbott RealTime HCV Assay für DBS – Präzision

Panel-Probe	n	Mittlere Konzentration (IE/ml)	Mittlere Konzentration (log IE/ml)	s innerhalb des Durchlaufs ^{a,e}	s zwischen Durchläufen ^a	Inter-Assay-s ^{a,b}	s zwischen Chargen/Geräten ^a	Gesamt ^{c,e}
1	63 ^d	420	2,62	0,26	0,07	0,27	0,00	0,27
2	75	1.435	3,16	0,23	0,00	0,23	0,09	0,25
3	75	13.211	4,12	0,06	0,04	0,07	0,05	0,09
4	75	395.427	5,60	0,04	0,03	0,05	0,02	0,05
5	75	14.008.770	7,15	0,12	0,04	0,13	0,05	0,14
6	75	316.713.566	8,50	0,04	0,03	0,05	0,05	0,07

^a Standardabweichungen (s) werden in log IE/ml angegeben.

^b Inter-Assay enthält die Komponenten „innerhalb des Durchlaufs“ und „zwischen Durchläufen“.

^c Gesamt umfasst die Komponenten „innerhalb des Durchlaufs“, „zwischen Durchläufen“ und „zwischen Chargen/Geräten“.

^d Mittlere Konzentration von Panel-Probe 1 liegt unter LoD. Die Schätzungen der Präzision basieren auf den quantifizierten Replikaten.

^e Die s innerhalb des Durchlaufs wird auch als Wiederholbarkeit bezeichnet. Die Gesamt-s wird auch als Reproduzierbarkeit bezeichnet.

Wiederholbarkeit und Reproduzierbarkeit für Panel-Probe 1 (nahe LLoQ) betrugen 0,26 log IE/ml bzw. 0,27 log IE/ml und für Panel-Probe 2 (nahe LLoQ) 0,23 log IE/ml bzw. 0,25 log IE/ml. Wiederholbarkeit und Reproduzierbarkeit für Panel-Probe 5 (nahe ULQ) betrugen 0,12 log IE/ml bzw. 0,14 log IE/ml und für Panel-Probe 6 (nahe ULQ) 0,04 log IE/ml bzw. 0,07 log IE/ml.

Korrelation

Die HCV-RNA-Quantifizierung wurde zwischen dem Abbott RealTime HCV Assay unter Verwendung von Trockenblutproben (DBS) und dem Vergleichsassay mit CE-Kennzeichnung, dem Abbott RealTime HCV Assay unter Verwendung von Humanplasma verglichen. Plasma- und DBS-Proben von insgesamt 346 Probanden (entnommen und getestet in Georgien, Kamerun und Griechenland) wurden in die Analyse einbezogen. Sowohl aus venösem Blut vorbereitete DBS als auch DBS aus Kapillarblut (Fingerstich) wurden mit dem Abbott RealTime HCV Assay für DBS getestet. Die quantitativen Ergebnisse von Proben, die in den dynamischen Bereichen der Assays lagen, wurden mit der linearen Regressionsfunktion nach der Methode der kleinsten Quadrate und der Bland-Altman-Methode für die Messabweichung analysiert (DBS kapillar im Vergleich zu Plasma n=346, DBS venös im Vergleich zu Plasma n=346 und DBS kapillar im Vergleich zu DBS venös n=345). In Bezug auf die Korrelation zwischen DBS kapillar und Plasma betrug der Korrelationskoeffizient 0,843, die Steigung 0,91 (95%-KI 0,85 bis 0,97) und der Achsenabschnitt 0,48 log IE/ml (95%-KI 0,12 bis 0,84) (**Abbildung 2**). In Bezug auf die Korrelation zwischen DBS venös und Plasma betrug der Korrelationskoeffizient 0,840, die Steigung 0,94 (95%-KI 0,88 bis 1,00) und der Achsenabschnitt 0,31 log IE/ml (95%-KI -0,07 bis 0,69) (**Abbildung 3**). In Bezug auf die Korrelation zwischen DBS kapillar und DBS venös betrug der Korrelationskoeffizient 0,943, die Steigung 0,91 (95%-KI 0,87 bis 0,94) und der Achsenabschnitt 0,53 log IE/ml (95%-KI 0,33 bis 0,72) (**Abbildung 4**). Außerdem werden in **Abbildung 5**, **Abbildung 6** und **Abbildung 7** Bland-Altman-Diagramme für diese Vergleiche dargestellt. Die mittlere Messabweichungsdifferenz zwischen DBS kapillar und Plasma betrug -0,05 log IE/ml. Die mittlere Messabweichungsdifferenz zwischen DBS venös und Plasma betrug -0,04 log IE/ml. Die mittlere Messabweichungsdifferenz zwischen DBS kapillar und DBS venös betrug -0,02 log IE/ml.

Die zu erwartende Messabweichung zwischen DBS kapillar und Plasma wurde an der LLoQ- und ULQ-Zielgrenze untersucht. Außerdem wurde die zu erwartende Messabweichung zwischen DBS venös und Plasma an der LLoQ- und ULQ-Zielgrenze untersucht. **Tabelle 3** enthält eine Übersicht über die zu erwartende Messabweichung.

Tabelle 3. Zu erwartende Messabweichung zwischen DBS (kapillar oder venös) und Plasma bei LLoQ und ULQ

Vergleich	Level	Zielwert für Viruslast (log IE/ml)	Zu erwartende Messabweichung (log IE/ml)
DBS kapillar im Vergleich zu Plasma	LLoQ	2,66	0,24
	ULQ	8,00	-0,26
DBS venös im Vergleich zu Plasma	LLoQ	2,66	0,15
	ULQ	8,00	-0,17

Abbildung 2. DBS kapillar und Plasma

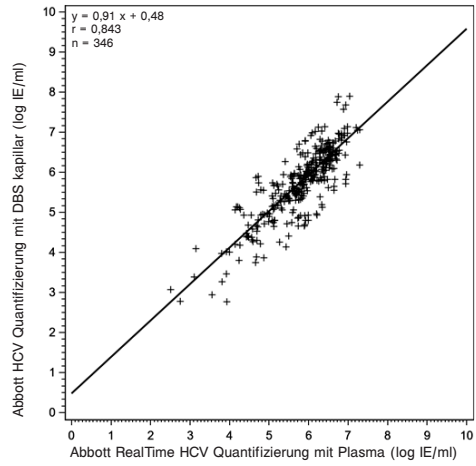


Abbildung 5. DBS kapillar im Vergleich zu Plasma

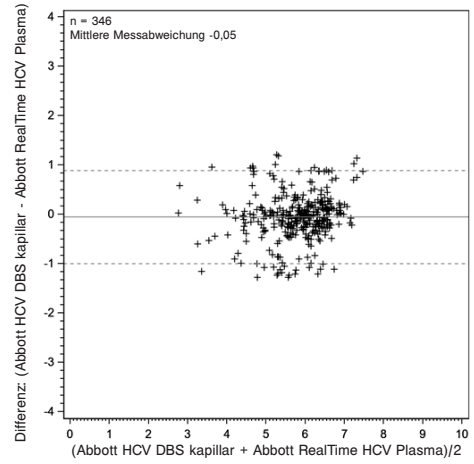


Abbildung 3. DBS venös und Plasma

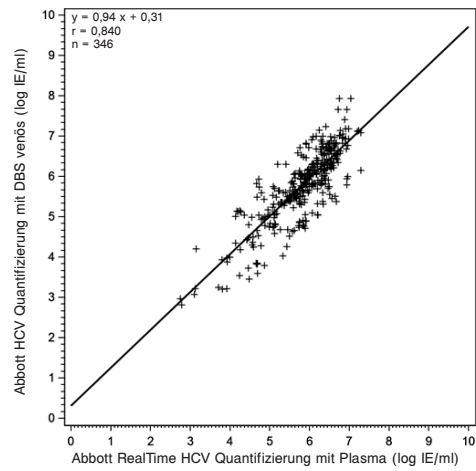


Abbildung 6. DBS venös im Vergleich zu Plasma

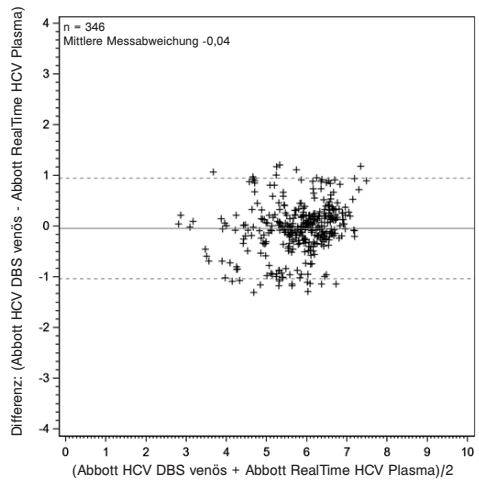


Abbildung 4. DBS kapillar und DBS venös

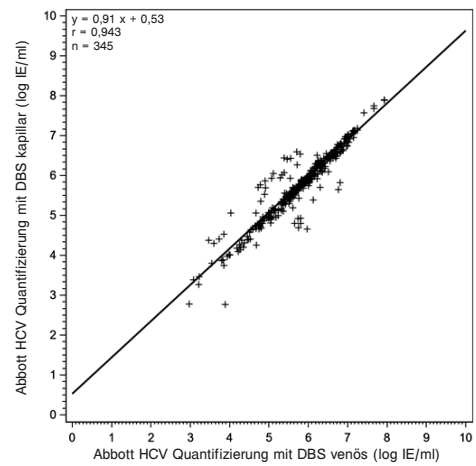
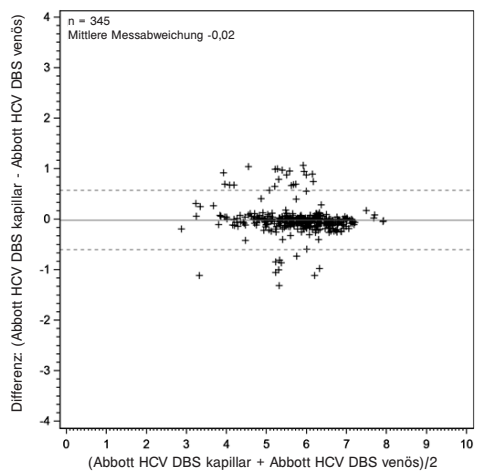


Abbildung 7. DBS kapillar im Vergleich zu DBS venös



LITERATURANGABEN

1. Gower E, Estes C, Blach S, Razavi-Shearer K, Razavi H. Global epidemiology and genotype distribution of the hepatitis C virus infection. *J Hepatol.* 2014;61(1 Suppl):S45-S57. doi:10.1016/j.jhep.2014.07.027
2. Guidelines for the screening, care and treatment of persons with chronic hepatitis C infection. World Health Organization (WHO); updated April 2016. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/205035>
3. AASLD/IDSA HCV guidance panel. *Recommendations for testing, managing, and treating hepatitis C.* AASLD/IDSA; updated October 24, 2022. <https://www.hcvguidelines.org/>
4. European Association for the Study of the Liver. EASL Recommendations on Treatment of Hepatitis C 2018. *J Hepatol.* 2018;69(2):461-511. doi:10.1016/j.jhep.2018.03.026
5. Miller MH, Agarwal K, Austin A, et al. Review article: 2014 UK consensus guidelines - hepatitis C management and direct-acting anti-viral therapy. *Aliment Pharmacol Ther.* 2014;39(12):1363-1375. doi:10.1111/apt.12764
6. Davis GL, Esteban-Mur R, Rustgi V, et al. Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin for the treatment of relapse of chronic hepatitis C. International Hepatitis Interventional Therapy Group. *N Engl J Med.* 1998;339(21):1493-1499. doi:10.1056/NEJM199811193392102
7. Manns MP, McHutchison JG, Gordon SC, et al. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial. *Lancet.* 2001;358(9286):958-965. doi:10.1016/s0140-6736(01)06102-5
8. Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR, et al. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med.* 2002;347(13):975-982. doi:10.1056/NEJMoa020047
9. Hadziyannis SJ, Sette H Jr, Morgan TR, et al. Peginterferon-alpha2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose. *Ann Intern Med.* 2004;140(5):346-355. doi:10.7326/0003-4819-140-5-200403020-00010
10. Orlent H, Deltenre P, Francque S, et al. Update of the Belgian Association for the Study of the Liver guidelines for the treatment of chronic hepatitis C genotype 1 with protease inhibitors. *Acta Gastroenterol Belg.* 2012;75(2):245-259.
11. Halfon P, Bourlière M, Pénaranda G, Khiri H, Ouzan D. Real-time PCR assays for hepatitis C virus (HCV) RNA quantitation are adequate for clinical management of patients with chronic HCV infection. *J Clin Microbiol.* 2006;44(7):2507-2511. doi:10.1128/JCM.00163-06
12. Kowdley KV, Nelson DR, Lalezari JP, et al. On-treatment HCV RNA as a predictor of sustained virological response in HCV genotype 3-infected patients treated with daclatasvir and sofosbuvir. *Liver Int.* 2016;36(11):1611-1618. doi:10.1111/liv.13165
13. Yoshida EM, Sulkowski MS, Gane EJ, et al. Concordance of sustained virological response 4, 12, and 24 weeks post-treatment with sofosbuvir-containing regimens for hepatitis C virus. *Hepatology.* 2015;61(1):41-45. doi:10.1002/hep.27366
14. WHO Guidelines on Hepatitis B and C Testing. World Health Organization (WHO); 2017. <https://www.who.int/publications/i/item/9789241549981>
15. Saldanha J, Heath A, Aberham C, et al. World Health Organization collaborative study to establish a replacement WHO international standard for hepatitis C virus RNA nucleic acid amplification technology assays. *Vox Sang.* 2005;88(3):202-204. doi:10.1111/j.1423-0410.2005.00606.x

KUNDENDIENST

Bei Fragen wenden Sie sich bitte an Ihren Abbott Kundendienst unter 1-800-553-7042 (innerhalb der USA) oder +49-6122-580 (außerhalb der USA) oder besuchen Sie die Abbott Internetseite unter www.molecular.abbott.

KURZBERICHT ÜBER SICHERHEIT UND LEISTUNG

Ein Kurzbericht über Sicherheit und Leistung (Summary of Safety and Performance; SSP) für dieses Produkt ist unter <https://ec.europa.eu/tools/eudamed> erhältlich. Dort finden Sie den Kurzbericht nach Einführung der Europäischen Datenbank für Medizinprodukte. Verwenden Sie zur Suche nach Produkten die eindeutige Produktkennung UDI-DI, die auf der Außenverpackung des Produkts vermerkt ist.

Der Import von Abbott RealTime HCV in die Europäische Union erfolgt durch Abbott Diagnostics GmbH, Max-Planck-Ring 2, 65205 Wiesbaden, Germany.



Abbott Molecular Inc.
1300 East Touhy Avenue
Des Plaines, IL 60018 USA



Abbott GmbH
Max-Planck-Ring 2
65205 Wiesbaden, Germany

© 2020, 2024 Abbott. Alle Rechte vorbehalten.

51-608440/R3

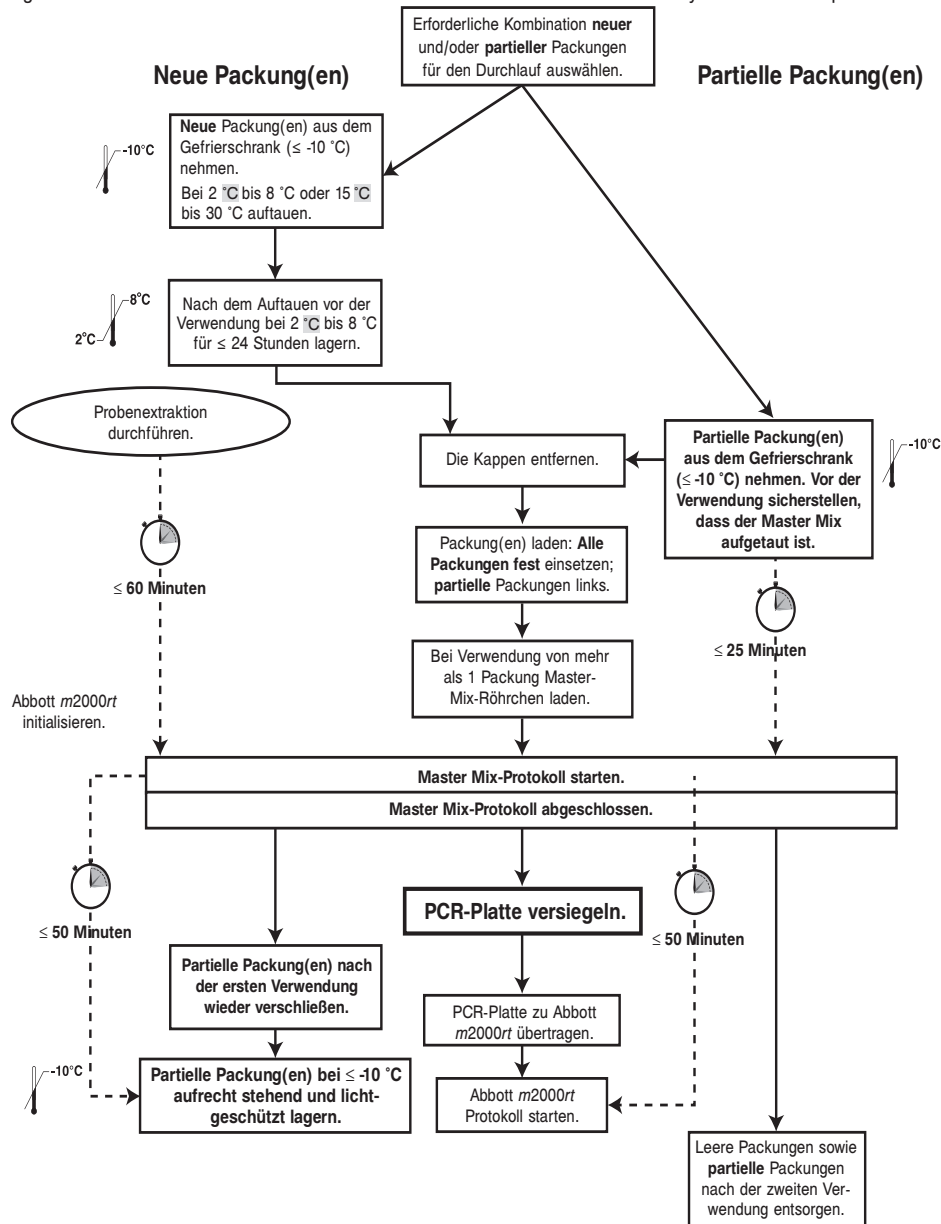
August 2024

ANHANG 1. ÜBERSICHT ÜBER DIE ERWEITERTE VERWENDUNGSFUNKTION FÜR DAS ABBOTT REALTIME HCV AMPLIFIKATIONSREAGENZ

Mit der erweiterten Verwendungsfunktion für das Amplifikationsreagenz können eine Reagenzpackung zur Amplifikation und die interne Kontrolle (IC) insgesamt 2 Mal verwendet werden. Reagenzpackungen zur Amplifikation, die noch nicht zur Vorbereitung des Master Mix verwendet wurden, werden als **neue** Reagenzpackungen zur Amplifikation bezeichnet. Reagenzpackungen zur Amplifikation, die bereits einmal verwendet wurden und einen vorbereiteten Master Mix enthalten, werden als **partielle** Reagenzpackungen zur Amplifikation bezeichnet. Weitere Informationen sind den Anweisungen in diesem Handbuch zu entnehmen.

Lagerbedingungen (Amplifikationsreagenzpackung und Fläschchen der internen Kontrolle)		
Packungstyp	Lagerungstemperatur	Lagerungszeit
Neue Packungen	-10 °C oder kälter	Bis zum auf dem Etikett angegebenen Datum
Neue IC	-10 °C oder kälter	Bis zum auf dem Etikett angegebenen Datum
Partielle Packungen	-10 °C oder kälter (lichtgeschützt)	Bis zu 14 Tage nach der ersten Verwendung
Partielle IC	-10 °C oder kälter	Bis zu 14 Tage nach der ersten Verwendung

- Bei Verwendung von UNG zur Kontaminationskontrolle siehe die Schritte 25 und 32 des Assay-Protokolls für spezifische Anweisungen.



- Amplifikationsreagenzpackungen, die für die erweiterte Verwendung geeignet sind, müssen über dem Barcode mit einer 6-stelligen Seriennummer versehen sein.
- Partielle** Amplifikationsreagenzpackungen können ein zweites Mal nur auf demselben Gerät wie bei der ersten Verwendung verwendet werden. Wenn sie auf einem anderen Gerät verwendet werden, wird ein Verarbeitungsfehler generiert, der den Durchlauf verzögern kann.
- Partielle** und **neue** Amplifikationsreagenzpackungen können gemeinsam verwendet werden. Alle Amplifikationsreagenzpackungen, die auf dem Gerät für einen Durchlauf verwendet werden, müssen dieselbe Chargennummer haben.

Abbott RealTime HCV

Supplement for Dried Blood Spot (DBS)

fr

GTIN

REF

04J86-010

IVD

REF 04J86-010

51-608440/R3

51-608440/R3

REMARQUE : Faire attention aux modifications

Légende des symboles utilisés

GTIN

Code article international

REF

Référence

IVD

Dispositif médical de diagnostic *in vitro*



Durée maximale autorisée



Limite supérieure de température



Conserver à

EC REP

Mandataire au sein de la Communauté européenne/de l'Union européenne



Fabricant

POUR DE PLUS AMPLES INFORMATIONS, CONTACTER LE SERVICE CLIENTS ABBOTT

Lire attentivement cette notice avant d'utiliser le test et suivre scrupuleusement les instructions. La fiabilité des résultats du test ne peut pas être garantie si ces instructions ne sont pas strictement respectées.

Cette notice d'utilisation constitue un supplément à la notice du test Abbott RealTime HCV (référence 4J86), spécifique aux échantillons de sang sur papier buvard (dried blood spots ou DBS).

AVIS AUX UTILISATEURS

Si un incident grave se produit avec cet appareil, signaler l'incident au fabricant ainsi qu'aux autorités nationales compétentes du pays dans lequel l'utilisateur et/ou le patient se trouvent. Afin de contacter le fabricant, se reporter aux coordonnées indiquées dans la partie **Service Clients** ou **Assistance technique** de cette notice.

DENOMINATION

Abbott RealTime HCV

DOMAINE D'APPLICATION DES DBS

Le test Abbott RealTime HCV est un test *in vitro* par RT-PCR (reverse transcription - polymérase chain reaction ; soit transcription inverse - réaction en chaîne de polymérisation) pour la détermination quantitative de l'ARN du virus de l'hépatite C (ARN du VHC) dans du sang total déposé par gouttes sur du papier buvard (DBS) (c.-à-d. obtenu par ponction veineuse ou sang capillaire) provenant d'individus infectés par le VHC. Le test Abbott RealTime HCV fournit une aide dans le suivi des patients atteints du VHC sous thérapie antivirale. Le test Abbott RealTime HCV n'est pas destiné au dépistage du VHC dans le sang, le plasma, le sérum ou les tissus de donneurs, ni au diagnostic de confirmation d'une infection par le VHC.

UTILISATEURS CONCERNES

Le test Abbott RealTime HCV est destiné au personnel de laboratoire.

RESUME ET EXPLICATION DU TEST

Le virus de l'hépatite C (VHC) est l'une des principales causes de pathologies hépatiques. On estime qu'environ 1,1 % de la population est atteinte d'une infection chronique par l'hépatite C¹ et qu'environ 700 000 personnes meurent chaque année d'une pathologie hépatique liée à l'hépatite C². Le VHC est un virus à ARN à polarité positive et se transmet principalement par voie intraveineuse et par des produits sanguins. Environ 55 à 85 % des personnes infectées par le VHC développent une hépatite chronique, et jusqu'à 30 % de ces personnes développent une cirrhose¹. Chez les patients atteints de cirrhose, l'incidence du carcinome hépatocellulaire est de 2 à 4 % par an¹. Il a été démontré que la mesure quantitative du taux d'ARN du VHC

dans le sang périphérique est essentielle dans la gestion des différents traitements anti-VHC⁶⁻¹³. Les traitements antiviraux à action directe ont permis une forte progression des traitements des infections par le VHC. L'objectif des traitements anti-VHC est d'obtenir une réponse virologique soutenue (RVS), présentée comme l'absence continue d'ARN détectable du VHC²⁻⁵. Les mesures de la charge virale du VHC ont été utilisées pour déterminer la durée du traitement et le traitement guidé par la réponse ou pour déterminer et prédire la réponse virologique soutenue ou non soutenue du traitement antiviral²⁻⁵.

Les pays à revenu faible et intermédiaire (PRFI) constituent la majorité du fardeau mondial du VHC¹⁴. L'identification des patients atteints d'une infection active par le VHC est très limitée dans ces zones à ressources limitées. Le sang total prélevé par gouttes sur du papier buvard (DBS) peut être utilisé comme alternative au sérum ou au plasma pour l'analyse de l'ARN VHC. Les DBS représentent une option réalisable qui élimine de nombreuses limites logistiques et techniques associées au prélèvement, au traitement, au stockage et à l'expédition de sérum ou de plasma. Les lignes directrices de l'Organisation mondiale de la santé (OMS) sur le dépistage de l'hépatite C comprennent des recommandations sur l'utilisation des DBS dans le dépistage virologique du VHC dans les zones à ressources limitées¹⁴.

Le test Abbott RealTime HCV pour DBS utilise une technologie de transcription inverse-amplification en chaîne par polymérase (RT-PCR) combinée à une détection par fluorescence homogène en temps réel pour la quantification de l'ARN du VHC dans les DBS. La sélection d'une région conservée du génome du VHC permet de détecter les génotypes 1 à 6. Le test est standardisé par rapport à la 2^e norme internationale de l'OMS pour l'ARN du virus de l'hépatite C (code NIBSC 96/798)¹⁵ et les résultats sont rapportés en unités internationales par millilitre (UI/ml) ou en équivalent log₁₀.

PRINCIPES BIOLOGIQUES DE LA METHODE

Le test Abbott RealTime HCV pour DBS nécessite trois kits de réactifs :

- Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit
- Abbott RealTime HCV Control Kit
- Abbott RealTime HCV Calibrator Kit

Le test Abbott RealTime HCV pour DBS utilise la RT-PCR afin de générer un produit amplifié du génome de l'ARN du VHC dans des échantillons humains de DBS. Les étapes du test Abbott RealTime HCV pour DBS se composent d'un traitement préanalytique des DBS, de la préparation des échantillons, de l'assemblage RT-PCR, de l'amplification, de la détection et de la génération de rapports de résultats. Le traitement préanalytique des DBS est effectué à l'aide de l'Abbott mSample Preparation System DBS Buffer Kit, avant le chargement des échantillons sur le système Abbott m2000sp. Après le traitement préanalytique des DBS, toutes les étapes suivantes sont exécutées automatiquement par les systèmes Abbott m2000sp et Abbott m2000rt. Pour plus de détails sur la préparation des échantillons, l'assemblage RT-PCR, l'amplification et la détection, se reporter à la notice du test Abbott RealTime HCV (référence 4J86).

UTILISATION PROLONGEE DES REACTIFS

D'AMPLIFICATION

La fonction d'utilisation prolongée des réactifs d'amplification en option permet d'utiliser les coffrets-réactifs d'amplification et le contrôle interne 2 fois au total. Les coffrets-réactifs d'amplification contenant le master mix préparé peuvent être conservés à une température inférieure ou égale à -10 °C, fermés et à l'abri de la lumière, pendant une période maximale de 14 jours avant d'être utilisés la deuxième fois. Le contrôle interne (CI) peut être conservé fermé à une température inférieure ou égale à -10 °C pendant une période maximale de 14 jours avant la deuxième utilisation. La deuxième utilisation ne doit pas dépasser la date de péremption du réactif. Cette fonction est présentée dans l'Annexe 1 de cette notice.

Tout au long de cette notice, les coffrets-réactifs d'amplification et les CI qui n'ont pas encore été utilisés seront appelés nouveaux coffrets-réactifs d'amplification et CI (c.-à-d. première utilisation). Les coffrets-réactifs d'amplification qui ont été utilisés une fois et qui contiennent le master mix préparé seront appelés coffrets-réactifs d'amplification partiels. Les flacons de CI qui ont été utilisés une fois seront appelés flacons de CI partiels.

PREVENTION D'UNE CONTAMINATION PAR LES ACIDES NUCLÉIQUES

Se reporter à la notice du test Abbott RealTime HCV (référence 4J86).

REACTIFS

Se reporter à la notice du test Abbott RealTime HCV (référence 4J86).

MISES EN GARDE ET PRECAUTIONS

IVD

Pour diagnostic *in vitro*

Le test Abbott RealTime HCV pour DBS n'est pas destiné au dépistage du VHC dans le sang, le plasma, le sérum ou les tissus de donneurs, ni au diagnostic de confirmation d'une infection par le VHC.

MESURES DE SECURITE

Se reporter à la notice du test Abbott RealTime HCV (référence 4J86).

Le test Abbott RealTime HCV pour DBS utilise uniquement les instruments Abbott m2000sp et Abbott m2000rt.

PRECAUTIONS PARTICULIERES

Précautions de manipulation des échantillons DBS

Le test Abbott RealTime HCV pour DBS ne doit être utilisé qu'avec des échantillons de sang total ou de DBS qui ont été manipulés et stockés comme décrit dans la partie **PRELEVEMENT, CONSERVATION ET TRANSPORT DES ECHANTILLONS SUR LE LIEU D'ANALYSE**.

Se reporter à la notice du test Abbott RealTime HCV (référence 4J86).

Précautions de manipulation spécifiques aux DBS :

- S'assurer que le sang des papiers buvards DBS est complètement séché avant de stocker les papiers buvards dans un sachet contenant des dessiccants. Un prélèvement, un séchage, un stockage et une manipulation inappropriés des DBS peuvent conduire à des résultats de test inexacts.
- Pour éviter toute contamination croisée, utiliser un nouvel embout de pipette pour chaque échantillon DBS extrait du papier buvard DBS perforé. En cas d'utilisation d'un papier buvard DBS non perforé, s'assurer que l'outil utilisé pour extraire la goutte est décontaminé avant et après contact avec l'échantillon DBS.

Zones de travail

Seules deux zones dédiées, la zone de préparation des échantillons et la zone d'amplification, sont recommandées lorsque les systèmes Abbott m2000sp et Abbott m2000rt sont utilisés.

Se reporter à la notice du test Abbott RealTime HCV (référence 4J86).

Contamination par aérosols

Se reporter à la notice du test Abbott RealTime HCV (référence 4J86).

Contamination et inhibition

Se reporter à la notice du test Abbott RealTime HCV (référence 4J86).

Contamination par du produit amplifié externe contenant du dU

Les laboratoires qui utilisent ou ont utilisé des tests d'amplification du VHC qui incluent un traitement post-PCR du produit amplifié peuvent être contaminés par du produit amplifié contenant du dU. Une telle contamination peut entraîner l'obtention de résultats imprécis avec le test Abbott RealTime HCV pour DBS. Se reporter à la partie **Contrôle de la contamination dans le laboratoire** de la notice du test Abbott RealTime HCV (référence 4J86). Si les contrôles négatifs sont réactifs de manière persistante ou si une contamination par du produit amplifié VHC contenant du dU a pu avoir lieu, et en cas d'échec de la décontamination du laboratoire, il est recommandé d'utiliser la procédure de contrôle de la contamination à base d'uracile-N-glycosylase (UNG).

INSTRUCTIONS DE CONSERVATION

Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit (référence 4J86-90)

-  Les coffrets-réactifs d'amplification Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Packs et les flacons de contrôle interne (CI) **nouveaux et partiels** doivent être conservés à une température inférieure ou égale à -10 °C quand ils ne sont pas utilisés. Il faut éviter le contact entre l'Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Pack en cours d'utilisation et les échantillons, les calibrateurs et les contrôles.
- Après la première utilisation, les coffrets-réactifs d'amplification et les CI **partiels** doivent être conservés fermés, à la verticale et à l'abri de la lumière, à une température inférieure ou égale à -10 °C. S'ils sont stockés de cette manière, les coffrets-réactifs d'amplification **partiels** contenant le master mix préparé peuvent être utilisés une seconde fois dans les 14 jours suivant la première utilisation. Le CI peut également être utilisé une seconde fois dans les 14 jours suivant sa décongélation, s'il est conservé fermé à une température inférieure ou égale à -10 °C. Après deux utilisations, éliminer les coffrets-réactifs d'amplification et CI partiels. La deuxième utilisation ne doit pas dépasser la date de péremption du réactif.

Abbott RealTime HCV Control Kit (référence 4J86-80)

-  Les Abbott RealTime HCV Negative et Positive Controls doivent être conservés à une température inférieure ou égale à -10 °C.

Abbott RealTime HCV Calibrator Kit (référence 4J86-70)

-  Les Abbott RealTime HCV Calibrator A et Calibrator B doivent être conservés à une température inférieure ou égale à -10 °C.

CONDITIONS D'EXPEDITION

Se reporter à la notice du test Abbott RealTime HCV (référence 4J86).

INDICATION D'INSTABILITE OU D'ALTERATION DES REACTIFS

Se reporter à la notice du test Abbott RealTime HCV (référence 4J86).

FONCTIONNEMENT DE L'APPAREIL

Le fichier d'application Abbott RealTime HCV pour DBS doit être installé sur les systèmes Abbott m2000sp et Abbott m2000rt à partir de l'Abbott RealTime HCV m2000 ROW System Combined Application CD-ROM (référence 01L69-040 ou supérieure) avant d'effectuer le test. Pour plus d'informations sur l'installation d'un fichier d'application, se reporter au Chapitre Mode opératoire des Manuels Techniques Abbott m2000sp et Abbott m2000rt.

PRELEVEMENT, CONSERVATION ET TRANSPORT DES ECHANTILLONS SUR LE LIEU D'ANALYSE

Prélèvement et conservation des échantillons

- Pour préparer le DBS, utiliser du sang prélevé par piqûre au bout du doigt ou du sang total EDTA. Le sang total EDTA doit être maintenu sous des conditions de température contrôlée pendant le stockage et l'expédition (entre 2 °C et 8 °C pendant 48 heures maximum, ou à température ambiante ne dépassant pas 30 °C pendant 24 heures maximum).
- Avant de procéder à l'extraction des gouttes, le sang total EDTA prélevé dans un tube doit être mélangé soigneusement en le retournant délicatement plusieurs fois. Déposer le sang sur les cercles de 12 mm (1/2 pouce) du papier buvard Ahlstrom-Munktel TFN ou Whatman 903, en veillant chaque fois à recouvrir tout le cercle. Il est recommandé d'utiliser au moins 70 µl de sang (environ 3 à 5 gouttes de sang) pour chaque cercle afin d'assurer une couverture complète.
- Laisser sécher le papier buvard à température ambiante pendant au moins 3 heures. Emballer chaque papier buvard dans un sachet hermétique contenant des sachets de dessiccant (au moins 2 à 3 sachets de dessiccant).
- Les papiers buvards d'échantillons DBS peuvent être stockés dans les conditions spécifiées dans le tableau ci-dessous avant le test.

Conservation des papiers buvards d'échantillons DBS

Condition de conservation	Durée maximale de conservation
2 °C à 30 °C à humidité ambiante	18 semaines
≤ 37 °C à humidité ambiante	12 semaines
≤ 45 °C à humidité ambiante	8 semaines
≤ 38 °C à humidité élevée (≤ 85 %)	4 semaines
-25 °C à -15 °C à humidité ambiante	18 semaines
Température inférieure ou égale à -70 °C à humidité ambiante	18 semaines

Transport des échantillons

Expédier les échantillons en respectant la température et la durée de conservation indiquées dans la partie **Prélèvement et conservation des échantillons** ci-dessus. Pour les envois nationaux et internationaux, les échantillons doivent être conditionnés et étiquetés conformément aux réglementations nationales, fédérales et internationales en vigueur concernant le transport des échantillons cliniques, de diagnostic ou biologiques.

PROCEDURE DE TEST ABBOTT REALTIME HCV POUR DBS

Matériel requis mais non fourni

- Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit (référence 4J86-90)
- Abbott RealTime HCV Calibrator Kit (référence 4J86-70)
- Abbott RealTime HCV Control Kit (référence 4J86-80)

Pour la zone de préparation des échantillons de l'instrument Abbott m2000sp

- Abbott mSample Preparation System DBS Buffer Kit (référence 09N02-001)

- Instrument Abbott *m2000sp* (référence 09K14-01, 09K14-02)
- Abbott *mSample Preparation System* (4 × 24 Preps) (référence 04J70-24)
- Pipettes de précision calibrées pouvant distribuer des volumes compris entre 20 et 1000 µl (Des pipettes de précision calibrées pouvant distribuer des volumes < 20 µl peuvent être requises en cas d'utilisation d'UNG.)
- Embouts de pipette munis de protection contre les aérosols pour pipettes de précision pouvant distribuer des volumes compris entre 20 et 1000 µl (Des embouts de pipettes munis de protection contre les aérosols pour pipettes pouvant distribuer des volumes < 20 µl peuvent être requis en cas d'utilisation d'UNG.)
- Agitateur Vortex
- Tube de master mix (référence 04J71-80)
- Abbott 96-Deep-Well Plate (référence 04J71-30)
- Cupules réactionnelles de 5 ml (référence 04J71-20)
- Cuves de réactifs de 200 ml (référence 04J71-60)
- Abbott 96-Well Optical Reaction Plate (référence 04J71-70)
- Abbott Optical Adhesive Covers (référence 04J71-75)
- Abbott Adhesive Cover Applicators (référence 9K32-01)
- Abbott Splash-Free Support Base (référence 9K31-01)
- Abbott RealTime HCV *m2000 ROW System Combined Application* CD-ROM (référence 01L69-040 ou supérieure)
- *m2000 System* 13mm DBS-PoST Set (référence 09N03-001)
- Micro-flacons de 1,4 ml avec bouchon de 15 mm (référence 03N20-01) (facultatif)
- Uracile-N-glycosylase (UNG)^a (référence 6L87-02)

^a Si nécessaire, conformément à la partie **Contamination par du produit amplifié externe contenant du dU** de cette notice.

Pour la zone d'amplification de l'instrument Abbott *m2000rt*

- Instrument Abbott *m2000rt* (référence 9K15-01)
- Abbott RealTime HCV *m2000 ROW System Combined Application* CD-ROM (référence 01L69-040 ou supérieure)
- Abbott *m2000rt* Optical Calibration Kit (référence 04J71-93)

Matériel supplémentaire

- Sorbonne conforme aux règles de biosécurité pour la manipulation des substances infectieuses
- Sachet hermétique pour papier buvard DBS
- Sachet de dessiccant pour papier buvard DBS
- Papier buvard Ahlstrom-Munktel TFN et/ou Whatman 903
- Sachet en plastique hermétique pour l'élimination de la plaque de réaction à 96 puits
- Eau sans RNase (Eppendorf ou équivalent)^b
- Tubes pour microcentrifugeuse pour biologie moléculaire de 1,7 ml (Dot Scientific, Inc. ou équivalent)^b
- Applicateurs avec embout en coton (Puritan ou équivalent)^b

^b Remarque : Ces trois articles sont utilisés lors de la procédure de contrôle de la contamination dans le laboratoire. Se reporter à la partie **PROCÉDURES DU CONTRÔLE DE QUALITÉ** de la notice du test Abbott RealTime HCV (référence 4J86).

Précautions à prendre au cours de la procédure

- Lire attentivement les instructions de cette notice avant traitement des échantillons.
- Les réactifs d'amplification et le contrôle interne peuvent être utilisés jusqu'à deux fois, comme décrit dans cette notice. Les flacons d'Abbott RealTime HCV Calibrators, Negative Control, Low Positive Control et High Positive Control sont conçus pour n'être utilisés qu'une seule fois et doivent être jetés après utilisation.
- Utiliser une seule fois les embouts de pipettes munis de protection contre les aérosols ou les pipettes jetables lors du pipetage des échantillons ou du CI. Lors du pipetage, éviter tout contact entre le corps de la pipette et l'intérieur du tube ou récipient échantillon afin d'éviter toute contamination du corps de la pipette. Il est recommandé d'utiliser de longs embouts de pipettes munis de protection contre les aérosols.
- Les procédures de contrôle permettant de détecter la présence de produit d'amplification figurent à la partie **PROCÉDURES DU CONTRÔLE DE QUALITÉ**.
- Pour réduire le risque de contamination par des acides nucléiques, nettoyer et désinfecter toutes les projections d'échantillons à l'aide d'un désinfectant antimicrobien, tel qu'une solution d'hypochlorite de sodium à 1,0 %, ou de tout autre désinfectant approprié.
- Les Abbott RealTime HCV Calibrators et Controls doivent être préparés en association avec les échantillons à analyser. L'utilisation des Abbott RealTime HCV Controls et Calibrators est essentielle pour la bonne performance du test Abbott RealTime HCV. Se reporter à la partie **PROCÉDURES DU CONTRÔLE DE QUALITÉ**.
- Le protocole d'addition du master mix Abbott *m2000sp* doit être lancé dans l'heure suivant la fin de la préparation des échantillons.
- Si le protocole d'addition du master mix Abbott *m2000sp* est

abandonné, jeter les réactifs d'amplification utilisés pour la seconde fois. Les nouveaux coffrets-réactifs utilisés pour la première fois peuvent être conservés pour une utilisation ultérieure comme décrit dans cette notice.

- Le protocole Abbott *m2000rt* doit être lancé dans les 50 minutes suivant le lancement du protocole d'addition du master mix. Si une série sur le système Abbott *m2000rt* n'est pas initiée dans les 50 minutes ou est interrompue ou arrêtée, sceller la plaque Abbott 96-Well Optical Reaction Plate dans un sac plastique hermétique et la jeter, ainsi que les gants ayant servi à la manipuler, conformément au Manuel Technique Abbott *m2000rt*.

IMPORTANT : Les réactifs d'amplification qui seront utilisés une seconde fois doivent être conservés à une température inférieure ou égale à -10 °C dans les 50 minutes suivant le lancement du protocole d'addition du master mix.

PROTOCOLE DU TEST : ECHANTILLONS DBS UTILISANT LES INSTRUMENTS ABBOTT *m2000sp* ET ABBOTT *m2000rt*

Pour obtenir une description détaillée de la réalisation d'un protocole Abbott *m2000sp* et Abbott *m2000rt*, se référer au Chapitre Mode opératoire des Manuels Techniques Abbott *m2000sp* et Abbott *m2000rt*. Le protocole DBS nécessite la version 6.0 ou ultérieure du logiciel Abbott *m2000sp*. Suivre le Manuel Technique Abbott *m2000sp* (référence 09K20 version 6 ou ultérieure).

Il est possible de traiter jusqu'à 96 échantillons lors de chaque série. Un Abbott RealTime HCV Negative Control, un Abbott RealTime HCV Low Positive Control et un Abbott RealTime HCV High Positive Control sont requis par série d'analyse, ce qui permet de traiter au maximum 93 échantillons DBS par série lorsque les calibrateurs ne sont pas inclus. Traiter les calibrateurs et contrôles directement sous forme d'échantillons liquides ; les étapes 1 à 5 concernent uniquement les DBS. Ne pas traiter d'échantillons de plasma ou de sérum lors d'une série utilisant le protocole DBS. Pour chaque échantillon DBS, un seul tube de master mix Abbott doit être utilisé pour toute la procédure de traitement. S'assurer que les échantillons DBS sont étiquetés tout au long du traitement.

1. Remplir le tube de master mix Abbott avec 1,3 ml de tampon *mDBS* de l'Abbott *mSample Preparation system* DBS Buffer Kit (référence 09N02-001).

REMARQUE : Ne pas utiliser le *mLysis Buffer* ou autres réactifs pour cette étape.

2. Tenir le papier buvard DBS perforé au-dessus de l'Abbott Master Mix Tube.
3. Retirer le cercle DBS du papier buvard à l'aide d'un embout de pipette propre, 1 cercle DBS par Abbott Master Mix Tube. Chaque DBS doit avoir un diamètre d'environ 12 millimètres (1/2 pouce).

REMARQUE : UTILISER UN NOUVEL EMBOUT DE PIPETTE POUR CHAQUE ECHANTILLON DBS AFIN D'ÉVITER TOUTE CONTAMINATION CROISÉE.

Dans le cas d'un papier DBS non perforé, découper 1 DBS entier (environ 12 millimètres de diamètre) pour chaque échantillon et le transférer dans un Abbott Master Mix Tube.

REMARQUE : Éviter tout contact direct de la surface de coupe avec les échantillons DBS. Si nécessaire, décontaminer l'outil utilisé pour découper le DBS entre les échantillons, conformément aux bonnes pratiques de laboratoire.

4. Vérifier que le cercle DBS est entièrement immergé dans le *mDBS* Buffer en tapotant sur le tube ou en utilisant l'embout de la pipette pour pousser le DBS dans le tampon.
- REMARQUE : Si un embout de pipette est utilisé pour pousser le DBS dans le tampon, s'assurer que l'embout de pipette ne provoque pas de perte de volume du tampon DBS en raison de la rétention de liquide dans l'embout et/ou de l'absorption de tampon par le filtre de l'embout.**

5. Agiter ou faire tourner manuellement les tubes d'échantillon. Ne pas mélanger les échantillons au vortex. Incuber pendant 30 minutes (± 2 minutes) à température ambiante.

6. Pendant ce temps, décongeler les contrôles du test et le contrôle interne (CI) entre 15 °C et 30 °C ou entre 2 °C et 8 °C. Décongeler les calibrateurs entre 15 °C et 30 °C ou entre 2 °C et 8 °C uniquement lors d'une analyse de calibration.

REMARQUE : Une fois décongelés, les contrôles du test, le CI et les calibrateurs peuvent être conservés entre 2 °C et 8 °C pendant 24 heures maximum avant d'être utilisés.

7. Mélanger au vortex chaque calibrateur et chaque contrôle 3 fois pendant 2 à 3 secondes avant utilisation. S'assurer que le contenu de chaque flacon se trouve bien au fond en tapotant le flacon sur la paillasse afin de faire descendre le liquide au fond du flacon. Vérifier qu'aucune bulle ou mousse n'est générée ; si c'est le cas, les retirer à l'aide d'un embout de pipette stérile, en utilisant un nouvel embout

pour chaque flacon.

8. Décongeler les réactifs d'amplification entre 15 °C et 30 °C ou entre 2 °C et 8 °C, puis les conserver entre 2 °C et 8 °C jusqu'au moment de la procédure d'amplification utilisant le master mix.
9. Sélectionner les coffrets-réactifs d'amplification **nouveaux** et/ou **partiels** à utiliser dans la série. Se reporter au Chapitre Mode opératoire du Manuel Technique Abbott *m2000sp* (référence 09K20 version 6 ou ultérieure) pour des instructions sur la gestion du stock de coffrets-réactifs d'amplification. Les coffrets-réactifs d'amplification doivent avoir le même numéro de lot.
Décongeler les **nouveaux** réactifs d'amplification entre 15 °C et 30 °C ou entre 2 °C et 8 °C, puis les conserver entre 2 °C et 8 °C jusqu'au moment où ils sont nécessaires pour la procédure de master mix d'amplification.
REMARQUE : Une fois décongelés, les nouveaux réactifs d'amplification peuvent être conservés entre 2 °C et 8 °C pendant une durée maximale de 24 heures s'ils ne sont pas utilisés immédiatement. Les coffrets-réactifs d'amplification partiels utilisés une deuxième fois NE doivent PAS être conservés entre 2 °C et 8 °C avant utilisation. Ils doivent être conservés à une température inférieure ou égale à -10 °C jusqu'à l'addition du master mix. Après retrait du congélateur, l'exposition cumulée à température ambiante ne doit pas dépasser 25 minutes, y compris lorsque les coffrets sont retirés du stockage sans être utilisés. Si le délai de 25 minutes est dépassé, jeter les coffrets-réactifs d'amplification partiels.

Le tableau suivant indique le nombre de flacons de réactifs de préparation des échantillons et de contrôle interne requis en fonction du nombre de réactions.

Exigences relatives au contrôle interne et aux réactifs de préparation des échantillons

Réactif	1 à 24 réactions	25 à 48 réactions	49 à 72 réactions	73 à 96 réactions
<i>m</i> Microparticles	1 flacon	2 flacons	2 flacons	2 flacons
<i>m</i> Lysis	1 flacon	2 flacons	3 flacons	4 flacons
<i>m</i> Wash 1	1 flacon	2 flacons	3 flacons	4 flacons
<i>m</i> Wash 2	1 flacon	2 flacons	3 flacons	4 flacons
<i>m</i> Elution Buffer	1 flacon	2 flacons	3 flacons	4 flacons
Contrôle interne ^a	1 nouveau flacon ou 1 flacon partiel	1 nouveau flacon ou 2 flacons partiels	2 nouveaux flacons ou 3 flacons partiels	2 nouveaux flacons ou 4 flacons partiels

^a Il est possible d'utiliser une combinaison de flacons de contrôle interne nouveaux et partiels.

10. Retourner délicatement les flacons d'Abbott *m*Sample Preparation pour garantir une solution homogène. En cas de présence de cristaux dans l'un des flacons de réactif à l'ouverture, laisser le réactif s'équilibrer à température ambiante jusqu'à disparition des cristaux. Ne pas utiliser les réactifs avant la dissolution totale des cristaux.
11. Passer chaque contrôle interne au vortex 3 fois pendant 2 à 3 secondes avant utilisation.
12. Utiliser une pipette de précision calibrée **DESTINEE UNIQUEMENT AU CONTROLE INTERNE** pour ajouter 500 µl de CI à chaque flacon de *m*Lysis Buffer. Homogénéiser en retournant le flacon délicatement 5 à 10 fois pour minimiser la formation de mousse. Les flacons de CI partiels peuvent être refermés et conservés à une température inférieure ou égale à -10 °C pour une seconde utilisation.
13. Placer les contrôles positifs bas et haut, le contrôle négatif, les calibrateurs (le cas échéant) dans les portoirs échantillons Abbott *m2000sp*.
14. Lorsque l'incubation est terminée, agiter ou faire tourner manuellement les tubes d'échantillons DBS, puis les placer dans les portoirs échantillons Abbott *m2000sp*.
REMARQUE : S'assurer que les portoirs échantillons Abbott *m2000sp* ont été calibrés spécifiquement pour la procédure Abbott RealTime HCV pour DBS.
15. Charger avec précaution les portoirs échantillons pour éviter les éclaboussures. Le cas échéant, les codes-barres figurant sur les étiquettes des tubes doivent être dirigés vers la droite pour qu'ils puissent être lus. S'assurer que chaque tube est correctement placé dans le portoir échantillons de sorte que la base du tube soit en

contact avec la face inférieure interne du portoir.

16. Charger les portoirs échantillons remplis sur le système Abbott *m2000sp* sur des emplacements qui se suivent, le premier portoir le plus à droite sur le plan de travail, et tout portoir supplémentaire à gauche du premier portoir, progressivement.
17. Placer les cupules réactionnelles de 5 ml dans le portoir de l'unité de traitement 1 ml de l'Abbott *m2000sp*.
18. Charger les réactifs Abbott *m*Sample Preparation System et l'Abbott 96 Deep-Well Plate sur le plan de travail de l'Abbott *m2000sp* comme indiqué au Chapitre Mode opératoire du Manuel Technique Abbott *m2000sp*.
19. Dans l'écran Protocol (Protocole), sélectionner le fichier d'application HCV RNA DBS. Initier le protocole d'extraction des échantillons comme décrit au Chapitre Mode opératoire du Manuel Technique Abbott *m2000sp*.
20. Saisir les valeurs spécifiques aux lots de calibrateurs (requis si aucune courbe de calibration n'est enregistrée sur l'Abbott *m2000rt*) et de contrôles dans les champs Sample Extraction: Worktable Setup - Calibrator and Control (Extraction d'échantillon : Configuration du plan de travail - Calibrateur et Contrôle). Les valeurs spécifiques au lot sont indiquées sur chaque Abbott RealTime HCV Calibrator et Control Kit Card.
21. Le protocole d'addition du master mix Abbott *m2000sp* (étape 28) doit être lancé dans l'heure suivant la fin de la préparation des échantillons.

REMARQUE : Changer de gants avant de manipuler les réactifs d'amplification.

22. Charger les réactifs d'amplification et le tube de master mix (si nécessaire) sur le plan de travail de l'Abbott *m2000sp* une fois la préparation des échantillons terminée. Le tableau suivant indique le nombre de coffrets-réactifs d'amplification requis en fonction du nombre de réactions. Si 1 seul coffret-réactifs d'amplification est utilisé, aucun tube de master mix n'est requis.

Exigences relatives aux coffrets-réactifs d'amplification^a

1 à 24 réactions	25 à 48 réactions	49 à 72 réactions	73 à 96 réactions
1 si le coffret est nouveau ; jusqu'à 4 avec des coffrets partiels	2 si le coffret est nouveau ; jusqu'à 4 avec des coffrets partiels	3 si le coffret est nouveau ; jusqu'à 4 avec des coffrets partiels	4 coffrets nouveaux ou partiels

^a Se référer au Manuel Technique Abbott *m2000sp* (référence 09K20 version 6 ou ultérieure) pour des instructions sur la gestion du stock afin de déterminer le nombre maximal de réactions pouvant être testées avec les coffrets partiels sélectionnés.

- Les coffrets-réactifs d'amplification partiels ne peuvent être utilisés que sur le même instrument Abbott *m2000sp* que celui qui a été utilisé pour la préparation initiale des coffrets-réactifs. L'utilisation d'un coffret-réactifs d'amplification une seconde fois sur un autre instrument produira une erreur qui risque de retarder la série.
- Les coffrets-réactifs d'amplification partiels et nouveaux peuvent être utilisés ensemble.

IMPORTANT : Les coffrets-réactifs d'amplification partiels doivent être conservés à une température inférieure ou égale à -10 °C jusqu'à la seconde utilisation. Vérifier que le master mix est décongelé avant de placer un ou plusieurs coffrets partiels sur le plan de travail Abbott *m2000sp*. Une fois retirés de leur conservation à une température inférieure ou égale à -10 °C, les coffrets-réactifs d'amplification partiels utilisés une seconde fois doivent être utilisés dans les 25 minutes ou jetés. Cela s'applique à la durée totale d'exposition à température ambiante, y compris pour les cas où les coffrets sont retirés du stockage mais non utilisés.

23. Avant d'ouvrir les flacons de réactifs d'amplification, s'assurer que le contenu des nouveaux coffrets-réactifs d'amplification se trouve bien au fond des flacons en tapotant 5 à 10 fois les flacons tenus à la verticale sur la paillasse.
 - Ne pas tapoter les coffrets-réactifs d'amplification partiels utilisés une seconde fois. Le tapotement peut entraîner une perte de volume de master mix dans le bouchon.
24. Retirer les bouchons. Si un nouveau coffret-réactifs d'amplification est conservé pour une seconde utilisation, refermer les flacons pour

la conservation. Conserver les bouchons d'origine s'il est prévu de les réutiliser pour refermer les flacons de réactif. S'il est prévu de refermer les flacons de réactif avec des bouchons neufs, les bouchons d'origine peuvent être jetés.

Si l'uracile N-glycosylase (UNG) est utilisée pour le contrôle de la contamination, suivre les instructions ci-dessous.

25. Utiliser une PIPETTE DESTINÉE UNIQUEMENT AUX REACTIFS pour ajouter le volume spécifié d'UNG à 1 U/μl (référence 6L87-02) au flacon de réactif se trouvant à la position 3 des coffrets-réactifs d'amplification nouveaux et partiels. Mélanger manuellement en aspirant et en refoulant délicatement à l'aide de la pipette tous les coffrets partiels. Ne pas mélanger les nouveaux coffrets.
 - Utiliser le tableau ci-dessous pour déterminer le volume d'UNG à ajouter au flacon de réactif se trouvant à la position 3 des coffrets-réactifs d'amplification nouveaux et partiels. Le flacon de réactif se trouvant à la position 3 d'un nouveau coffret-réactifs contient l'enzyme polymérase rTth thermostable. Le flacon de réactif à la position 3 d'un coffret-réactifs partiel contient le master mix.

Volume d'UNG à ajouter au flacon de réactif se trouvant à la position 3 de chaque coffret-réactifs d'amplification	
Tests restants dans le coffret	Ajouter ce volume d'UNG (μl)
1	5
2	6
3	7
4	8
5	9
6	10
7	11
8	12
9	13
10	13
11	14
12	15
13	16
14	17
15	18
16	19
17	20
18	21
19	22
20	23
21	24
22	25
23	26
24 (nouveau coffret)	27

REMARQUE : le volume d'UNG ajouté au flacon de réactif se trouvant à la position 3 dépend du nombre de tests restant dans le coffret-réactifs, et non du nombre d'échantillons en cours d'exécution. Consulter le Manuel Technique Abbott *m2000sp* pour connaître les instructions sur la gestion des stocks de coffrets-réactifs d'amplification et la manière de déterminer le nombre de tests restants dans un coffret-réactifs.

26. Les coffrets-réactifs d'amplification partiels sont chargés à gauche des nouveaux coffrets-réactifs d'amplification sur le plan de travail de l'Abbott *m2000sp*.
27. Vérifier que les coffrets-réactifs d'amplification sont bien placés dans l'instrument.
28. Sélectionner la plaque à puits profonds appropriée correspondant au protocole d'extraction des échantillons. Lancer le protocole d'addition du master mix Abbott *m2000sp*. Suivre les instructions décrites au Chapitre Mode opératoire du Manuel Technique Abbott *m2000sp*.

REMARQUE : l'opérateur ne doit pas remplir manuellement les puits vides/vacants sur la plaque Abbott 96-Well Optical Reaction Plate.

- Une fois l'extraction des échantillons terminée, l'Abbott *m2000sp* remplit automatiquement tous les puits vides de la plaque Abbott 96-Well Optical Reaction Plate avec le *mElution Buffer* lorsque plus de 48 échantillons sont traités lors d'une série. La plaque n'est pas remplie pour les séries contenant au maximum 48 échantillons.
- Si l'instrument le demande, le portoir réactif 2 doit rester en place, contenant au moins la cuve de réactif pour le *mElution Buffer* (portoir réactif 2, position 6). Si cette cuve de réactif a été déchargée, placer une nouvelle cuve de réactif étiquetée *mElution Buffer* dans le portoir réactif 2, position 6. Le liquide système sera ajouté à la cuve de réactif et utilisé pour remplir les puits vides. Une fois le processus terminé, le système continuera avec l'addition du master mix.

REMARQUE : Les instructions relatives à la fonction de remplissage automatique de la plaque sont indiquées dans le Manuel Technique Abbott *m2000sp* (référence 09K20 version 6 ou supérieure), Chapitre 5, Mode opératoire, Extraction d'échantillon-Mode fermé.

- Le protocole Abbott *m2000rt* (étape 33) doit être lancé dans les 50 minutes qui suivent le lancement du protocole d'addition du master mix (étape 28).

REMARQUE : Si l'analyse est interrompue pour une raison après l'étape 28, une nouvelle plaque Abbott 96-Well Optical Reaction Plate doit être utilisée si le protocole d'addition du master mix Abbott *m2000sp* (étape 28) doit être répété.

29. Allumer et initialiser l'instrument Abbott *m2000rt* dans la zone d'amplification.

REMARQUE : L'instrument Abbott *m2000rt* nécessite un préchauffage de 15 minutes.

REMARQUE : Retirer les gants avant de retourner dans la zone de préparation des échantillons.
30. Une fois que l'instrument Abbott *m2000sp* a terminé l'addition des échantillons et du master mix, sceller l'Abbott 96-Well Optical Reaction Plate conformément au Chapitre Mode opératoire du Manuel Technique Abbott *m2000sp*.
31. Placer la plaque de réaction optique scellée dans l'Abbott Splash-Free Support Base pour effectuer le transfert vers l'instrument Abbott *m2000rt*.

Si l'uracile N-glycosylase (UNG) est utilisée, suivre les instructions ci-dessous :
32. Transférer la plaque optique scellée sur l'Abbott Splash-Free Support Base et incuber à température ambiante (entre 15 °C et 30 °C) pendant 10 minutes. Suite à l'incubation à température ambiante, transférer la plaque Abbott 96-Well Optical Reaction Plate se trouvant sur l'Abbott Splash-Free Support Base dans l'instrument Abbott *m2000rt*.
33. Placer la plaque Abbott 96-Well Optical Reaction Plate sur l'Abbott *m2000rt*. Dans l'écran Protocol (Protocole), sélectionner le fichier d'application HCV RNA DBS. Lancer le protocole comme décrit au Chapitre Mode opératoire du Manuel Technique Abbott *m2000rt*.

REMARQUE : Il est recommandé de transférer la demande de test à l'aide d'un CD-ROM ou d'une connexion réseau avec les fonctions d'exportation et d'importation des logiciels *m2000sp* et *m2000rt*. Pour une demande de test manuelle sur l'Abbott *m2000rt*, saisir les ID échantillons dans les positions de la plaque PCR correspondantes conformément à la grille « Wells for Selected Plate » (Puits de la plaque sélectionnée), indiquée sur l'écran « PCR Plate Results » (Résultats de la plaque PCR) sur l'Abbott *m2000sp*. Se référer au Chapitre 5 du Manuel Technique Abbott *m2000sp*.

34. Si un coffret-réactifs d'amplification partiel préparé doit être utilisé une seconde fois, fermer les 3 flacons de réactif à l'aide des bouchons conservés ou de nouveaux bouchons (référence 3N20-01) et placer aussitôt les réactifs à une température inférieure ou égale à -10 °C, à l'abri de la lumière et en position verticale. Jeter tout coffret-réactifs d'amplification vide ou utilisé deux fois.

IMPORTANT : Les réactifs d'amplification qui seront utilisés une seconde fois doivent être placés à une température inférieure ou égale à -10 °C dans les 50 minutes suivant le lancement du protocole d'addition du master mix.

PROCEDURES POST-TRAITEMENT

1. Retirer l'Abbott 96 Deep-Well Plate du plan de travail et la jeter conformément au Manuel Technique Abbott *m2000sp*.
2. Placer la plaque Abbott 96-Well Optical Reaction Plate dans un sac plastique hermétique et la jeter conformément au Manuel Technique Abbott *m2000rt*, ainsi que les gants ayant servi à la manipuler.
3. Nettoyer l'Abbott Splash-Free Support Base avant de la réutiliser, conformément au Manuel Technique Abbott *m2000rt*.

PROCEDURES DU CONTROLE DE QUALITE

Calibration optique de l'Abbott m2000rt

Se reporter à la notice du test Abbott RealTime HCV (référence 4J86).

Calibration du test

Se reporter à la notice du test Abbott RealTime HCV (référence 4J86). Pour les analyses DBS avec l'Abbott m2000sp et l'Abbott m2000rt : une fois la calibration du test Abbott RealTime HCV validée et mémorisée, elle peut être utilisée pendant 6 mois. Pendant cette période, tous les échantillons suivants peuvent être analysés sans effectuer de nouvelle calibration, sauf si :

- un Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit portant un nouveau numéro de lot est utilisé.
- un Abbott mSample Preparation System (4 x 24 Preps) portant un nouveau numéro de lot est utilisé.
- un nouveau fichier d'application Abbott RealTime HCV RNA DBS est installé.

Détection de l'inhibition

Se reporter à la notice du test Abbott RealTime HCV (référence 4J86).

Contrôles négatif et positif

Se reporter à la notice du test Abbott RealTime HCV (référence 4J86).

Contrôle de la contamination dans le laboratoire

Se reporter à la notice du test Abbott RealTime HCV (référence 4J86).

RESULTATS POUR LES ECHANTILLONS DBS

Le résultat de la concentration de l'échantillon DBS rapportée dans le protocole Abbott m2000rt DBS représente la concentration virale du VHC dans le plasma de l'échantillon de sang total à partir duquel l'échantillon de DBS est obtenu. L'instrument Abbott m2000rt rapporte automatiquement les résultats sur le poste de travail Abbott m2000rt. Les résultats du test peuvent être rapportés en unités internationales UI/ml ou en Log UI/ml.

Interprétation des résultats

Résultat	Interprétation
Not detected	Cible non détectée
< 2,66 Log UI/ml ^a	Détecté
2,66 à 8,00 Log UI/ml	
> 8,00 Log UI/ml	> ULQ ^b

^a 462 UI/ml

^b ULQ = upper limit of quantitation (limite supérieure de quantification)

LIMITES DE LA METHODE

• POUR DIAGNOSTIC IN VITRO

- Pour une performance optimale de ce test, les échantillons doivent être prélevés, conservés et transportés sur le lieu d'analyse de manière appropriée (se référer à la partie **PRELEVEMENT, CONSERVATION ET TRANSPORT DES ECHANTILLONS SUR LE LIEU D'ANALYSE** de cette notice).
- Les échantillons de sang total prélevés dans des tubes EDTA peuvent être utilisés pour générer des DBS analysés avec le test Abbott RealTime HCV pour DBS. L'utilisation d'autres anticoagulants n'a pas été validée avec le test Abbott RealTime HCV pour DBS.
- L'utilisation du test Abbott RealTime HCV pour DBS est réservée au personnel formé aux procédures de préparation et de prétraitement des échantillons DBS, de tests de diagnostic moléculaire et à l'utilisation du système Abbott m2000.
- Les instruments et procédures de test utilisés permettent de réduire le risque de contamination par le produit d'amplification. Cependant, la contamination par des acides nucléiques due aux calibrateurs, aux contrôles positifs ou aux échantillons doit être maîtrisée par de bonnes pratiques de travail en laboratoire et un strict respect des procédures décrites dans cette notice.
- Comme pour tout test diagnostique, les résultats du test Abbott RealTime HCV pour DBS doivent être interprétés en tenant compte des autres observations cliniques et biologiques. Un échantillon avec un résultat « Not Detected » (Non détecté) ne peut pas être présumé négatif pour l'ARN VHC.
- Un prélèvement, un séchage, une conservation et une manipulation inappropriés des papiers buvards DBS peuvent conduire à des résultats incorrects.
- Les papiers buvards DBS Ahlstrom-Munktel TFN et Whatman 903 peuvent être utilisés. L'utilisation d'autres types de papier buvard n'a pas été validée avec le test Abbott RealTime HCV.

CARACTERISTIQUES DES PERFORMANCES

SPECIFIQUES AUX ECHANTILLONS DBS

Limite de détection (LD)

La LD du test Abbott RealTime HCV est de 462 UI/ml avec le

type d'échantillon DBS. La LD a été déterminée en analysant des échantillons DBS préparés avec une série de dilutions du standard international de l'OMS pour l'ARN du virus de l'hépatite C dilué dans du sang total négatif pour le VHC. L'analyse de chaque concentration d'ARN du VHC a été effectuée avec 4 lots de réactifs d'amplification sur 3 jours. Les résultats, représentatifs de la sensibilité analytique du test Abbott RealTime HCV pour DBS, sont résumés dans le **Tableau 1**.

Tableau 1. Limite de détection (LD) du test Abbott RealTime HCV pour DBS

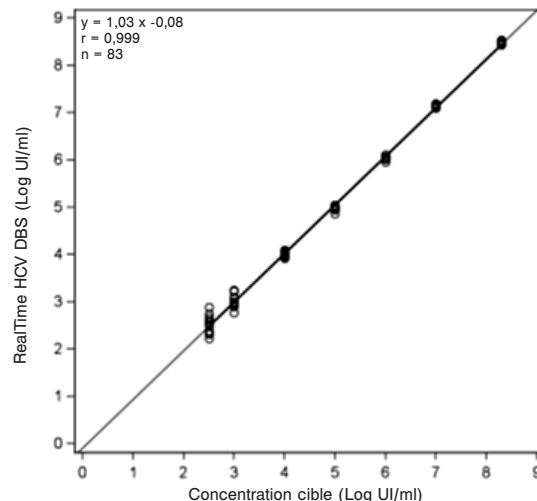
ARN du VHC (UI/ml)	Nombre testé	Nombre détecté	Pourcentage détecté
500	84	83	99
400	84	80	95
350	84	75	89
300	84	73	87
150	84	54	64
50	84	26	31

Des analyses probits des données ont déterminé que la concentration de l'ARN du VHC détectée à partir d'une goutte de sang séché à une probabilité de 95 % était de 462 UI/ml (IC à 95 % de 381 à 593 UI/ml).

Plage de linéarité

La limite de quantification supérieure (ULQ) du test Abbott RealTime HCV est de 100 millions d'UI/ml et la limite de quantification inférieure (LLQ) est équivalente à la LD (462 UI/ml) pour les DBS. Un panel de 7 échantillons de DBS a été préparé avec de l'ARN VHC encapsulé dilué à des concentrations allant de 200 millions d'UI/ml à 316 UI/ml dans du sang total négatif pour le VHC. Les résultats, représentatifs de la linéarité du test Abbott RealTime HCV pour DBS, sont illustrés sur la **Figure 1**.

Figure 1. Linéarité du test Abbott RealTime HCV pour DBS



Le test Abbott RealTime HCV pour DBS est linéaire tout au long de l'intervalle des concentrations en ARN VHC analysées (316 à 200 millions d'UI/ml ; 2,5 à 8,3 Log UI/ml).

Spécificité

La spécificité cible du test Abbott RealTime HCV pour DBS est supérieure ou égale à 99,5 %. La spécificité a été déterminée par l'analyse de 119 échantillons séronégatifs pour le VHC, sur 2 lots de réactifs d'amplification. La spécificité globale était de 100 % (119/119).

Précision

La précision a été évaluée en analysant un panel de 6 échantillons DBS ciblés pour couvrir la plage de concentrations en ARN VHC de 316 UI/ml à 200 millions d'UI/ml. Les échantillons du panel dont les concentrations étaient inférieures à 5 Log UI/ml (100 000 UI/ml) ont été préparés avec un échantillon clinique positif pour le VHC dilué dans du sang total négatif pour le VHC, tandis que les échantillons du panel dont les concentrations étaient supérieures à 5 Log UI/ml (100 000 UI/ml) ont été préparés avec de l'ARN VHC encapsulé dilué dans du sang total négatif pour le VHC. Chaque échantillon du panel a été analysé en 5 répliques une fois par jour pendant 5 jours, sur 3 paires d'Abbott m2000sp/rt avec 3 lots de réactifs d'amplification. Les écarts-types (E.T.) intra-analyse, inter-

analyses et inter-tests (intra-analyse et inter-analyses) ont été déterminés. Le test Abbott RealTime HCV pour DBS a été conçu pour atteindre un écart-type (E.T.) inter-tests inférieur ou égal à 0,25 Log UI/ml d'ARN VHC pour les échantillons contenant des concentrations de VHC comprises entre 10 000 et 100 millions d'UI/ml. Les résultats, représentatifs de la précision du test Abbott RealTime HCV pour DBS, sont résumés dans le **Tableau 2**.

Tableau 2. Précision du test Abbott RealTime HCV pour DBS

Échantillon du panel	n	Concentration moyenne (UI/ml)	Concentration moyenne (Log UI/ml)	E.T. du composant intra-analyse ^{a,e}	E.T. du composant inter-analyses ^a	E.T. inter-tests ^{a,b}	E.T. du composant intra-lots/instruments ^a	Total ^{c,e}
1	63 ^d	420	2,62	0,26	0,07	0,27	0,00	0,27
2	75	1 435	3,16	0,23	0,00	0,23	0,09	0,25
3	75	13 211	4,12	0,06	0,04	0,07	0,05	0,09
4	75	395 427	5,60	0,04	0,03	0,05	0,02	0,05
5	75	14 008 770	7,15	0,12	0,04	0,13	0,05	0,14
6	75	316 713 566	8,50	0,04	0,03	0,05	0,05	0,07

^a Les écarts-types (E.T.) sont exprimés en Log UI/ml.

^b L'inter-tests contient des composants intra-analyse et inter-analyses.

^c Le total comprend les composants intra-analyse, inter-analyses et inter-lots/instruments.

^d La concentration moyenne de l'échantillon 1 du panel est inférieure à la **LD**. Les estimations de précision sont basées sur les répliques quantifiées.

^e L'écart-type intra-analyse est également appelé répétabilité. L'E.T. total est également appelé reproductibilité.

La répétabilité et la reproductibilité pour l'échantillon 1 du panel (proche de la **LLQ**) étaient respectivement de 0,26 Log UI/ml et 0,27 Log UI/ml, et pour l'échantillon 2 du panel (proche de la **LLQ**) étaient respectivement de 0,23 Log UI/ml et 0,25 Log UI/ml. La répétabilité et la reproductibilité pour l'échantillon 5 du panel (proche de l'**ULQ**) étaient respectivement de 0,12 Log UI/ml et 0,14 Log UI/ml, et pour l'échantillon 6 du panel (proche de l'**ULQ**) étaient respectivement de 0,04 Log UI/ml et 0,07 Log UI/ml.

Corrélation

La quantification de l'ARN du VHC a été comparée entre le test Abbott RealTime HCV utilisant des gouttes de sang séché et le test comparateur portant le marquage CE, l'Abbott RealTime HCV utilisant du plasma humain. Des échantillons de plasma et de DBS prélevés sur un total de 346 patients (prélevés et testés en Géorgie, au Cameroun et en Grèce) ont été inclus dans l'analyse. Des DBS préparés à partir de sang veineux et des DBS préparés à partir de sang capillaire (au bout du doigt) ont été analysés avec le test Abbott RealTime HCV pour DBS. Les résultats quantitatifs des échantillons qui se sont trouvés dans les plages dynamiques des tests ont été analysés par la méthode de régression linéaire des moindres carrés et la méthode de biais Bland-Altman (DBS capillaire versus plasma n = 346, DBS veineux versus plasma n = 346 et DBS capillaire versus DBS veineux n = 345). Pour la corrélation entre DBS capillaire et plasma, le coefficient de corrélation était de 0,843, la pente était de 0,91 (IC à 95 % de 0,85 à 0,97) et l'ordonnée à l'origine était de 0,48 Log UI/ml (IC à 95 % de 0,12 à 0,84) (**Figure 2**). Pour la corrélation entre le DBS veineux et plasma, le coefficient de corrélation était de 0,840, la pente était de 0,94 (IC à 95 % de 0,88 à 1,00) et l'ordonnée à l'origine était de 0,31 Log UI/ml (IC à 95 % de -0,07 à 0,69) (**Figure 3**). Pour la corrélation entre le DBS capillaire et DBS veineux, le coefficient de corrélation était de 0,943, la pente était de 0,91 (IC à 95 % de 0,87 à 0,94) et l'ordonnée à l'origine était de 0,53 Log UI/ml (IC à 95 % de 0,33 à 0,72) (**Figure 4**). En outre, les graphiques de Bland-Altman pour ces comparaisons sont présentés à la **Figure 5**, à la **Figure 6** et à la **Figure 7**. La différence de biais moyenne entre DBS capillaire et plasma était de -0,05 Log UI/ml. La différence de biais moyenne entre le DBS veineux et plasma était de -0,04 Log UI/ml. La différence de biais moyenne entre DBS capillaire et DBS veineux était de -0,02 Log UI/ml.

Le biais attendu entre DBS capillaire et plasma a été évalué aux concentrations cibles de la **LLQ** et de l'**ULQ**. En outre, le biais attendu entre DBS veineux et plasma a été évalué aux concentrations cibles de la **LLQ** et de l'**ULQ**. Se reporter au **Tableau 3** pour le résumé des biais attendus.

Tableau 3. Biais attendu entre DBS (capillaire ou veineux) et plasma aux concentrations de la **LLQ** et de l'**ULQ**

Comparaison	Niveau	Concentration cible de la charge virale (Log UI/ml)	Biais attendu (Log UI/ml)
DBS capillaire vs plasma	LLQ	2,66	0,24
	ULQ	8,00	-0,26
DBS veineux vs plasma	LLQ	2,66	0,15
	ULQ	8,00	-0,17

Figure 2. DBS capillaire et plasma

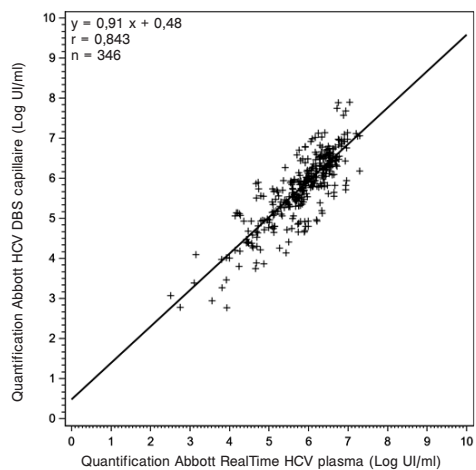


Figure 5. DBS capillaire versus plasma

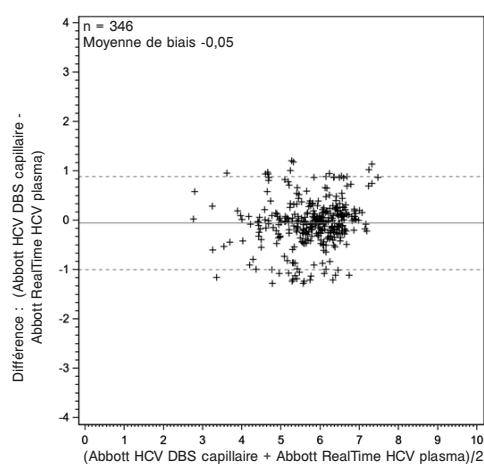


Figure 3. DBS veineux et plasma

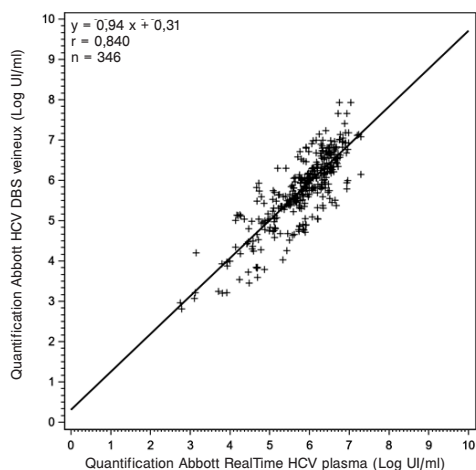


Figure 6. DBS veineux versus plasma

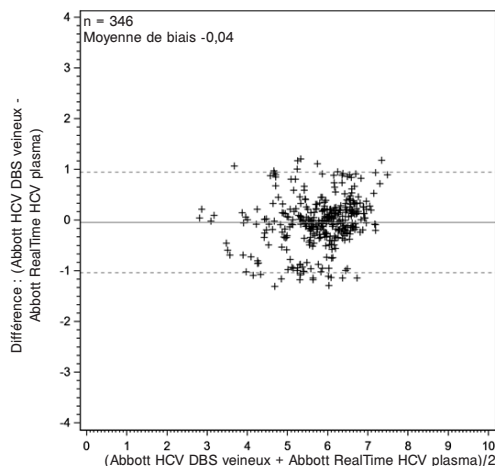


Figure 4. DBS capillaire et DBS veineux

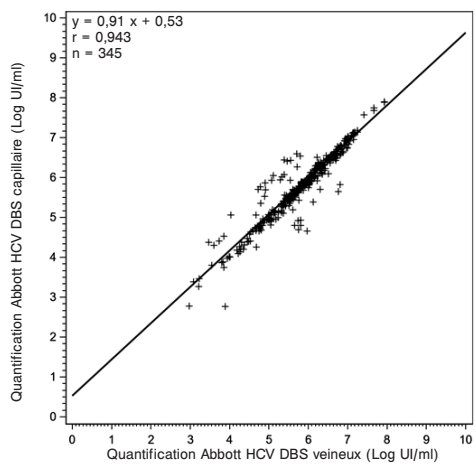
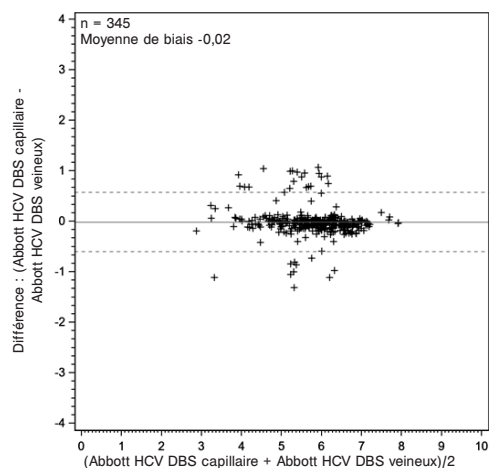


Figure 7. DBS capillaire versus DBS veineux



BIBLIOGRAPHIE

1. Gower E, Estes C, Blach S, Razavi-Shearer K, Razavi H. Global epidemiology and genotype distribution of the hepatitis C virus infection. *J Hepatol.* 2014;61(1 Suppl):S45-S57. doi:10.1016/j.jhep.2014.07.027
2. Guidelines for the screening, care and treatment of persons with chronic hepatitis C infection. World Health Organization (WHO); updated April 2016. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/205035>
3. AASLD/IDSA HCV guidance panel. *Recommendations for testing, managing, and treating hepatitis C.* AASLD/IDSA; updated October 24, 2022. <https://www.hcvguidelines.org/>
4. European Association for the Study of the Liver. EASL Recommendations on Treatment of Hepatitis C 2018. *J Hepatol.* 2018;69(2):461-511. doi:10.1016/j.jhep.2018.03.026
5. Miller MH, Agarwal K, Austin A, et al. Review article: 2014 UK consensus guidelines - hepatitis C management and direct-acting anti-viral therapy. *Aliment Pharmacol Ther.* 2014;39(12):1363-1375. doi:10.1111/apt.12764
6. Davis GL, Esteban-Mur R, Rustgi V, et al. Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin for the treatment of relapse of chronic hepatitis C. International Hepatitis Interventional Therapy Group. *N Engl J Med.* 1998;339(21):1493-1499. doi:10.1056/NEJM199811193392102
7. Manns MP, McHutchison JG, Gordon SC, et al. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial. *Lancet.* 2001;358(9286):958-965. doi:10.1016/s0140-6736(01)06102-5
8. Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR, et al. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med.* 2002;347(13):975-982. doi:10.1056/NEJMoa020047
9. Hadziyannis SJ, Sette H Jr, Morgan TR, et al. Peginterferon-alpha2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose. *Ann Intern Med.* 2004;140(5):346-355. doi:10.7326/0003-4819-140-5-200403020-00010
10. Orlent H, Deltenre P, Francque S, et al. Update of the Belgian Association for the Study of the Liver guidelines for the treatment of chronic hepatitis C genotype 1 with protease inhibitors. *Acta Gastroenterol Belg.* 2012;75(2):245-259.
11. Halfon P, Bourlière M, Pénaranda G, Khiri H, Ouzan D. Real-time PCR assays for hepatitis C virus (HCV) RNA quantitation are adequate for clinical management of patients with chronic HCV infection. *J Clin Microbiol.* 2006;44(7):2507-2511. doi:10.1128/JCM.00163-06
12. Kowdley KV, Nelson DR, Lalezari JP, et al. On-treatment HCV RNA as a predictor of sustained virological response in HCV genotype 3-infected patients treated with daclatasvir and sofosbuvir. *Liver Int.* 2016;36(11):1611-1618. doi:10.1111/liv.13165
13. Yoshida EM, Sulkowski MS, Gane EJ, et al. Concordance of sustained virological response 4, 12, and 24 weeks post-treatment with sofosbuvir-containing regimens for hepatitis C virus. *Hepatology.* 2015;61(1):41-45. doi:10.1002/hep.27366
14. WHO Guidelines on Hepatitis B and C Testing. World Health Organization (WHO); 2017. <https://www.who.int/publications/i/item/9789241549981>
15. Saldanha J, Heath A, Aberham C, et al. World Health Organization collaborative study to establish a replacement WHO international standard for hepatitis C virus RNA nucleic acid amplification technology assays. *Vox Sang.* 2005;88(3):202-204. doi:10.1111/j.1423-0410.2005.00606.x

ASSISTANCE TECHNIQUE

Pour obtenir une assistance technique, appeler le Service Clients Abbott au 1-800-553-7042 (aux États-Unis) ou au +49-6122-580 (en dehors des États-Unis), ou consulter le site internet d'Abbott à l'adresse suivante : www.molecular.abbott.

RESUME DES CARACTERISTIQUES DE SECURITE ET DES PERFORMANCES

Un résumé des caractéristiques de sécurité et des performances (RCSP) de ce dispositif est disponible sur <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>. Il s'agit du lieu de stockage des RCSP suite au lancement de la base de données européenne sur les

dispositifs médicaux. La recherche d'un dispositif s'effectue à l'aide de l'identifiant IUD-ID fourni sur l'emballage extérieur du dispositif.

Abbott RealTime HCV est importé dans l'Union européenne par Abbott Diagnostics GmbH, implantée Max-Planck-Ring 2, 65205 Wiesbaden, Germany



Abbott Molecular Inc.
1300 East Touhy Avenue
Des Plaines, IL 60018 USA



Abbott GmbH
Max-Planck-Ring 2
65205 Wiesbaden, Germany

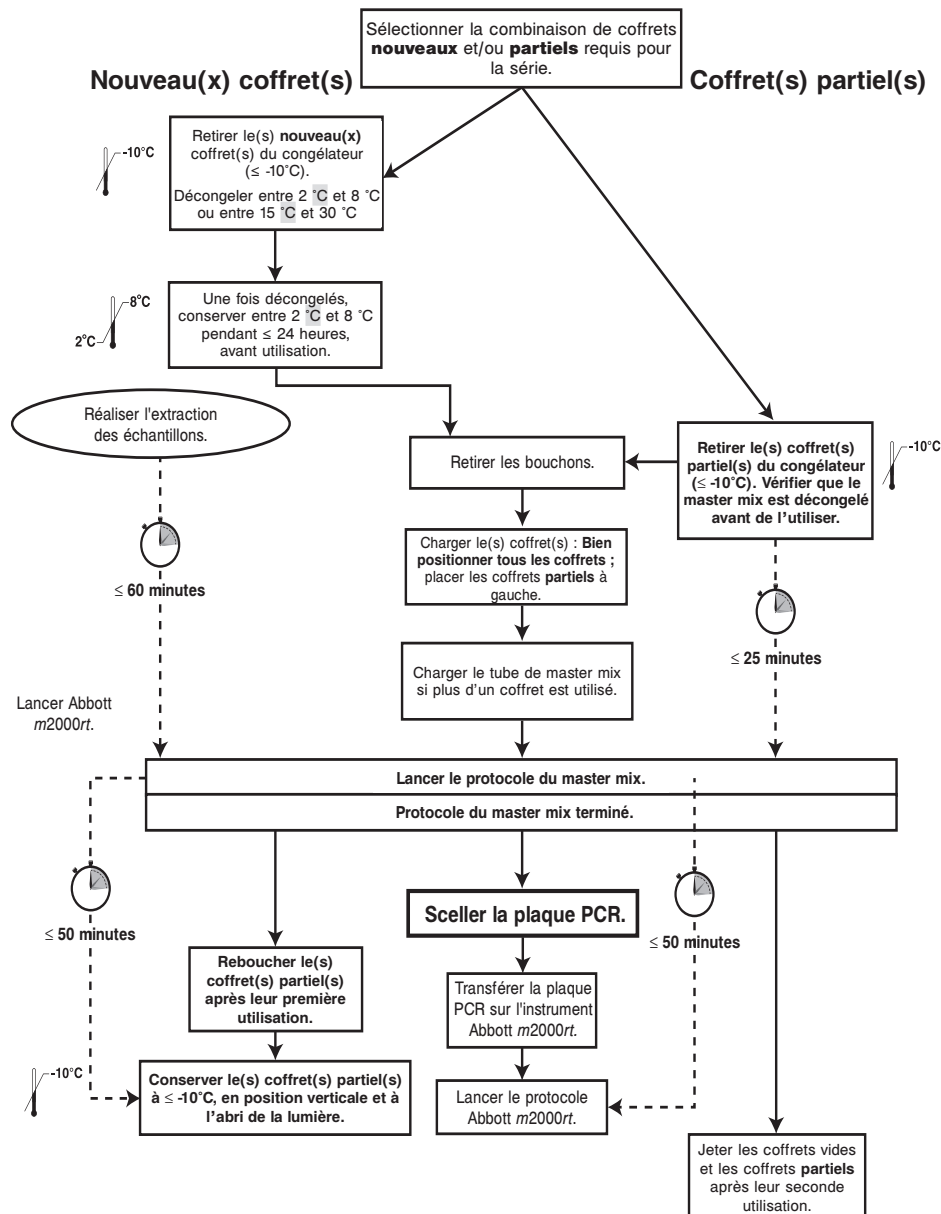
© 2020, 2024 Abbott. Tous droits réservés.
51-608440/R3
Août 2024

ANNEXE 1. DESCRIPTION DE L'OPTION D'UTILISATION PROLONGEE DES REACTIFS D'AMPLIFICATION ABBOTT REALTIME HCV

L'option d'utilisation prolongée des réactifs d'amplification permet d'utiliser un coffret-réactifs d'amplification et un contrôle interne (CI) 2 fois en tout. Les coffrets-réactifs d'amplification qui n'ont pas encore été utilisés pour préparer le master mix sont appelés **nouveaux** coffrets-réactifs d'amplification. Les coffrets-réactifs d'amplification qui ont été utilisés une fois et contenant du master mix préparé sont appelés coffrets-réactifs d'amplification **partiels**. Pour de plus amples détails, se reporter aux instructions fournies dans ce manuel.

Conditions de conservation (coffret-réactifs d'amplification et flacons de contrôle interne)		
Type de coffret	Température de conservation	Durée de conservation
Nouveaux coffrets	Température inférieure ou égale à -10 °C	Jusqu'à la date figurant sur l'étiquette
Nouveau CI	Température inférieure ou égale à -10 °C	Jusqu'à la date figurant sur l'étiquette
Coffrets partiels	Température inférieure ou égale à -10 °C (à l'abri de la lumière)	Jusqu'à 14 jours après la première utilisation
CI partiel	Température inférieure ou égale à -10 °C	Jusqu'à 14 jours après la première utilisation

- En cas d'utilisation d'UNG pour la procédure de contrôle de la contamination, se reporter aux étapes 25 et 32 du protocole de test pour obtenir des instructions spécifiques.



- Les coffrets-réactifs d'amplification qui sont compatibles avec une utilisation prolongée doivent comporter un numéro de série à 6 chiffres au-dessus du code-barres.
- Les coffrets-réactifs d'amplification **partiels** ne peuvent être utilisés une seconde fois que sur le même instrument que celui utilisé lors de la première utilisation. S'ils sont utilisés sur un instrument différent, cela entraînera une erreur de traitement qui peut retarder la série.
- Les coffrets-réactifs d'amplification **partiels** et **nouveaux** peuvent être utilisés ensemble. Tous les coffrets-réactifs d'amplification utilisés sur l'instrument pour une série doivent avoir le même numéro de lot.

Abbott RealTime HCV

Suplemento para muestras de sangre seca (DBS)

es

GTIN

REF

04J86-010

IVD

51-608440/R3

REF 04J86-010

51-608440/R3

NOTA: consulte las modificaciones marcadas

Símbolos utilizados

	Código GTIN, número mundial de identificación del artículo
	Número de referencia
	Producto sanitario para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Tiempo máximo permitido
	Límite superior de temperatura
	Límite de temperatura
	Representante autorizado en la Comunidad Europea/Unión Europea
	Fabricante

ATENCIÓN AL CLIENTE INTERNACIONAL: PÓNGASE EN CONTACTO CON SU REPRESENTANTE DE ABBOTT

Lea atentamente estas instrucciones antes de utilizar el producto. Siga las instrucciones de uso aquí detalladas. No se puede garantizar la fiabilidad de los resultados del ensayo si no se siguen exactamente las instrucciones indicadas.

Estas instrucciones de uso son un suplemento a las instrucciones del ensayo de Abbott RealTime HCV (n.º de referencia: 4J86), específicas para el tipo de muestra de sangre seca (DBS).

AVISO AL USUARIO

Si se produjera un incidente grave relacionado con este producto, el incidente debe comunicarse al fabricante y a las autoridades competentes del estado miembro en el que se encuentre el usuario o el paciente. Para informar al fabricante, consulte la información de contacto suministrada en el apartado de [Servicio de atención al cliente](#) o Asistencia técnica de estas instrucciones de uso.

NOMBRE

Abbott RealTime HCV

FINALIDAD DE USO PARA DBS

El ensayo Abbott RealTime HCV es un ensayo *in vitro* de la reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR) para la determinación cuantitativa de RNA del virus de la hepatitis C (RNA del VHC) en tarjetas sobre las que se ha extendido sangre en forma de muestras de sangre seca (DBS) (es decir, obtenidas mediante venopunción o sangre capilar) de individuos infectados con el VHC. El ensayo Abbott RealTime HCV está diseñado para su uso como ayuda en el tratamiento de pacientes infectados por el VHC que se someten a terapia antiviral. El ensayo Abbott RealTime HCV no se debe utilizar para el cribado de VHC en donantes de sangre, suero, plasma o tejido, ni se puede utilizar como ensayo diagnóstico para confirmar la presencia de infección por el VHC.

USUARIO PREVISTO

Los usuarios previstos para el ensayo Abbott RealTime HCV son profesionales del laboratorio.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN DEL ENSAYO

El virus de la hepatitis C (VHC) es una de las principales causas de la enfermedad hepática. Se ha calculado que alrededor del 1,1 % de la población está infectada de forma crónica por el virus de la hepatitis C¹ y que al año mueren, aproximadamente, 700 000 personas por enfermedades hepáticas relacionadas con la hepatitis C². El VHC es un virus con RNA de cadena positiva y se transmite principalmente por el consumo de drogas inyectables y hemoderivados. Entre el 55 y el 85 % de los individuos infectados por el VHC desarrollan hepatitis crónica, y hasta el 30 % de los enfermos crónicos desarrollan cirrosis.¹ La incidencia del carcinoma hepatocelular en los pacientes con cirrosis es del 2 al 4 % anual.¹

Se ha demostrado que la medición cuantitativa del nivel de RNA del VHC en sangre periférica es un parámetro esencial para la gestión de varias terapias contra el VHC.⁶⁻¹³ Con la aparición de terapias con antivirales de acción directa, se ha avanzado de manera significativa en el tratamiento de la infección por el VHC. El objetivo de las terapias contra el VHC es lograr una respuesta virológica sostenida (RVS) que se manifiesta como la ausencia continua de RNA del VHC detectable.²⁻⁵ Se han utilizado mediciones de la carga viral del VHC para individualizar la duración del tratamiento y de la terapia de respuesta guiada, o para determinar y predecir la respuesta virológica sostenida o no sostenida de la terapia antiviral.²⁻⁵

La mayor parte de los casos de VHC en el mundo se dan en los países de ingresos bajos o medios (PIBM).¹⁴ La identificación de los pacientes con una infección activa por VHC es muy limitada en estas zonas con recursos limitados. La recogida de sangre en forma de muestras de sangre seca (DBS) puede utilizarse como alternativa a los ensayos para RNA del VHC en suero o plasma. La DBS representa una opción viable que elimina muchas limitaciones logísticas y técnicas relacionadas con la recogida, el procesamiento, el almacenamiento y el envío del suero o el plasma. Las directrices de la Organización Mundial de la Salud (OMS) para la detección de la hepatitis C incluyen recomendaciones para el uso de DBS en los ensayos virológicos del VHC en áreas con recursos limitados.¹⁴

El ensayo Abbott RealTime HCV para DBS utiliza la tecnología de la reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR) combinada con una detección fluorescente homogénea en tiempo real para la determinación cuantitativa de RNA del HCV en DBS. La selección de una región conservada del genoma del HCV permite detectar los genotipos 1 a 6. El ensayo ha sido estandarizado frente al segundo patrón internacional de la OMS para el RNA del virus de la hepatitis C (código NIBSC: 96/798)¹⁵ y los resultados se han comunicado en unidades internacionales/ml (UI/ml) o en su forma logarítmica equivalente en base 10.

PRINCIPIOS BIOLÓGICOS DEL PROCEDIMIENTO

El ensayo Abbott RealTime HCV para DBS utiliza 3 envases de reactivos:

- Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit
- Abbott RealTime HCV Control Kit
- Abbott RealTime HCV Calibrator Kit

El ensayo Abbott RealTime HCV para DBS utiliza la RT-PCR para generar producto amplificado del genoma del RNA del VHC en especímenes de DBS humana. Los pasos del ensayo Abbott RealTime HCV para DBS consisten en el tratamiento previo al análisis de la DBS, la preparación de la muestra, el montaje de la RT-PCR, la amplificación, la detección y la comunicación de los resultados. El tratamiento previo al análisis de la DBS se realiza con el Abbott mSample Preparation System DBS Buffer Kit antes de cargar el espécimen en el sistema Abbott m2000sp. Después del tratamiento preanalítico de la DBS, los sistemas Abbott m2000sp y Abbott m2000rt ejecutan todos los pasos siguientes de forma automática.

Consulte las instrucciones de uso del ensayo Abbott RealTime HCV (n.º de referencia: 4J86) para obtener más información sobre la preparación de las muestras, el montaje de la RT-PCR, la amplificación y la detección.

USO AMPLIADO DE LOS REACTIVOS DE AMPLIFICACIÓN

La función opcional de uso ampliado de los reactivos de amplificación permite utilizar 2 veces los envases de reactivos de amplificación y el control interno (CI). Los envases de reactivos de amplificación que contienen mezcla preparada pueden conservarse a una temperatura igual o inferior a -10 °C, tapados y protegidos de la luz, durante un máximo de 14 días antes del segundo uso. El control interno (CI) se puede almacenar tapado a una temperatura igual o inferior a -10 °C durante un máximo de 14 días antes del segundo uso. El segundo uso no debe superar la fecha de caducidad del reactivo.

En el Apéndice 1 de estas instrucciones de uso se proporciona una descripción general de esta función.

En estas instrucciones de uso, los envases de reactivos de amplificación y el CI que no se hayan utilizado aún se denominarán envases de reactivos de amplificación y CI nuevos (es decir, primer uso). Los envases de reactivos de amplificación que se hayan utilizado una vez y contengan mezcla preparada se denominarán envases de reactivos de amplificación parciales. Los viales de CI que se hayan utilizado una vez se denominarán viales de CI parciales.

PREVENCIÓN DE LA CONTAMINACIÓN POR ÁCIDO NUCLEICO

Consulte las instrucciones de uso del ensayo Abbott RealTime HCV (n.º de referencia: 4J86).

REACTIVOS

Consulte las instrucciones de uso del ensayo Abbott RealTime HCV (n.º de referencia: 4J86).

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

IVD

Para uso diagnóstico *in vitro*

El ensayo Abbott RealTime HCV para DBS no se debe utilizar para la cribado de VHC en donantes de sangre, suero, plasma o tejido, ni se puede utilizar como ensayo diagnóstico para confirmar la presencia de infección por el VHC.

PRECAUCIONES DE SEGURIDAD

Consulte las instrucciones de uso del ensayo Abbott RealTime HCV (n.º de referencia: 4J86). El ensayo Abbott RealTime HCV para DBS solo se puede utilizar en los sistemas Abbott m2000sp y Abbott m2000rt.

PRECAUCIONES ESPECIALES

Precauciones de manejo para especímenes de DBS

El ensayo Abbott RealTime HCV para DBS solo se debe utilizar con especímenes de sangre o DBS que se hayan manejado y conservado como se describe en el apartado **RECOGIDA, ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE DE ESPECÍMENES AL LABORATORIO**.

Consulte las instrucciones de uso del ensayo Abbott RealTime HCV (n.º de referencia: 4J86).

Precauciones de manejo específicas para DBS:

- Asegúrese de que las tarjetas para DBS estén completamente secas antes de almacenarlas en bolsas con desecantes. Si la extensión, el secado, el almacenamiento y el manejo de la DBS no son adecuados, los resultados del ensayo podrían no ser precisos.
- Para evitar la contaminación cruzada, utilice una punta de pipeta nueva para cada muestra de DBS al extraer el círculo de la tarjeta para DBS perforada. Si se utiliza una tarjeta para DBS no perforada, asegúrese de que la herramienta utilizada para cortar el punto esté descontaminada antes y después del contacto con la muestra de DBS.

Áreas de trabajo

Se recomienda utilizar únicamente 2 áreas para uso exclusivo, el área de preparación de muestras y el área de amplificación, cuando utilice los sistemas Abbott m2000sp y Abbott m2000rt.

Consulte las instrucciones de uso del ensayo Abbott RealTime HCV (n.º de referencia: 4J86).

Contaminación por aerosoles

Consulte las instrucciones de uso del ensayo Abbott RealTime HCV (n.º de referencia: 4J86).

Contaminación e inhibición

Consulte las instrucciones de uso del ensayo Abbott RealTime HCV (n.º de referencia: 4J86).

Contaminación por producto amplificado externo que contiene dU

Los laboratorios que utilicen o hayan utilizado ensayos de amplificación del VHC que incluyan el procesamiento del producto amplificado tras la PCR pueden estar contaminados con producto amplificado que contenga dU. Esta contaminación puede provocar la obtención de resultados inexactos con el ensayo Abbott RealTime en muestras de DBS. Consulte el apartado **Seguimiento del laboratorio para comprobar la presencia de contaminación** de las instrucciones de uso del ensayo de Abbott RealTime HCV (n.º de referencia: 4J86). Cuando los controles negativos sean persistentemente reactivos o haya podido producirse contaminación con producto amplificado de VHC que contenga dU, se recomienda que el laboratorio utilice el procedimiento de control de contaminación con Uracilo-N-glucosilasa (UNG) si la descontaminación del laboratorio no resulta satisfactoria.

INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit (n.º de referencia: 4J86-90)



- Los envases de reactivo de amplificación Abbott RealTime HCV y los viales de CI Abbott RealTime HCV **nuevos y parciales** deben almacenarse a una temperatura igual o inferior a -10 °C cuando no se utilicen. Se debe tener cuidado de separar el envase de reactivo de amplificación Abbott RealTime HCV que se esté utilizando para que no entre en contacto directo con muestras, calibradores y controles.
- Los envases de reactivos de amplificación y el control interno **parciales** deben almacenarse a una temperatura igual o inferior a -10 °C, tapados, en posición vertical y protegidos de la luz, después del primer uso. Si se almacenan de esta forma, los envases de reactivos de amplificación **parciales** con mezcla preparada pueden utilizarse una segunda vez en un plazo de 14 días desde el primer uso. El CI también se puede utilizar una segunda vez en un plazo de 14 días a partir de su descongelación si se almacena tapado a una temperatura igual o inferior a -10 °C. Después de 2 usos, los envases de reactivos de amplificación y el control interno deben desecharse. El segundo uso no debe superar la fecha de caducidad del reactivo.

Abbott RealTime HCV Control Kit (n.º de referencia: 4J86-80)



- Los controles positivos y negativos Abbott RealTime HCV deben almacenarse a una temperatura igual o inferior a -10 °C.

Abbott RealTime HCV Calibrator Kit (n.º de referencia: 4J86-70)



- Los calibradores A y B Abbott RealTime HCV deben almacenarse a una temperatura igual o inferior a -10 °C.

CONDICIONES DE ENVÍO

Consulte las instrucciones de uso del ensayo Abbott RealTime HCV (n.º de referencia: 4J86).

INDICACIONES DE INESTABILIDAD O DETERIORO DE LOS REACTIVOS

Consulte las instrucciones de uso del ensayo Abbott RealTime HCV (n.º de referencia: 4J86).

PROCEDIMIENTO DEL INSTRUMENTO

Antes de realizar el ensayo, se debe instalar el fichero de aplicaciones de Abbott RealTime HCV para DBS en los sistemas Abbott m2000sp y Abbott m2000rt desde el Abbott RealTime HCV m2000 ROW System Combined Application CD-ROM (CD-ROM de aplicaciones combinadas del sistema m2000, internacional excepto para EE. UU. (n.º de referencia: 01L69-040 o siguientes). Para obtener información detallada sobre la instalación del fichero de aplicaciones, consulte la sección Instrucciones de funcionamiento del Manual de funcionamiento de los sistemas Abbott m2000sp y Abbott m2000rt.

RECOGIDA, ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE DE ESPECÍMENES AL LABORATORIO

Recogida y almacenamiento de especímenes

- Para preparar la muestra de DBS, utilice un sistema de punción digital

- o sangre con EDTA. La sangre con EDTA debe conservarse a una temperatura controlada durante el almacenamiento y el envío (de 2 °C a 8 °C durante un máximo de 48 horas o a una temperatura ambiente que no supere los 30 °C durante un máximo de 24 horas).
- Antes de extender la sangre recogida en un tubo con EDTA mezcle bien invirtiendo el tubo suavemente. Extienda la sangre sobre los círculos de media pulgada (12 milímetros) de la tarjeta de papel Ahlstrom-Munktel TFN o Whatman 903 y asegúrese de que se cubre todo el círculo. Se recomienda utilizar por lo menos 70 µl de sangre (aproximadamente, de 3 a 5 gotas de sangre) en cada círculo para asegurar la cobertura completa.
 - Seque la tarjeta al aire a temperatura ambiente durante un mínimo de 3 horas. Introduzca cada tarjeta en una bolsa sellable con envases de desecante (como mínimo, de 2 a 3 envases de desecante).
 - Las tarjetas de DBS se pueden almacenar según las condiciones especificadas en la tabla siguiente antes del procesamiento del ensayo.

Almacenamiento de tarjetas de especímenes de DBS

Condiciones	Tiempo máximo de almacenamiento
De 2 °C a 30 °C con humedad ambiente	18 semanas
≤ 37 °C con humedad ambiente	12 semanas
≤ 45 °C con humedad ambiente	8 semanas
≤ 38 °C con humedad elevada (≤ 85 %)	4 semanas
De -25 °C a -15 °C con humedad ambiente	18 semanas
-70 °C o inferior con humedad ambiente	18 semanas

Transporte de especímenes

Envíe los especímenes de acuerdo con la temperatura y el tiempo de almacenamiento recomendados indicados en el apartado **Recogida y almacenamiento de especímenes** anterior. Para envíos nacionales e internacionales, los especímenes se deben envasar y etiquetar de acuerdo con las normas estatales, federales e internacionales aplicables sobre transporte de especímenes clínicos, diagnósticos o biológicos.

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO ABBOTT REALTIME HCV PARA DBS

Materiales necesarios pero no suministrados

- Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit (reactivo de amplificación, n.º de referencia: 4J86-90)
- Abbott RealTime HCV Calibrator Kit (calibrador, n.º de referencia: 4J86-70)
- Abbott RealTime HCV Control Kit (control, n.º de referencia: 4J86-80)

Para el área de preparación de la muestra con el instrumento Abbott m2000sp

- Abbott mSample Preparation System DBS Buffer Kit (tampón para DBS del sistema de preparación de muestras, n.º de referencia: 09N02-001)
- Instrumento Abbott m2000sp (n.º de referencia: 09K14-01, 09K14-02)
- Abbott mSample Preparation System (4 × 24 preparaciones) (sistema de preparación de muestras, n.º de referencia: 04J70-24)
- Pipetas de precisión calibradas para dispensar de 20 a 1000 µl (si se utiliza UNG, se necesitan pipetas de precisión calibradas para dispensar < 20 µl)
- Puntas de pipeta con filtro antiaerosoles para pipetas de 20 a 1000 µl (si se utiliza UNG, se necesitan puntas de pipeta con filtro antiaerosoles para pipetas de < 20 µl)
- Agitador tipo Vortex
- Tubos de mezcla (n.º de referencia: 04J71-80)
- Abbott 96-Deep-Well Plate (placa de 96 pocillos profundos, n.º de referencia: 04J71-30)
- Tubos de reacción de 5 ml (n.º de referencia: 04J71-20)
- Recipientes de reactivo de 200 ml (n.º de referencia: 04J71-60)
- Abbott 96-Well Optical Reaction Plate (placa de reacción óptica de 96 pocillos, n.º de referencia: 04J71-70)
- Abbott Optical Adhesive Covers (cubiertas adhesivas óptica, n.º de referencia: 04J71-75)
- Abbott Adhesive Cover Applicators (aplicadores para la cubierta adhesiva, n.º de referencia: 9K32-01)
- Abbott Splash-Free Support Base (base de soporte para placas, n.º de referencia: 9K31-01)

- Abbott RealTime HCV m2000 ROW System Combined Application CD-ROM (CD-ROM de aplicaciones combinadas del sistema m2000, internacional excepto para EE. UU. (n.º de referencia: 01L69-040 o siguientes).
- Conjunto de DBS-PoST (muestras de sangre seca) 13 mm para el sistema m2000 (n.º de referencia: 09N03-001)
- Tapones de 15 mm para micro viales de 1,4 ml (n.º de referencia: 03N20-01), opcionales
- Uracilo-N-glucosilasa (UNG)^a (n.º de referencia: 6L87-02)

^a En caso necesario, según el apartado **Contaminación por producto amplificado externo que contiene dU** de estas instrucciones de uso.

Para el área de amplificación del instrumento Abbott m2000rt

- Instrumento Abbott m2000rt (n.º de referencia: 9K15-01)
- Abbott RealTime HCV m2000 ROW System Combined Application CD-ROM (CD-ROM de aplicaciones combinadas del sistema m2000, internacional excepto para EE. UU., n.º de referencia: 01L69-040 o siguientes)
- Abbott m2000rt Optical Calibration Kit (equipo de calibración óptica, n.º de referencia: 04J71-93)

Otros materiales

- Cabina de seguridad biológica aprobada para trabajar con materiales infecciosos
- Bolsa sellable para tarjeta para DBS
- Envase de desecante para tarjeta para DBS
- Tarjeta de papel Ahlstrom-Munktel TFN o Whatman 903
- Bolsa de plástico sellable para desechar placas de reacción de 96 pocillos
- Agua sin RNAsas (Eppendorf o equivalente)^b
- Tubos para microcentrífuga de 1,7 ml aptos para biología molecular (Dot Scientific, Inc. o equivalente)^b
- Aplicadores con punta de algodón (Puritan o equivalente)^b

^bNota: estos 3 elementos se utilizan en el procedimiento de Seguimiento del laboratorio para comprobar la presencia de contaminación. Consulte el apartado **PROCEDIMIENTOS DE CONTROL DE CALIDAD** en las instrucciones de uso del ensayo Abbott RealTime HCV (n.º de referencia: 4J86).

Precauciones del procedimiento

- Lea atentamente estas instrucciones de uso antes de procesar los especímenes.
- Los reactivos de amplificación y el control interno pueden utilizarse hasta 2 veces, como se describe en estas instrucciones de uso. Los viales de los calibradores, el control negativo, el control positivo bajo y el control positivo alto de Abbott RealTime HCV son de un solo uso y deben desecharse después de su uso.
- Las puntas de pipeta con filtro antiaerosoles o la pipetas desechables solo deben utilizarse una vez cuando pipetee los especímenes o el CI. Para evitar la contaminación del cilindro de la pipeta durante el pipeteo, tenga cuidado de no tocar el interior del tubo ni del recipiente de muestras con el cilindro de la pipeta. Se recomienda el uso de puntas de pipeta alargadas con filtro antiaerosoles.
- Los procedimientos de monitorización de la presencia de producto de amplificación se pueden consultar en el apartado **PROCEDIMIENTOS DE CONTROL DE CALIDAD**.
- Para reducir el riesgo de contaminación por ácido nucleico, limpie y desinfecte las salpicaduras de los especímenes con un desinfectante tuberculicida, como hipoclorito de sodio al 1,0 % u otro desinfectante adecuado.
- Los calibradores y los controles de Abbott RealTime HCV se deben preparar junto con los especímenes que se van a analizar. El uso de los calibradores y controles de Abbott RealTime HCV es esencial para el rendimiento del ensayo Abbott RealTime HCV. Consulte el apartado **PROCEDIMIENTOS DE CONTROL DE CALIDAD**.
- El protocolo de adición de la muestra Abbott m2000sp debe iniciarse en el plazo de 1 hora después de finalizar la preparación de la muestra.
- Si se suspende el protocolo de adición de la muestra Abbott m2000sp, deseche los reactivos de amplificación que se estaban utilizando por segunda vez. Los nuevos envases de reactivo que se utilicen por primera vez se pueden guardar y almacenar para su uso posterior, tal y como se describe en este manual.
- El protocolo Abbott m2000rt debe iniciarse en un plazo de 50 minutos desde el inicio del protocolo de adición de la muestra.

Si el procesamiento en el instrumento Abbott *m2000rt* no se inicia antes de que transcurran 50 minutos o si éste se interrumpe o se suspende, deseche la placa de reacción óptica de 96 pocillos de Abbott en una bolsa de plástico sellable de acuerdo con lo descrito en el Manual de funcionamiento del sistema Abbott *m2000rt*, junto con los guantes que haya utilizado para manejar la placa.

IMPORTANTE: los reactivos de amplificación que se vayan a utilizar por segunda vez deben almacenarse a una temperatura igual o inferior a -10 °C en un plazo de 50 minutos desde el inicio del protocolo de adición de la muestra.

PROTOCOLO DEL ENSAYO: MUESTRAS DE DBS CON LOS SISTEMAS ABBOTT *m2000sp* Y ABBOTT *m2000rt*

Para obtener una descripción detallada de cómo realizar un protocolo con los sistemas Abbott *m2000sp* y Abbott *m2000rt*, consulte la sección Instrucciones de funcionamiento del Manual de funcionamiento de los sistemas Abbott *m2000sp* y Abbott *m2000rt*. Para realizar el protocolo de DBS se necesita la versión 6.0 o superiores de software del sistema Abbott *m2000sp*. Siga las instrucciones del Manual de funcionamiento de Abbott *m2000sp* (n.º de referencia: 09K20 versión 6 o superiores). Se puede analizar un total de 96 especímenes en cada procesamiento. En cada procesamiento se debe incluir un control negativo, un control positivo bajo y un control positivo alto Abbott RealTime HCV, por lo que sólo se pueden analizar un máximo de 93 especímenes de sangre seca en cada procesamiento cuando no se incluyen los calibradores. Procese los calibradores y los controles directamente como muestras líquidas; los pasos del 1 al 5 son solo para DBS. No procese especímenes de plasma o suero en ningún procesamiento en el que se utilice el protocolo para DBS. Se debe utilizar un único tubo de mezcla Abbott por muestra de DBS durante todo el procedimiento de procesamiento de muestras. Asegúrese de que las muestras de DBS estén etiquetadas durante todo el procesamiento.

1. Llene el tubo de mezcla Abbott con 1,3 ml de tampón *mDBS* del Abbott *mSample Preparation System DBS Buffer Kit* (n.º de referencia: 09N02-001).

NOTA: no utilice tampón *mLysis* ni ningún otro reactivo para este paso.

2. Sostenga la tarjeta para DBS de papel perforada por encima del tubo de mezcla Abbott.
3. Extraiga el círculo de DBS de la tarjeta con una punta de pipeta limpia; utilice 1 círculo de DBS por tubo de mezcla de Abbott. Cada DBS debe tener un diámetro de, aproximadamente, una media pulgada (12 milímetros).

NOTA: UTILICE UNA PUNTA DE PIPETA NUEVA PARA CADA MUESTRA DE DBS PARA EVITAR LA CONTAMINACIÓN CRUZADA.

También puede utilizar un papel para DBS no perforado y cortar 1 DBS entera (aproximadamente media pulgada de diámetro) para cada espécimen y transferir a un tubo de mezcla de Abbott.

NOTA: evite el contacto directo de la superficie de corte con el espécimen de DBS. Si es necesario, descontamine la herramienta utilizada para cortar el círculo de DBS entre los especímenes, de acuerdo con las buenas prácticas de laboratorio.

4. Asegúrese de que el círculo de DBS esté completamente sumergido en tampón *mDBS* golpeando suavemente el tubo o introduciendo el círculo de DBS en el tampón con la punta de la pipeta.

NOTA: si se utiliza una punta de pipeta para introducir el círculo de DBS en el tampón, asegúrese de que la punta de la pipeta no provoque la pérdida de volumen del tampón DBS por la contención de líquidos en la punta o la absorción del tampón por el filtro de la punta.

5. Agite o gire manualmente los tubos de muestra. No mezcle las muestras con un agitador tipo Vortex. Incube durante 30 minutos (± 2 minutos) a temperatura ambiente.
6. Mientras tanto, descongele los controles de ensayo y el control interno (CI) a una temperatura entre 15 °C y 30 °C o entre 2 °C y 8 °C. Descongele los calibradores a una temperatura entre 15 °C y 30 °C o entre 2 °C y 8 °C, solo si va a realizar un procedimiento de calibración.

NOTA: una vez descongelados, los controles de ensayo, el CI y los calibradores se pueden almacenar a una temperatura entre 2 °C a 8 °C durante un máximo de 24 horas antes de su uso.

7. Mezcle con un agitador tipo Vortex cada calibrador de ensayo y cada control 3 veces de 2 a 3 segundos antes de su uso. Asegúrese de que el contenido de cada vial está en el fondo dando unos golpecitos sobre la mesa de trabajo para que el líquido se desplace al fondo del vial. Asegúrese de que no se formen burbujas ni espuma; si hubiera, retírelas con una punta de pipeta estéril nueva para cada vial.

8. Descongele los reactivos de amplificación a una temperatura entre 15 °C y 30 °C o entre 2 °C y 8 °C, y almacénelos entre 2 °C y 8 °C hasta que se necesiten para el procedimiento de amplificación de la mezcla.
9. Seleccione los envases de reactivos de amplificación **nuevos** o **parciales** que se van a utilizar en el procesamiento. Consulte la sección Instrucciones de funcionamiento del Manual de funcionamiento de Abbott *m2000sp* (n.º de referencia: 09K20 versión 6 o siguientes) para obtener información sobre la gestión de inventario de los envases de reactivos de amplificación. Los envases de reactivos de amplificación deben tener el mismo número de lote. Descongele los reactivos de amplificación **nuevos** a una temperatura entre 15 °C y 30 °C o entre 2 °C y 8 °C, y almacénelos entre 2 °C y 8 °C hasta que se necesiten para el procedimiento de amplificación de la muestra.

NOTA: una vez descongelados, los reactivos de amplificación nuevos se pueden almacenar entre 2 °C y 8 °C durante un máximo de 24 horas si no se utilizan inmediatamente. Los envases de reactivos de amplificación parciales que se utilicen por segunda vez NO deben almacenarse a una temperatura entre 2 °C y 8 °C antes de su uso. Se deben conservar a una temperatura igual o inferior a -10 °C hasta que se necesiten para la adición de la mezcla. Una vez que se extraen del congelador, la exposición a temperatura ambiente acumulada no debe superar los 25 minutos, incluyendo los casos en los que los envases se retiran del almacenamiento pero no se utilizan. Si se superan los 25 minutos, deseche los envases de reactivos de amplificación parciales.

En la siguiente tabla se muestra el número de reactivos de preparación de muestras y viales de control interno necesarios en función del número de reacciones.

Reactivos de preparación de muestras y de control interno necesarios

Reactivo	De 1 a 24 reacciones	De 25 a 48 reacciones	De 49 a 72 reacciones	De 73 a 96 reacciones
<i>m</i> Microparticles	1 frasco	2 frascos	2 frascos	2 frascos
<i>m</i> Lysis	1 frasco	2 frascos	3 frascos	4 frascos
<i>m</i> Wash 1	1 frasco	2 frascos	3 frascos	4 frascos
<i>m</i> Wash 2	1 frasco	2 frascos	3 frascos	4 frascos
Tampón <i>m</i> Elution	1 frasco	2 frascos	3 frascos	4 frascos
Control interno ^a	1 vial nuevo o 1 vial parcial	1 vial nuevo o 2 viales parciales	2 viales nuevos o 3 viales parciales	2 viales nuevos o 4 viales parciales

^a Se pueden combinar viales de control interno nuevos y parciales.

10. Invierta suavemente los frascos de Abbott *mSample Preparation* para asegurarse de obtener una solución homogénea. Si se observan cristales en cualquiera de los frascos de reactivos al abrirllos, deje que el reactivo se equilibre a temperatura ambiente hasta que los cristales desaparezcan. No utilice los reactivos hasta que los cristales se hayan disuelto.
11. Mezcle con un agitador tipo Vortex cada CI 3 veces de 2 a 3 segundos antes de su uso.
12. Utilice una pipeta de precisión calibrada **PARA USO EXCLUSIVO DEL CONTROL INTERNO** para añadir 500 µl de CI a cada frasco de tampón *mLysis*. Mezcle invirtiendo suavemente el recipiente de 5 a 10 veces para minimizar la formación de espuma. Los viales parciales de CI se pueden volver a tapar y almacenar a una temperatura igual o inferior a -10 °C para un segundo uso.
13. Coloque los controles positivos bajo y alto, el control negativo y los calibradores, si procede, en las gradillas de muestras Abbott *m2000sp*.
14. Una vez finalizada la incubación, agite o gire manualmente los tubos de muestra de DBS y, a continuación, colóquelos en las gradillas de muestras de Abbott *m2000sp*.

NOTA: asegúrese de que las gradillas de muestras de Abbott *m2000sp* se han calibrado específicamente para el procedimiento de Abbott RealTime HCV para DBS.

15. Cargue las gradillas de muestras con cuidado para evitar salpicaduras. Si se utilizan, los códigos de barras de las etiquetas de los tubos deben estar orientados hacia la derecha para su escaneado. Asegúrese de que cada tubo está colocado de forma segura en la gradilla de muestras de forma que la parte inferior del tubo llegue al fondo de la gradilla.
16. Cargue las gradillas de muestras llenas en el sistema Abbott *m2000sp* en posiciones consecutivas, con la primera gradilla en la posición más a la derecha de la mesa de trabajo y coloque las gradillas adicionales de forma progresiva a la izquierda de la primera gradilla.

17. Coloque los tubos de reacción de 5 ml en el subsistema de gradillas de 1 ml del instrumento Abbott *m2000sp*.
18. Cargue los reactivos del Abbott *mSample Preparation System* y la placa de 96 pocillos profundos de Abbott en la mesa de trabajo del Abbott *m2000sp* como se describe en la sección Instrucciones de funcionamiento del Manual de funcionamiento del sistema Abbott *m2000sp*.
19. En la pantalla Protocol (Protocolo), seleccione el fichero de aplicaciones HCV RNA DBS. Inicie el protocolo de extracción de muestras como se describe en la sección Instrucciones de funcionamiento del Manual de funcionamiento del sistema Abbott *m2000sp*.
20. Introduzca los valores específicos del lote del calibrador (necesario si no se ha almacenado una curva de calibración en el sistema Abbott *m2000rt*) y del control en los campos de la pantalla Sample Extraction: Worktable Setup, Calibrator and Control (Extracción de muestra: configuración de la mesa de trabajo, calibrador y control). Los valores específicos del lote se especifican en las cajas de calibradores y controles Abbott *RealTime HCV*.
21. El protocolo de adición de mezcla del sistema Abbott *m2000sp* (paso 28) debe iniciarse en el plazo de 1 hora después de finalizar la preparación de la muestra.

NOTA: cámbiese los guantes antes de manejar los reactivos de amplificación.

22. Cargue los reactivos de amplificación y el tubo de mezcla (si es necesario) en la mesa de trabajo del Abbott *m2000sp* una vez finalizada la preparación de la muestra. En la siguiente tabla se muestra el número de envases de reactivos de amplificación necesarios en función del número de reacciones. Si solo se utiliza 1 envase de reactivo de amplificación, no se necesita tubo de mezcla.

Envases de reactivos de amplificación necesarios^a

De 1 a 24 reacciones	De 25 a 48 reacciones	De 49 a 72 reacciones	De 73 a 96 reacciones
1 si es nuevo; hasta 4 con envases parciales	2 si son nuevos; hasta 4 con envases parciales	3 si son nuevos; hasta 4 con envases parciales	4 envases nuevos o parciales

^a Consulte el Manual de funcionamiento del sistema Abbott *m2000sp* (n.º de referencia 09K20 versión 6 o siguientes) para obtener información sobre la gestión del inventario y determinar el número máximo de reacciones que se pueden procesar con los envases parciales seleccionados.

- Los envases de reactivos de amplificación parciales solo se pueden utilizar en el mismo instrumento Abbott *m2000sp* que se utilizó para la preparación inicial del envase de reactivo. Si se utiliza un envase de reactivo de amplificación por segunda vez en un instrumento diferente, se generará un error y se puede retrasar el procesamiento.
- Los envases de reactivos de amplificación nuevos y parciales se pueden utilizar juntos.

IMPORTANTE: los envases de los reactivos de amplificación parciales se deben almacenar a una temperatura inferior o igual a -10 °C hasta inmediatamente antes de su segundo uso. Verifique que la mezcla esté descongelada antes de cargar el envase parcial en la mesa de trabajo del sistema Abbott *m2000sp*. Una vez extraídos del almacenamiento a una temperatura igual o inferior a -10 °C, los envases de reactivos de amplificación parciales que se utilicen por segunda vez deben utilizarse en un plazo de 25 minutos o de lo contrario, se deben desechar. Esto se aplica al período máximo de tiempo de exposición a temperatura ambiente, incluidos los casos en los que los envases se extraen de su almacenamiento, pero no se usan.

23. Antes de abrirlos, asegúrese de que el contenido de los envases de reactivos de amplificación nuevos se encuentre en el fondo de los viales dando unos golpecitos a los viales en posición vertical de 5 a 10 veces sobre la mesa de trabajo.
 - No golpee los envases de reactivos de amplificación parciales que se vayan a utilizar una segunda vez. Si lo hace, se puede perder volumen de mezcla en el tapón.
24. Retire los tapones. Si se va a almacenar un envase de reactivo de amplificación nuevo para un segundo uso, es necesario volver a tapar los viales para almacenarlos. Si va a reutilizar los tapones originales para volver a tapar los viales de reactivo, guárdelos. Si tiene previsto utilizar tapones nuevos para tapar los viales de reactivo, puede desechar los tapones originales.

Si se utiliza Uracilo-N-glucosilasa (UNG) para el control de la contaminación, siga las instrucciones que se indican a continuación.

25. Utilice ÚNICAMENTE UNA PIPETA PARA USO EXCLUSIVO CON REACTIVOS para añadir el volumen especificado de 1 U/μl de UNG (n.º de referencia: 6L87-02) al vial de reactivo en la posición 3 de los envases de reactivos de amplificación nuevos y parciales. Mezcle manualmente pipeteando suavemente hacia arriba y hacia abajo en todos los envases parciales. No mezcle los envases nuevos.
 - Utilice la siguiente tabla para determinar el volumen de UNG que debe añadir al vial de reactivo en la posición 3 de los envases de reactivos de amplificación nuevos y parciales. El vial de reactivo en la posición 3 de un envase de reactivo nuevo contiene la enzima polimerasa termoestable rTth. El vial de reactivo en la posición 3 de un envase de reactivo parcial contiene la mezcla.

Volumen de UNG que se debe añadir al vial de reactivo en la posición 3 de cada envase de reactivo de amplificación

Ensayos que aún tiene el envase	Añadir este volumen de UNG (μl)
1	5
2	6
3	7
4	8
5	9
6	10
7	11
8	12
9	13
10	13
11	14
12	15
13	16
14	17
15	18
16	19
17	20
18	21
19	22
20	23
21	24
22	25
23	26
24 (envase nuevo)	27

NOTA: el volumen de UNG añadido al vial de reactivo en la posición 3 depende del número de ensayos restantes en el envase de reactivo y no del número de muestras que se estén procesando. Consulte el Manual de funcionamiento del sistema Abbott *m2000sp* para obtener información sobre la gestión del inventario de envases de reactivos de amplificación y cómo determinar el número de ensayos restantes en un envase de reactivos.

26. Los envases de amplificación parciales se cargan a la izquierda de los envases de reactivos de amplificación nuevos en la mesa de trabajo del Abbott *m2000sp*.
27. Asegúrese de que los envases de reactivos de amplificación estén bien colocados en el instrumento.
28. Seleccione la placa de pocillos profundos adecuada que coincida con la extracción de preparación de muestras correspondiente. Inicie el protocolo de adición de la muestra Abbott *m2000sp*. Siga las indicaciones de la sección Instrucciones de funcionamiento del Manual de funcionamiento de Abbott *m2000sp*.

NOTA: el usuario no debe llenar manualmente ningún pocillo vacío o sin llenar de la placa de reacción óptica de 96 pocillos de Abbott.

- Una vez finalizada la extracción de las muestras, el sistema Abbott *m2000sp* rellena automáticamente los pocillos vacíos de la placa de reacción óptica de 96 pocillos de Abbott con tampón *mElution* si se van a analizar más de 48 muestras en un procesamiento. El llenado de placas no se realiza en procesamientos de 48 muestras o menos.
- Si el sistema lo solicita, el soporte de reactivos 2 debe permanecer en su sitio, con al menos el recipiente de reactivo para el tampón *mElution* (soporte de reactivos 2, posición 6). Si este recipiente de reactivo se ha descargado, coloque un recipiente de reactivo nuevo con la etiqueta de tampón *mElution* en el soporte de reactivos 2, posición 6. Se añadirá líquido del sistema al recipiente de reactivos y se utilizará para llenar los pocillos vacíos. Una vez completado este proceso, el sistema continuará con la adición de mezcla.

NOTA: las instrucciones de uso para la función automatizada de llenado de placas se describen en el Manual de funcionamiento del sistema Abbott *m2000sp* (número de referencia 9K20, versión 6 o siguientes), sección 5, Instrucciones del funcionamiento, Extracción de muestras: modo cerrado.

- Inicie el protocolo Abbott *m2000rt* (paso 33) antes de que transcurran 50 minutos desde el inicio del protocolo de adición de la mezcla (paso 28).

NOTA: si por cualquier motivo se suspende el procesamiento después del paso 28, debe utilizarse una placa de reacción óptica de 96 pocillos de Abbott nueva si va a repetirse el protocolo de adición de la mezcla Abbott *m2000sp* (paso 28).

29. Encienda e inicie el instrumento Abbott *m2000rt* en el área de amplificación.

NOTA: el tiempo de calentamiento del Abbott *m2000rt* es de 15 minutos.

NOTA: quítese los guantes antes de volver al área de preparación de muestras.

30. Selle la placa de reacción óptica de 96 pocillos de Abbott cuando el sistema Abbott *m2000sp* haya completado la adición de muestras y la mezcla según la sección Instrucciones de funcionamiento del Manual de funcionamiento del sistema Abbott *m2000sp*.
31. Coloque la placa de reacción óptica sellada en la base de soporte para placas de Abbott para transferirla al instrumento Abbott *m2000rt*.

Si se utiliza Uracilo-N-glucosilasa (UNG), siga las instrucciones que se indican a continuación:

32. Transfiera la placa óptica sellada a la base de soporte para placas de Abbott e incube a temperatura ambiente (de 15 °C a 30 °C) durante 10 minutos. Después de la incubación a temperatura ambiente, transfiera la placa de reacción óptica de 96 pocillos de Abbott en la base de soporte para placas de Abbott al instrumento Abbott *m2000rt*.
33. Coloque la placa de reacción óptica de 96 pocillos de Abbott en el instrumento Abbott *m2000rt*. En la pantalla Protocol (Protocolo), seleccione el fichero de aplicaciones HCV RNA DBS. Inicie el protocolo como se describe en la sección Instrucciones de funcionamiento del Manual de funcionamiento del sistema Abbott *m2000rt*.

NOTA: para el traslado de la petición de análisis se recomienda utilizar el CD-ROM o la conexión de red con funciones de exportación e importación del software de los sistemas *m2000sp* y *m2000rt*. Si la petición de análisis en el sistema Abbott *m2000rt* se crea manualmente, introduzca las identificaciones de las muestras en las posiciones de la placa de PCR correspondientes según la tabla “Wells for Selected Plate” (Pocillos para la placa seleccionada), que se muestra en detalle en la pantalla “PCR Plate Results” (Resultados de la placa de PCR) del sistema Abbott *m2000sp*. Consulte la sección 5 del Manual de funcionamiento del sistema Abbott *m2000sp*.

34. Si se va a utilizar un envase de reactivo de amplificación parcial preparado por segunda vez, tape los 3 viales de reactivos con los tapones guardados o los tapones nuevos (n.º de referencia: 3N20-01) y almacene inmediatamente los reactivos a una temperatura igual o inferior a -10 °C, protegidos de la luz y en posición vertical. Deseche los envases de reactivos de amplificación que se hayan agotado o se hayan utilizado dos veces.

IMPORTANTE: los reactivos de amplificación que se vayan a utilizar por segunda vez deben almacenarse a una temperatura igual o inferior a -10 °C en un plazo de 50 minutos desde el inicio del protocolo de adición de mezcla.

PROCEDIMIENTOS DESPUÉS DEL PROCESAMIENTO

1. Retire la placa de 96 pocillos profundos de Abbott de la mesa de trabajo y deséchela de acuerdo con el Manual de funcionamiento del sistema Abbott *m2000sp*.
2. Coloque la placa de reacción óptica de 96 pocillos de Abbott en una bolsa de plástico sellable y deséchela según lo descrito en el Manual de funcionamiento del sistema Abbott *m2000rt*, junto con los guantes utilizados para manejar la placa.
3. Limpie la base de soporte para placas de Abbott antes del siguiente uso según el Manual de funcionamiento del sistema Abbott *m2000rt*.

PROCEDIMIENTOS DE CONTROL DE CALIDAD

Calibración óptica del sistema Abbott *m2000rt*

Consulte las instrucciones de uso del ensayo Abbott RealTime HCV (n.º de referencia: 4J86).

Calibración del ensayo

Consulte las instrucciones de uso del ensayo Abbott RealTime HCV (n.º de referencia: 4J86).

Para realizar ensayos de DBS con Abbott *m2000sp* y Abbott *m2000rt*: una vez se haya aceptado y almacenado una calibración de Abbott RealTime HCV, puede usarse durante 6 meses. Durante este periodo de tiempo, puede que no sea necesario calibrar de nuevo cada vez que se analicen muestras, excepto cuando:

- Se utilice un Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit con un número de lote nuevo.
- Se utilice un Abbott *mSample Preparation System* (4 x 24 preparaciones) con un número de lote nuevo.
- Se instale un nuevo fichero de aplicaciones Abbott RealTime HCV RNA DBS.

Detección de inhibición

Consulte las instrucciones de uso del ensayo Abbott RealTime HCV (n.º de referencia: 4J86).

Controles negativo y positivo

Consulte las instrucciones de uso del ensayo Abbott RealTime HCV (n.º de referencia: 4J86).

Seguimiento del laboratorio para comprobar la presencia de contaminación

Consulte las instrucciones de uso del ensayo Abbott RealTime HCV (n.º de referencia: 4J86).

RESULTADOS PARA ESPÉCIMENES DE DBS

La concentración de muestra de DBS comunicada resultante del procesamiento del protocolo de DBS del sistema Abbott *m2000rt* representa la concentración viral de VHC en el plasma del espécimen de sangre a partir de la cual se obtiene el espécimen de DBS. El sistema Abbott *m2000rt* comunica automáticamente los resultados a la estación de trabajo del Abbott *m2000rt*. Los resultados del ensayo se pueden registrar en unidades internacionales UI/ml o en log UI/ml.

Interpretación de resultados

Resultado	Interpretación
No detectado	No se ha detectado la diana
< 2,66 log UI/ml ^a	Detectada
De 2,66 a 8,00 log UI/ml	
> 8,00 log UI/ml	> ULQ ^b

^a 462 UI/ml

^b ULQ = límite superior de determinación cuantitativa

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

• PARA USO DIAGNÓSTICO *IN VITRO*

- El rendimiento óptimo de este análisis requiere la recogida, el almacenamiento y el transporte adecuados del espécimen hasta el laboratorio (consulte el apartado **RECOGIDA, ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE DE ESPÉCIMENES AL LABORATORIO** de estas instrucciones de uso).
- Los especímenes de sangre recogidos en tubos con EDTA pueden utilizarse para generar DBS que se analizan con el ensayo Abbott RealTime HCV para DBS. No se ha validado el uso de otros anticoagulantes con el ensayo Abbott RealTime HCV para DBS.
- El uso del ensayo de Abbott RealTime HCV para DBS debe limitarse a personal que haya recibido formación en los procedimientos de preparación y preprocesamiento de DBS, en ensayos de diagnóstico molecular y en el sistema Abbott *m2000*.

- Los instrumentos y los procedimientos de ensayo reducen el riesgo de contaminación por producto amplificado. Sin embargo, la contaminación por ácido nucleico de los calibradores, los controles positivos o los especímenes debe controlarse mediante las buenas prácticas de laboratorio y siguiendo cuidadosamente los procedimientos especificados en estas instrucciones de uso.
- Como ocurre con todos los ensayos de diagnóstico, los resultados del ensayo Abbott RealTime HCV para DBS se deben interpretar junto con otros análisis clínicos y de laboratorio. No se puede suponer que un espécimen con un resultado “No detectado” sea negativo para el RNA del VHC.
- Los resultados del ensayo podrían ser inexactos, si la recogida, el secado, el almacenamiento y el manejo de las tarjetas para DBS no son adecuados.
- Se pueden utilizar las tarjetas para DBS Ahlstrom-Munktel TFN y Whatman 903. No se ha validado el uso de otras tarjetas con el ensayo Abbott RealTime HCV.

CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS DEL FUNCIONAMIENTO PARA ESPECÍMENES DE DBS

Límite de detección (LD)

El LD del ensayo Abbott RealTime HCV es de 462 UI/ml con el tipo de muestra DBS. El LD se determinó analizando muestras de DBS preparadas con una serie de diluciones del patrón internacional de la OMS para el RNA del virus de la hepatitis C diluidas en sangre negativa para el VHC. Los análisis para cada concentración de RNA del VHC se realizaron con 4 lotes de reactivos de amplificación durante 3 días. Los resultados representativos del rendimiento de la sensibilidad analítica del ensayo Abbott RealTime HCV para DBS se resumen en la **Tabla 1**.

Tabla 1. Límite de detección (LD) de Abbott RealTime HCV para DBS

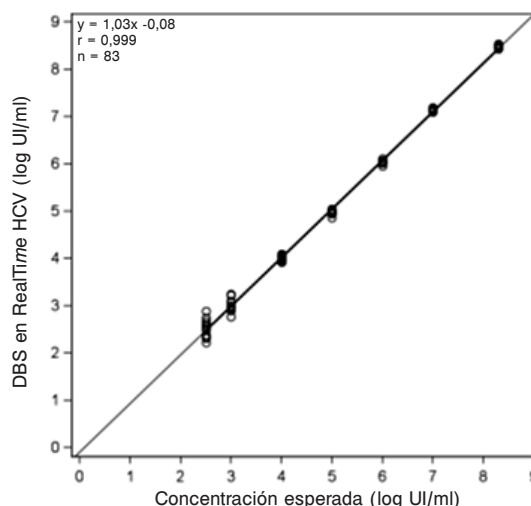
RNA del VHC (UI/ml)	Número de análisis	Número detectado	Porcentaje detectado
500	84	83	99
400	84	80	95
350	84	75	89
300	84	73	87
150	84	54	64
50	84	26	31

El análisis de los datos con el método próbit determinó que la concentración de RNA del VHC detectada en la muestra de sangre seca con una probabilidad del 95 % fue de 462 UI/ml (IC del 95 % de 381 a 593 UI/ml).

Intervalo lineal

El límite superior de determinación cuantitativa (ULQ) del ensayo Abbott RealTime HCV es de 100 millones de UI/ml y el límite inferior es equivalente al límite de detección (LD) (462 UI/ml) para muestras de sangre seca. Se preparó un panel de 7 muestras de DBS con RNA blindado (Armored RNA) del VHC diluido a concentraciones que oscilaban entre 200 millones de UI/ml y 316 UI/ml en sangre negativa para el VHC. Los resultados representativos de la linealidad del ensayo Abbott RealTime HCV para DBS se representan en la **Figura 1**.

Figura 1. Linealidad en el ensayo Abbott RealTime HCV para DBS



Se ha demostrado que el ensayo Abbott RealTime HCV para DBS es lineal en todo el intervalo de concentraciones de RNA del VHC analizadas (de 316 a 200 millones de UI/ml, de 2,5 a 8,3 log UI/ml).

Especificidad

La especificidad esperada del ensayo Abbott RealTime HCV para DBS es superior o igual al 99,5 %. Para determinar la especificidad, se analizaron 119 especímenes seronegativos para el VHC en 2 lotes de reactivos de amplificación. La especificidad total fue del 100 % (119/119).

Imprecisión

La imprecisión se evaluó analizando un panel de 6 muestras de DBS con un intervalo de concentraciones esperadas de RNA del VHC de 316 UI/ml a 200 millones de UI/ml. Las muestras del panel con concentraciones inferiores a 5 log UI/ml (100 000 UI/ml) se prepararon con un espécimen clínico positivo para el VHC diluido en sangre negativa para el VHC, mientras que las muestras del panel con concentraciones superiores a 5 log UI/ml (100 000 UI/ml) se prepararon con RNA blindado (Armored RNA) del VHC diluido en sangre negativa para el VHC. Cada muestra del panel se analizó en 5 replicados una vez al día durante 5 días, en 3 pares de Abbott m2000sp/rt con 3 lotes de reactivos de amplificación. Se determinó la desviación estándar (D.E.) intraserial, interserial e interensayo (intraserial e interserial). El ensayo Abbott RealTime HCV para DBS está diseñado para lograr una desviación estándar (D.E.) interensayo igual o inferior a 0,25 log UI/ml de RNA del VHC para muestras con concentraciones del VHC de 10 000 a 100 millones de UI/ml. Los resultados representativos de la precisión del ensayo Abbott RealTime HCV para DBS se resumen en la **Tabla 2**.

Tabla 2. Imprecisión del ensayo Abbott RealTime HCV para DBS

Muestra del panel	N	Concentración media (UI/ml)	Concentración media (log UI/ml)	Componente D.E. intraserial ^{a,e}	Componente D.E. interserial ^a	D.E. interensayo ^{a,b}	Componente D.E. entre lotes/instrumentos ^a	Total ^{c,e}
1	63 ^d	420	2,62	0,26	0,07	0,27	0,00	0,27
2	75	1 435	3,16	0,23	0,00	0,23	0,09	0,25
3	75	13 211	4,12	0,06	0,04	0,07	0,05	0,09
4	75	395 427	5,60	0,04	0,03	0,05	0,02	0,05
5	75	14 008 770	7,15	0,12	0,04	0,13	0,05	0,14
6	75	316 713 566	8,50	0,04	0,03	0,05	0,05	0,07

^a Las desviaciones estándar (D.E.) se expresan en log UI/ml.

^b La D.E. interensayo incluye los componentes intraserial e interserial.

^c Total incluye los componentes intraserial, interserial y entre lotes/instrumentos.

^d La concentración media de la muestra del panel 1 está por debajo del LLQ. Las estimaciones de imprecisión se basan en replicados cuantificados.

^e La D.E. intraserial también se conoce como repetibilidad. La D.E. total también se conoce como reproducibilidad.

La repetibilidad y reproducibilidad de la muestra del panel 1 (cerca del LLQ, límite inferior de cuantificación) fueron de 0,26 log UI/ml y 0,27 log UI/ml respectivamente, y para la muestra del panel 2 (cerca del LLQ) fueron de 0,23 log UI/ml y 0,25 log UI/ml respectivamente. La repetibilidad y reproducibilidad de la muestra del panel 5 (cerca del ULQ, límite superior de cuantificación) fueron de 0,12 log UI/ml y 0,14 log UI/ml respectivamente, y para la muestra del panel 6 (cerca del ULQ) fueron de 0,04 log UI/ml y 0,07 log UI/ml respectivamente.

Correlación

Se comparó la determinación cuantitativa de RNA del VHC entre el ensayo Abbott RealTime HCV que utiliza muestras de sangre seca y el ensayo comparativo con marcado CE Abbott RealTime HCV que utiliza plasma humano. En el análisis se incluyeron especímenes de plasma y DBS de un total de 346 individuos (recogidos y analizados en Georgia, Camerún y Grecia). Tanto las DBS preparadas a partir de sangre venosa como las preparadas con sangre capilar (punción dactilar) se analizaron con el ensayo Abbott RealTime HCV para DBS. Los resultados cuantitativos de los especímenes incluidos en los intervalos dinámicos de los ensayos se analizaron mediante el método de regresión lineal de mínimos cuadrados y el método de sesgo de Bland-Altman (DBS capilar frente a plasma N=346; DBS venosa frente a plasma N=346; DBS capilar frente a DBS venosa N=345). Para la correlación entre la DBS capilar y el plasma, el coeficiente de correlación fue de 0,843, la pendiente fue de 0,91 (IC del 95 %, de 0,85 a 0,97) y la ordenada en el origen fue de 0,48 log UI/ml

(IC del 95 %, de 0,12 a 0,84) (**Figura 2**). Para la correlación entre la DBS venosa y el plasma, el coeficiente de correlación fue de 0,840, la pendiente fue de 0,94 (IC del 95 % de 0,88 a 1,00) y la ordenada en el origen fue de 0,31 log UI/ml (IC del 95 %, de -0,07 a 0,69) (**Figura 3**). Para la correlación entre la DBS capilar y la DBS venosa, el coeficiente de correlación fue de 0,943, la pendiente fue de 0,91 (IC del 95 %, de 0,87 a 0,94) y la ordenada en el origen fue de 0,53 log UI/ml (IC del 95 %, de 0,33 a 0,72) (**Figura 4**). Además, los gráficos de Bland-Altman de estas comparaciones se presentan en la **Figura 5**, **Figura 6** y **Figura 7**. La diferencia del sesgo medio entre la DBS capilar y el plasma fue de -0,05 log UI/ml. La diferencia del sesgo medio entre la DBS venosa y el plasma fue de -0,04 log UI/ml. La diferencia del sesgo medio entre la DBS capilar y la DBS venosa fue de -0,02 log UI/ml.

El sesgo esperado entre la DBS capilar y el plasma se evaluó a las concentraciones esperadas de ULQ y LLQ. Además, el sesgo esperado entre la DBS venosa y el plasma se evaluó a las concentraciones esperadas de ULQ y LLQ. Consulte la **Tabla 3** para ver el resumen de los sesgos esperados.

Tabla 3. Sesgo esperado entre DBS (capilar o venosa) y plasma en LLQ y ULQ

Comparación	Nivel	Concentración esperada de carga viral (log UI/ml)	Sesgo esperado (log UI/ml)
DBS capilar frente a plasma	LLQ	2,66	0,24
	ULQ	8,00	-0,26
DBS venosa frente a plasma	LLQ	2,66	0,15
	ULQ	8,00	-0,17

Figura 2. DBS capilar y plasma

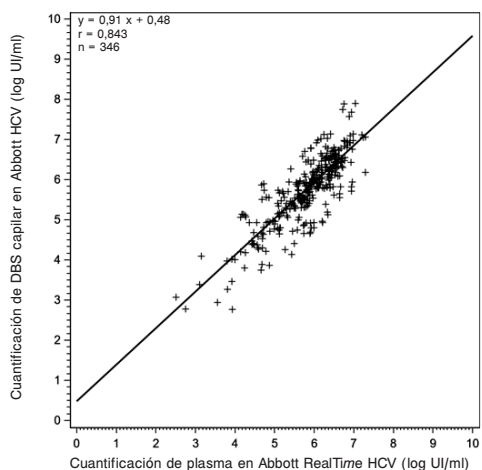


Figura 5. DBS capilar frente a plasma

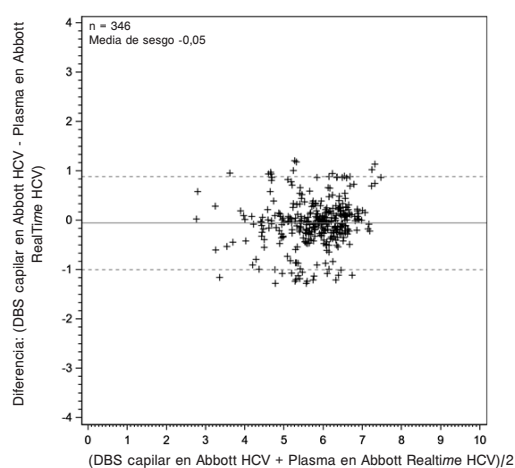


Figura 3. DBS venosa y plasma

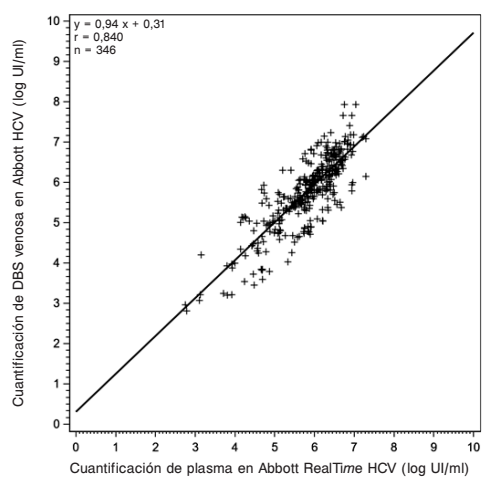


Figura 6. DBS venosa frente a plasma

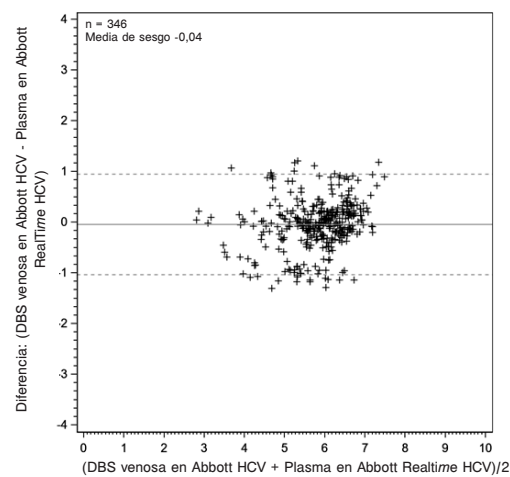


Figura 4. DBS capilar y DBS venosa

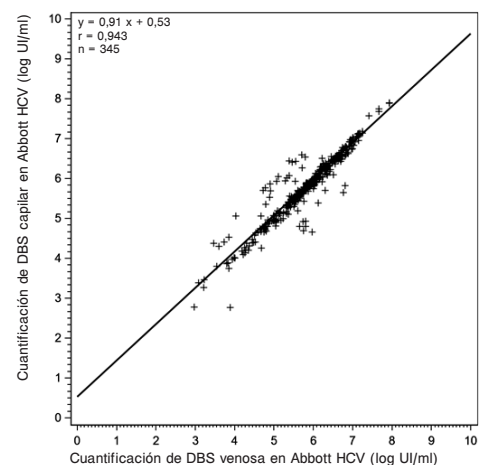
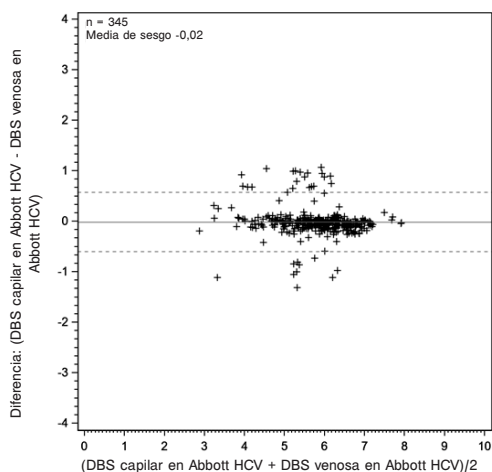


Figura 7. DBS capilar frente a DBS venosa



BIBLIOGRAFÍA

1. Gower E, Estes C, Blach S, Razavi-Shearer K, Razavi H. Global epidemiology and genotype distribution of the hepatitis C virus infection. *J Hepatol.* 2014;61(1 Suppl):S45-S57. doi:10.1016/j.jhep.2014.07.027
2. Guidelines for the screening, care and treatment of persons with chronic hepatitis C infection. World Health Organization (WHO); updated April 2016. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/205035>
3. AASLD/IDSA HCV guidance panel. *Recommendations for testing, managing, and treating hepatitis C.* AASLD/IDSA; updated October 24, 2022. <https://www.hcvguidelines.org/>
4. European Association for the Study of the Liver. EASL Recommendations on Treatment of Hepatitis C 2018. *J Hepatol.* 2018;69(2):461-511. doi:10.1016/j.jhep.2018.03.026
5. Miller MH, Agarwal K, Austin A, et al. Review article: 2014 UK consensus guidelines - hepatitis C management and direct-acting anti-viral therapy. *Aliment Pharmacol Ther.* 2014;39(12):1363-1375. doi:10.1111/apt.12764
6. Davis GL, Esteban-Mur R, Rustgi V, et al. Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin for the treatment of relapse of chronic hepatitis C. International Hepatitis Interventional Therapy Group. *N Engl J Med.* 1998;339(21):1493-1499. doi:10.1056/NEJM199811193392102
7. Manns MP, McHutchison JG, Gordon SC, et al. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial. *Lancet.* 2001;358(9286):958-965. doi:10.1016/s0140-6736(01)06102-5
8. Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR, et al. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med.* 2002;347(13):975-982. doi:10.1056/NEJMoa020047
9. Hadziyannis SJ, Sette H Jr, Morgan TR, et al. Peginterferon-alpha2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose. *Ann Intern Med.* 2004;140(5):346-355. doi:10.7326/0003-4819-140-5-200403020-00010
10. Orlent H, Deltenre P, Francque S, et al. Update of the Belgian Association for the Study of the Liver guidelines for the treatment of chronic hepatitis C genotype 1 with protease inhibitors. *Acta Gastroenterol Belg.* 2012;75(2):245-259.
11. Halfon P, Bourlière M, Pénaranda G, Khiri H, Ouzan D. Real-time PCR assays for hepatitis C virus (HCV) RNA quantitation are adequate for clinical management of patients with chronic HCV infection. *J Clin Microbiol.* 2006;44(7):2507-2511. doi:10.1128/JCM.00163-06
12. Kowdley KV, Nelson DR, Lalezari JP, et al. On-treatment HCV RNA as a predictor of sustained virological response in HCV genotype 3-infected patients treated with daclatasvir and sofosbuvir. *Liver Int.* 2016;36(11):1611-1618. doi:10.1111/liv.13165
13. Yoshida EM, Sulkowski MS, Gane EJ, et al. Concordance of sustained virological response 4, 12, and 24 weeks post-treatment with sofosbuvir-containing regimens for hepatitis C virus. *Hepatology.* 2015;61(1):41-45. doi:10.1002/hep.27366
14. WHO Guidelines on Hepatitis B and C Testing. World Health Organization (WHO); 2017. <https://www.who.int/publications/i/item/9789241549981>
15. Saldanha J, Heath A, Aberham C, et al. World Health Organization collaborative study to establish a replacement WHO international standard for hepatitis C virus RNA nucleic acid amplification technology assays. *Vox Sang.* 2005;88(3):202-204. doi:10.1111/j.1423-0410.2005.00606.x

ASISTENCIA TÉCNICA

Si requiere asistencia técnica, póngase en contacto con el Centro de Asistencia Técnica de Abbott (telf.: 1-800-553-7042 si llama desde EE. UU. y telf: +49-6122-580 si llama desde fuera de EE. UU.) o consulte la página web de Abbott en www.molecular.abbott.

RESUMEN SOBRE LA SEGURIDAD Y EL FUNCIONAMIENTO

En <https://ec.europa.eu/tools/eudamed> puede encontrar un resumen sobre la seguridad y el funcionamiento de este producto. Esta es la ubicación de la información una vez disponible la base de datos europea de productos sanitarios. Busque el producto correspondiente utilizando el número UDI-DI indicado en el embalaje exterior.

Abbott RealTime HCV se importa a la Unión Europea a través de Abbott Diagnostics GmbH, ubicada en Max-Planck-Ring 2, 65205 Wiesbaden, Alemania.



Abbott Molecular Inc.
1300 East Touhy Avenue
Des Plaines, IL 60018 USA



Abbott GmbH
Max-Planck-Ring 2
65205 Wiesbaden, Germany

© 2020, 2024 Abbott. Todos los derechos reservados.

51-608440/R3

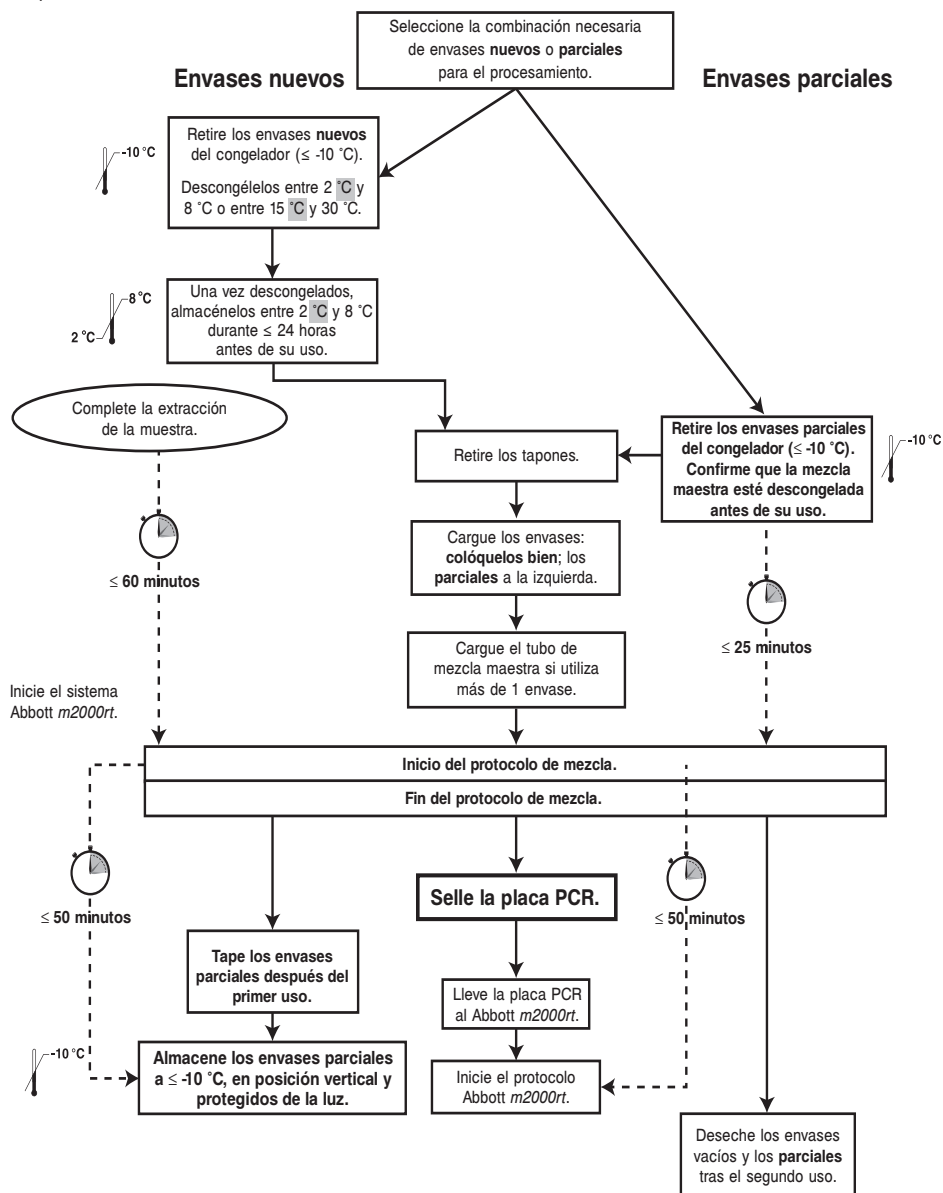
Agosto de 2024

APÉNDICE 1. DESCRIPCIÓN GENERAL DE LA FUNCIÓN DE USO AMPLIADO DEL REACTIVO DE AMPLIFICACIÓN DE ABBOTT REALTIME HCV

La función del uso ampliado de los reactivos de amplificación permite utilizar el envase de reactivo de amplificación y el control interno un total de 2 veces. Los envases de reactivos de amplificación que no se hayan utilizado aún para preparar la mezcla se denominan envases de reactivos de amplificación **nuevos**. Los envases de reactivos de amplificación que se hayan utilizado una vez y contengan la mezcla preparada se denominan envases de reactivos de amplificación **parciales**. Consulte las instrucciones incluidas en este procedimiento para obtener más información.

Condiciones de almacenamiento (envase de reactivo de amplificación y viales de control interno)		
Tipo de envase	Temperatura de almacenamiento	Tiempo de almacenamiento
Envases nuevos	-10 °C o inferior	Hasta la fecha indicada en la etiqueta
CI nuevo	-10 °C o inferior	Hasta la fecha indicada en la etiqueta
Envases parciales	-10 °C o inferior (protegidos de la luz)	Hasta un máximo de 14 días después del primer uso
CI parcial	-10 °C o inferior	Hasta un máximo de 14 días después del primer uso

- Si utiliza UNG para el procedimiento de control de la contaminación, consulte los pasos 25 y 32 del protocolo de ensayo para obtener instrucciones específicas.



- Los envases de reactivos de amplificación aptos para el uso ampliado deben tener un número de serie de 6 dígitos sobre el código de barras.
- Los envases de reactivos de amplificación **parciales** solo se pueden utilizar una segunda vez en el mismo instrumento en el que se usaron la primera vez. Si se utilizan en un instrumento diferente, se generará un error, lo que puede retrasar el procesamiento.
- Los envases de reactivos de amplificación **nuevos** y **parciales** se pueden utilizar juntos. Todos los envases de reactivos de amplificación utilizados en el instrumento para un procesamiento deben tener el mismo número de lote.

Abbott RealTime HCV

Supplement for Dried Blood Spot (DBS)

it

GTIN

REF

04J86-010

IVD

REF 04J86-010

51-608440/R3

51-608440/R3

NOTA: fare attenzione alle modifiche

Legenda dei simboli utilizzati	
	Codice GTIN
	Numero di riferimento
	Dispositivo medico-diagnostico <i>in vitro</i>
	Tempo massimo consentito
	Limite superiore di temperatura
	Limiti di temperatura
	Mandatario nella Comunità europea/Unione europea
	Fabbricante

SERVIZIO CLIENTI INTERNAZIONALE:

RIVOLGERSI AL SERVIZIO CLIENTI ABBOTT

Leggere attentamente il foglietto illustrativo prima dell'uso. Seguire le istruzioni riportate sul foglietto illustrativo. In caso di mancato rispetto delle istruzioni riportate nel presente foglietto illustrativo, non è possibile garantire l'affidabilità dei risultati del dosaggio.

Le presenti istruzioni per l'uso (IFU) costituiscono un supplemento al foglietto illustrativo del dosaggio Abbott RealTime HCV (n. di listino 4J86), specificamente per il tipo di campione DBS (goccia di sangue essiccato).

NOTA PER L'UTENTE

Se si verifica un incidente grave in relazione all'uso di questo dispositivo, segnalare tale incidente al produttore e all'autorità competente appropriata dello stato membro in cui risiede l'utente e/o il paziente. Per effettuare la segnalazione al produttore, vedere le informazioni di contatto fornite nella sezione relativa al servizio clienti o all'assistenza tecnica delle presenti istruzioni.

DENOMINAZIONE

Abbott RealTime HCV

FINALITÀ D'USO PER DBS

Abbott RealTime HCV è un dosaggio di reazione a catena della polimerasi con trascrittasi inversa (RT-PCR) *in vitro* per la determinazione quantitativa dell'RNA del virus dell'epatite C (HCV-RNA) in gocce di sangue intero essiccato poste su appositi cartoncini (test DBS) (da venipuntura o prelievo capillare) di individui infettati da HCV. Il dosaggio Abbott RealTime HCV è indicato come ausilio nella gestione di pazienti infettati da HCV sottoposti a terapia antivirale. Il dosaggio Abbott RealTime HCV non è destinato ad essere utilizzato per lo screening dell'HCV nei donatori di sangue, plasma, siero o tessuto, o come test diagnostico per confermare la presenza di infezione da HCV.

UTENTI PREVISTI

Il dosaggio Abbott RealTime HCV è destinato all'uso da parte di addetti di laboratorio qualificati.

RIASSUNTO E SPIEGAZIONE DEL TEST

Il virus dell'epatite C (HCV) rappresenta una delle principali cause di epatopatia. È stato stimato che circa il 1,1% della popolazione presenta infezione cronica da epatite C¹ e che circa 700.000 persone muoiono ogni anno a causa di epatopatia correlata all'epatite C.² L'HCV è un virus a RNA

con filamento a polarità positiva, che viene trasmesso principalmente tramite l'uso di farmaci per via endovenosa e attraverso prodotti ematici. Circa il 55-85% dei soggetti con infezione da HCV sviluppa epatite cronica e fino al 30% dei soggetti con infezione cronica sviluppa cirrosi.¹ Nei pazienti con cirrosi, l'incidenza del carcinoma epatocellulare è del 2-4% all'anno.¹

È stato dimostrato che la misurazione quantitativa del livello di HCV-RNA nel sangue periferico è un parametro essenziale per la gestione di varie terapie anti-HCV.⁶⁻¹³ Con l'avvento dei regimi antivirali ad azione diretta, i trattamenti per l'infezione da HCV sono progrediti notevolmente. L'obiettivo delle terapie anti-HCV è ottenere una risposta virologica sostenuta (SVR), che si presenta come assenza continuata di HCV-RNA rilevabile.²⁻⁵ Le misurazioni della carica virale dell'HCV sono state utilizzate per personalizzare la durata del trattamento e la terapia guidata dalla risposta o per determinare e prevedere una risposta virologica sostenuta o non sostenuta della terapia antivirale.²⁻⁵

La maggior parte del carico dell'HCV a livello globale si riscontra nei paesi a basso e medio reddito (LMIC).¹⁴ L'identificazione dei pazienti con infezione da HCV attiva è molto limitata in queste aree dove le risorse sono scarse. Il sangue intero prelevato sotto forma di DBS (goccia di sangue essiccato) può essere utilizzato come alternativa al siero o al plasma per l'analisi dell'HCV-RNA. La DBS rappresenta un'opzione fattibile che elimina molti limiti logistici e tecnici associati alla raccolta, alla processazione, alla conservazione e alla spedizione di siero o plasma. Le linee guida dell'Organizzazione mondiale della sanità (OMS) sui test per epatite C includono la raccomandazione dell'uso di DBS nei test virologici per HCV nelle aree con risorse limitate.¹⁴

Il dosaggio Abbott RealTime HCV per DBS impiega la tecnologia della reazione a catena della polimerasi con trascrittasi inversa (RT-PCR) in combinazione con la rilevazione omogenea in tempo reale della fluorescenza per la determinazione quantitativa dell'HCV-RNA in DBS. La selezione di una regione conservata del genoma dell'HCV consente la rilevazione dei genotipi da 1 a 6. Il dosaggio è standardizzato rispetto al 2° standard internazionale dell'OMS per l'RNA del virus dell'epatite C (codice NIBSC 96/798)¹⁵ e i risultati sono riportati in unità internazionali/ml (UI/ml) o nel suo equivalente logaritmico in base 10.

PRINCIPI BIOLOGICI DEL METODO

Il dosaggio Abbott RealTime HCV per DBS richiede 3 kit di reagenti:

- Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit
- Abbott RealTime HCV Control Kit
- Abbott RealTime HCV Calibrator Kit

Il dosaggio Abbott RealTime HCV per DBS utilizza la RT-PCR per generare il prodotto amplificato dal genoma di HCV-RNA presente in campioni DBS umani. Le fasi del dosaggio Abbott RealTime HCV per DBS consistono in: trattamento pre-analitico del campione DBS, preparazione del campione, assemblaggio di RT-PCR, amplificazione, rilevazione e refertazione dei risultati. Il trattamento preanalitico della DBS viene eseguito utilizzando Abbott mSample Preparation System DBS Buffer Kit, prima del caricamento del campione nel sistema Abbott m2000sp. Dopo il trattamento preanalitico della DBS, tutte le fasi successive sono eseguite automaticamente dai sistemi Abbott m2000sp e Abbott m2000rt.

Fare riferimento al foglietto illustrativo del dosaggio Abbott RealTime HCV (n. di listino 4J86) per ulteriori dettagli su preparazione del campione, assemblaggio di RT-PCR, amplificazione e rilevazione.

RIUTILIZZO DEL REAGENTE PER AMPLIFICAZIONE

La funzione opzionale per il riutilizzo del reagente per amplificazione consente di utilizzare le confezioni di reagente per amplificazione e il controllo interno (IC) per un totale di 2 volte. Le confezioni di reagente per amplificazione contenenti la miscela master preparata possono essere conservate a una temperatura di -10°C o inferiore, tappate e protette dalla luce, per un massimo di 14 giorni prima del secondo utilizzo. L'IC può essere conservato tappato a una temperatura di -10°C o inferiore per un massimo di 14 giorni prima del secondo utilizzo. Il secondo utilizzo non deve avvenire successivamente alla data di scadenza del reagente.

Una panoramica di questa funzione è fornita nell'Appendice 1 delle presenti istruzioni per l'uso.

Nelle presenti istruzioni per l'uso, le confezioni di reagente per amplificazione e l'IC che non sono ancora stati utilizzati saranno chiamati "confezioni di reagente per amplificazione nuove" e "IC nuovo" (ovvero, uso iniziale). Le confezioni di reagente per amplificazione che sono state utilizzate una volta e contengono miscela master preparata saranno chiamate "confezioni di reagente per amplificazione parziali". Le fiale di IC che sono state utilizzate una volta saranno chiamate "fiale di IC parziali".

PREVENZIONE DELLA CONTAMINAZIONE DA ACIDO NUCLEICO

Fare riferimento al foglietto illustrativo del dosaggio Abbott RealTime HCV (n. di listino 4J86).

REAGENTI

Fare riferimento al foglietto illustrativo del dosaggio Abbott RealTime HCV (n. di listino 4J86).

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

IVD

Per uso diagnostico *in vitro*

Il dosaggio Abbott RealTime HCV per DBS non è indicato per lo screening dell'HCV nei donatori di sangue, plasma, siero o tessuto, o come test diagnostico per confermare la presenza di infezione da HCV.

PRECAUZIONI RELATIVE ALLA SICUREZZA

Fare riferimento al foglietto illustrativo del dosaggio Abbott RealTime HCV (n. di listino 4J86). Il dosaggio Abbott RealTime HCV per DBS utilizza esclusivamente strumenti Abbott m2000sp e Abbott m2000rt.

PRECAUZIONI SPECIALI

Precauzioni per il trattamento dei campioni DBS

Il dosaggio Abbott RealTime HCV per DBS deve essere utilizzato esclusivamente con campioni DBS o di sangue intero che sono stati trattati e conservati come descritto nella sezione **RACCOLTA, CONSERVAZIONE E TRASPORTO DEL CAMPIONE AL CENTRO DI ANALISI**.

Fare riferimento al foglietto illustrativo del dosaggio Abbott RealTime HCV (n. di listino 4J86).

Precauzioni di trattamento specifiche per DBS:

- Assicurarsi che i cartoncini per DBS siano completamente asciutti prima di conservarli in un sacchetto con essiccanti. Formazione di gocce, essiccazione, conservazione e trattamento inadeguati della DBS possono portare a risultati dell'analisi inesatti.
- Per evitare la contaminazione da carryover, utilizzare un nuovo puntale per pipetta per ciascun campione DBS quando si estrae il campione dal cartoncino per DBS perforato. Se si utilizza un cartoncino per DBS non perforato, assicurarsi che lo strumento utilizzato per l'escissione del campione sia decontaminato prima e dopo il contatto con il campione DBS.

Aree di lavoro

Si raccomandano solamente due aree dedicate, l'area di preparazione dei campioni e l'area di amplificazione, quando si utilizzano Abbott m2000sp e Abbott m2000rt.

Fare riferimento al foglietto illustrativo del dosaggio Abbott RealTime HCV (n. di listino 4J86).

Contaminazione da aerosol

Fare riferimento al foglietto illustrativo del dosaggio Abbott RealTime HCV (n. di listino 4J86).

Contaminazione e inibizione

Fare riferimento al foglietto illustrativo del dosaggio Abbott RealTime HCV (n. di listino 4J86).

Contaminazione da prodotto amplificato esterno contenente dU

I laboratori che utilizzano o hanno utilizzato dosaggi di amplificazione HCV che includono processazione post-PCR del prodotto amplificato possono essere contaminati da prodotto amplificato contenente dU. Tale contaminazione può causare risultati imprecisi del dosaggio Abbott RealTime HCV per DBS. Fare riferimento alla sezione **Monitoraggio del laboratorio per individuare la presenza di contaminazione** del foglietto illustrativo del dosaggio Abbott RealTime HCV (n. di listino 4J86). Quando i controlli negativi sono persistentemente reattivi o laddove è probabile che si sia verificata una contaminazione con prodotto amplificato di HCV contenente dU, si consiglia al laboratorio di utilizzare la procedura di controllo della contaminazione con uracil-N-glicosilasi (UNG) se la decontaminazione del laboratorio non ha successo.

ISTRUZIONI PER LA CONSERVAZIONE

Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit (n. di listino 4J86-90)



- Le confezioni di reagente per amplificazione Abbott RealTime HCV e le fiale di controllo interno (IC) **nuove e parziali** devono essere conservate a una temperatura di -10°C o inferiore quando non in uso. Prestare attenzione a separare la confezione di reagente per amplificazione Abbott RealTime HCV che è in uso dal contatto diretto con campioni, calibratori e controlli.
- Dopo l'uso iniziale, le confezioni di reagente per amplificazione e l'IC **parziali** devono essere conservati a una temperatura di -10°C o inferiore, tappati, in posizione verticale e protetti dalla luce. Se conservate in questo modo, le confezioni di reagente per amplificazione **parziali** con miscela master preparata possono essere utilizzate una seconda volta entro 14 giorni dal primo utilizzo. Anche l'IC può essere utilizzato una seconda volta entro 14 giorni dallo scongelamento, se conservato tappato a una temperatura di -10°C o inferiore. Dopo 2 utilizzi, le confezioni di reagente per amplificazione e l'IC parziali devono essere eliminati. Il secondo utilizzo non deve avvenire successivamente alla data di scadenza del reagente.

Abbott RealTime HCV Control Kit (n. di listino 4J86-80)



- Gli Abbott RealTime HCV Negative Controls e Positive Controls devono essere conservati a una temperatura di -10°C o inferiore.

Abbott RealTime HCV Calibrator Kit (n. di listino 4J86-70)



- Abbott RealTime HCV Calibrator A e Calibrator B devono essere conservati a una temperatura di -10°C o inferiore.

CONDIZIONI DI SPEDIZIONE

Fare riferimento al foglietto illustrativo del dosaggio Abbott RealTime HCV (n. di listino 4J86).

INDICAZIONE DI INSTABILITÀ O DETERIORAMENTO DEI REAGENTI

Fare riferimento al foglietto illustrativo del dosaggio Abbott RealTime HCV (n. di listino 4J86).

PROCEDURA STRUMENTALE

Prima di eseguire il dosaggio, il file dell'applicazione di Abbott RealTime HCV per DBS deve essere installato sui sistemi Abbott m2000sp e Abbott m2000rt dall'Abbott RealTime HCV m2000 ROW System Combined Application CD-ROM (n. di listino 01L69-040 o superiore). Per informazioni dettagliate sull'installazione del file dell'applicazione, fare riferimento ai manuali d'impiego Abbott m2000sp e Abbott m2000rt, sezione Istruzioni operative.

RACCOLTA, CONSERVAZIONE E TRASPORTO DEL CAMPIONE AL CENTRO DI ANALISI

Raccolta e conservazione del campione

- Per preparare la DBS, utilizzare sangue intero con EDTA o digitopuntura. Durante la conservazione e la spedizione, il sangue intero con EDTA deve essere mantenuto in condizioni di temperatura controllata (tra 2°C e 8°C per un massimo di 48 ore, oppure a temperatura ambiente non superiore a 30°C per un massimo di 24 ore).
- Il sangue intero con EDTA raccolto in una provetta deve essere miscelato accuratamente capovolgendo delicatamente la provetta prima della formazione della goccia. Formare una goccia di sangue sui cerchi da mezzo pollice (12 millimetri) su cartoncini di carta Ahlstrom-Munktel TFN o Whatman 903, assicurandosi che l'intero cerchio sia coperto. Si consiglia di utilizzare almeno 70 µl di sangue (circa 3-5 gocce di sangue) per ogni cerchio per garantire una copertura completa.
- Lasciare asciugare il cartoncino all'aria a temperatura ambiente per almeno 3 ore. Confezionare ogni cartoncino in un sacchetto sigillabile con sacchetti di essiccante (almeno 2-3 sacchetti di essiccante).
- I cartoncini per campioni DBS possono essere conservati come indicato nella tabella seguente prima dell'esecuzione del dosaggio.

Conservazione del cartoncino per campioni DBS	
Condizione	Tempo massimo di conservazione
Da 2°C a 30°C a umidità ambiente	18 settimane
≤ 37°C a umidità ambiente	12 settimane
≤ 45°C a umidità ambiente	8 settimane
≤ 38°C a umidità elevata (≤ 85%)	4 settimane
Da -25°C a -15°C a umidità ambiente	18 settimane
-70°C o temperatura inferiore a umidità ambiente	18 settimane

Trasporto dei campioni

Spedire i campioni rispettando la temperatura e il tempo di conservazione consigliati indicati nella precedente sezione **Raccolta e conservazione del campione**. Per spedizioni nazionali e internazionali, i campioni devono essere imballati ed etichettati in conformità alle normative nazionali e internazionali che regolano il trasporto di campioni clinici, diagnostici o biologici.

PROCEDURA DEL DOSAGGIO ABBOTT REALTIME HCV PER DBS

Materiale necessario ma non in dotazione

- Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit (n. di listino 4J86-90)
- Abbott RealTime HCV Calibrator Kit (n. di listino 4J86-70)
- Abbott RealTime HCV Control Kit (n. di listino 4J86-80)

Per l'area di preparazione dei campioni dell'Abbott m2000sp

- Abbott mSample Preparation System DBS Buffer Kit (n. di listino 09N02-001)
- Abbott m2000sp (n. di listino 09K14-01, 09K14-02)
- Abbott mSample Preparation System (4 × 24 prep.) (n. di listino 04J70-24)
- Pipette di precisione calibrate in grado di erogare da 20 a 1000 µl (se si utilizza UNG, possono essere necessarie pipette di precisione calibrate in grado di erogare < 20 µl).
- Puntali per pipette con barriera aerosol per pipette da 20 a 1000 µl (se si utilizza UNG, possono essere necessari puntali per pipette con barriera aerosol in grado di erogare < 20 µl).
- Vortex Mixer
- Master Mix Tube (n. di listino 04J71-80)
- Abbott 96-Deep-Well Plate (n. di listino 04J71-30)
- 5 mL Reaction Vessels (n. di listino 04J71-20)
- 200 mL Reagent Vessels (n. di listino 04J71-60)
- Abbott 96-Well Optical Reaction Plate (n. di listino 04J71-70)
- Abbott Optical Adhesive Covers (n. di listino 04J71-75)
- Abbott Adhesive Cover Applicators (n. di listino 9K32-01)
- Abbott Splash-Free Support Base (n. di listino 9K31-01)
- Abbott RealTime HCV m2000 ROW System Combined Application CD-ROM (n. di listino 01L69-040 o superiore)
- m2000 System 13mm DBS-PoST Set (n. di listino 09N03-001)
- 1.4 mL Micro Vial 15mm Caps (n. di listino 03N20-01), opzionale
- Uracil N-Glycosylase (uracile N-glicosilasi, UNG)^a (n. di listino 6L87-02)

^aSe necessario, in base alla sezione **Contaminazione da prodotto amplificato esterno contenente dU** delle presenti istruzioni per l'uso.

Per l'area di amplificazione dell'Abbott m2000rt

- Abbott m2000rt (n. di listino 9K15-01)
- Abbott RealTime HCV m2000 ROW System Combined Application CD-ROM (n. di listino 01L69-040 o superiore)
- Abbott m2000rt Optical Calibration Kit (n. di listino 04J71-93)

Altri materiali

- Cappa di sicurezza biologica approvata per l'uso di materiali infettivi
- Sacchetto sigillabile per cartoncino DBS
- Sacchetto di essiccante per cartoncino DBS
- Cartoncino di carta Ahlstrom-Munktell TFN e/o Whatman 903
- Sacchetto di plastica sigillabile per lo smaltimento della piastra di reazione a 96 pozzetti
- Acqua priva di RNasi (Eppendorf o equivalente)^b
- Provette per microcentrifuga da 1,7 ml di grado da biologia molecolare (Dot Scientific, Inc. o equivalente)^b
- Applicatori con punta in cotone (Puritan o equivalente)^b

^bNota: questi 3 articoli sono utilizzati nella procedura di monitoraggio del laboratorio per individuare la presenza di contaminazione. Fare riferimento alla sezione **PROCEDURE DI CONTROLLO QUALITÀ** del foglietto illustrativo del dosaggio Abbott RealTime HCV (n. di listino 4J86).

Precauzioni procedurali

- Leggere attentamente le istruzioni contenute nelle presenti istruzioni per l'uso prima di processare i campioni.
- I reagenti per amplificazione e il controllo interno possono essere utilizzati fino a 2 volte, come descritto nelle presenti istruzioni per l'uso. Le fiale di Abbott RealTime HCV Calibrators, Negative Control, Low Positive Control e High Positive Control sono esclusivamente monouso e devono essere smaltite dopo l'uso.
- Utilizzare puntali per pipette dotati di barriera aerosol o pipette monouso soltanto 1 volta durante la dispensazione dei campioni o del controllo interno. Per evitare la contaminazione del cilindro della pipetta durante la pipettatura, prestare attenzione a evitare il contatto tra il cilindro della pipetta e l'interno della provetta o del contenitore del campione. È consigliato l'uso di puntali per pipette dotati di barriera aerosol estesa.
- Le procedure di monitoraggio per individuare la presenza di prodotto di amplificazione sono indicate nella sezione **PROCEDURE DI CONTROLLO QUALITÀ**.
- Per ridurre il rischio di contaminazione da acido nucleico, pulire e disinfettare le fuoriuscite di campione, utilizzando un disinfettante tuberculicida come ipoclorito di sodio allo 1,0% o altro disinfettante idoneo.
- Gli Abbott RealTime HCV Calibrators e Controls devono essere preparati insieme ai campioni da analizzare. L'uso di Abbott RealTime HCV Controls e Calibrators è essenziale per garantire le prestazioni del dosaggio Abbott RealTime HCV. Fare riferimento alla sezione **PROCEDURE DI CONTROLLO QUALITÀ**.
- Il protocollo di dispensazione della miscela master Abbott m2000sp deve essere avviato entro 1 ora dal completamento della preparazione del campione.
- Se il protocollo di dispensazione della miscela master Abbott m2000sp viene abbandonato, smaltire i reagenti per amplificazione che si stavano utilizzando per la seconda volta. Le confezioni di reagenti nuove che si stavano utilizzando per la prima volta possono essere conservate per un uso successivo, come descritto nel presente manuale.
- Il protocollo Abbott m2000rt deve essere iniziato entro 50 minuti dall'avvio del protocollo di dispensazione della miscela master. Se la seduta dell'Abbott m2000rt non viene avviata entro 50 minuti, o è interrotta o abbandonata, sigillare la Abbott 96-Well Optical Reaction Plate in un sacchetto di plastica sigillabile e smaltirla come indicato nel Manuale d'impiego Abbott m2000rt insieme ai guanti utilizzati per maneggiare la piastra.

IMPORTANTE: i reagenti per amplificazione che saranno utilizzati una seconda volta devono essere conservati a una temperatura di -10°C o inferiore entro 50 minuti dall'inizio del protocollo di dispensazione della miscela master.

PROTOCOLLO DI DOSAGGIO: CAMPIONI DBS SU STRUMENTI ABBOTT m2000sp E ABBOTT m2000rt

Per una descrizione dettagliata di come eseguire un protocollo dell'Abbott m2000sp e dell'Abbott m2000rt fare riferimento ai manuali d'impiego Abbott m2000sp e Abbott m2000rt, sezione Istruzioni operative. Il protocollo DBS richiede Abbott m2000sp Software Version 6.0 o successiva. Seguire il Manuale d'impiego Abbott m2000sp (n. di listino 09K20 versione 6 o successiva).

In ciascuna seduta di analisi è possibile processare un totale di 96 campioni. Ciascuna seduta di analisi include un **Abbott RealTime HCV Negative Control, Low Positive Control e High Positive Control**, quindi è consentita l'analisi di un massimo di 93 campioni DBS per seduta, quando non si includono calibratori. Processare calibratori e controlli direttamente come campioni liquidi; le fasi da 1 a 5 sono necessarie solamente per campioni DBS. Non analizzare campioni di plasma o siero in una seduta di analisi in cui è utilizzato il protocollo DBS. Per ciascun campione DBS, deve essere utilizzata una singola provetta Abbott Master Mix Tube per l'intera procedura di analisi del campione. Assicurarsi che i campioni DBS siano etichettati durante tutto il processo.

- Riempire la Abbott Master Mix Tube con 1,3 ml di tampone *mDBS* dell'Abbott *mSample Preparation system DBS Buffer Kit* (n. di listino 09N02-001).

NOTA: non utilizzare *mLysis Buffer* o altri reagenti per questa fase

- Tenere il cartoncino di carta per DBS perforato sopra la provetta Abbott Master Mix Tube.
- Estrarre il cerchio del campione DBS dal cartoncino utilizzando un puntale per pipetta pulito, 1 cerchio di DBS per Abbott Master Mix Tube. Ogni DBS deve avere un diametro di circa mezzo pollice (12 millimetri).

NOTA: UTILIZZARE UN NUOVO PUNTALE PER PIPETTA PER CIASCUN CAMPIONE DBS PER EVITARE LA CONTAMINAZIONE CROCIATA.

In alternativa, per la carta DBS non perforata, ritagliare 1 intera DBS (del diametro di circa mezzo pollice) per ciascun campione e trasferirla in una Abbott Master Mix Tube.

NOTA: evitare il contatto diretto della superficie di taglio con i campioni DBS. Decontaminare lo strumento utilizzato per tagliare la DBS tra un campione e l'altro, se necessario, secondo le buone pratiche di laboratorio.

- Assicurarsi che il cerchio del campione DBS sia completamente immerso nel *mDBS Buffer* dando dei delicati colpetti alla provetta o utilizzando il puntale della pipetta per spingere il campione DBS nel tampone.

NOTA: se si utilizza un puntale per pipetta per spingere il campione DBS nel tampone, assicurarsi che il puntale della pipetta non provochi perdita di volume del tampone DBS dovuta all'entrata del liquido nel puntale e/o all'assorbimento del tampone da parte del filtro del puntale.

- Agitare manualmente le provette di campione. Non agitare i campioni con il Vortex. Lasciare in incubazione per 30 minuti (± 2 minuti) a temperatura ambiente.
- Nel mentre, scongelare i controlli del dosaggio e il controllo interno (IC) a una temperatura compresa tra 15°C e 30°C o tra 2°C e 8°C. Scongelare i calibratori a una temperatura compresa tra 15°C e 30°C o tra 2°C e 8°C solo se si esegue una seduta di calibrazione.

NOTA: una volta scongelati, i controlli del dosaggio, l'IC e i calibratori possono essere conservati a una temperatura compresa tra 2°C e 8°C per un massimo di 24 ore prima dell'uso.

- Prima dell'uso, agitare su Vortex ciascun calibratore del dosaggio e ciascun controllo per 3 volte per 2-3 secondi. Verificare che il contenuto si trovi sul fondo delle fiale, battendo delicatamente le fiale sul piano di lavoro per spostare il liquido verso il fondo. Verificare che non si siano formate bolle o schiuma; se presenti, eliminarle con un puntale di pipetta sterile usando un puntale nuovo per ogni fiala.
- Scongelare i reagenti per amplificazione a una temperatura compresa tra 15°C e 30°C o tra 2°C e 8°C e conservarli a una temperatura compresa tra 2°C e 8°C finché necessario per la procedura della miscela master di amplificazione.
- Selezionare le confezioni di reagente per amplificazione **nuove** e/o **parziali** da utilizzare nella seduta di analisi. Fare riferimento al Manuale d'impiego Abbott *m2000sp* (n. di listino 09K20 versione 6 o successiva), sezione Istruzioni operative, per le istruzioni relative alla gestione dell'inventario delle confezioni di reagente per amplificazione. Le confezioni di reagente per amplificazione devono avere lo stesso numero di lotto. Scongelare reagenti di amplificazione **nuovi** a una temperatura compresa tra 15°C e 30°C o tra 2°C e 8°C e conservarli a una temperatura compresa tra 2°C e 8°C finché necessario per la procedura della miscela master di amplificazione.

NOTA: una volta scongelati, è possibile conservare i reagenti per amplificazione nuovi a una temperatura compresa tra 2°C e 8°C per un massimo di 24 ore, se non vengono utilizzati immediatamente. Le confezioni di reagente per amplificazione parziali che si stanno utilizzando per una seconda volta NON devono essere conservate a 2-8°C prima dell'uso. Devono essere mantenute a una temperatura di -10°C o inferiore finché necessario per la dispensazione della miscela master. Una volta rimosse dal congelatore, l'esposizione a temperatura ambiente cumulativa non deve superare i 25 minuti, compresi i casi in cui le confezioni sono rimosse dallo stoccaggio ma non utilizzate. Se si superano i 25 minuti, smaltire le confezioni di reagente per amplificazione parziali.

La seguente tabella mostra il numero di reagenti per la preparazione dei campioni e di fiale di controllo interno necessari in base al numero di reazioni.

Reagenti per la preparazione dei campioni e di controllo interno necessari				
Reagente	Da 1 a 24 reazioni	Da 25 a 48 reazioni	Da 49 a 72 reazioni	Da 73 a 96 reazioni
<i>mMicroparticles</i>	1 flacone	2 flaconi	2 flaconi	2 flaconi
<i>mLysis</i>	1 flacone	2 flaconi	3 flaconi	4 flaconi
<i>mWash 1</i>	1 flacone	2 flaconi	3 flaconi	4 flaconi
<i>mWash 2</i>	1 flacone	2 flaconi	3 flaconi	4 flaconi
<i>mElution Buffer</i>	1 flacone	2 flaconi	3 flaconi	4 flaconi
Controllo interno ^a	1 fiala nuova o 1 fiala parziale	1 fiala nuova o 2 fiale parziali	2 fiale nuove o 3 fiale parziali	2 fiale nuove o 4 fiale parziali

^a È possibile utilizzare una combinazione di fiale nuove e parziali di controllo interno.

- Capovolgere delicatamente i flaconi di Abbott *mSample Preparation* per garantire l'omogeneità delle soluzioni. Se, dopo l'apertura, si nota la presenza di cristalli in qualsiasi flacone dei reagenti, lasciare riposare il reagente in modo che raggiunga la temperatura ambiente, fino alla dissoluzione dei cristalli. Non utilizzare i reagenti prima che i cristalli si siano disciolti.

- Prima dell'uso, agitare su Vortex ciascun IC per 3 volte per 2-3 secondi.

- Utilizzare una pipetta di precisione calibrata **DEDICATA ESCLUSIVAMENTE AL CONTROLLO INTERNO** per aggiungere 500 µl di IC a ciascun flacone di *mLysis Buffer*. Miscelare capovolgendo delicatamente il contenitore 5-10 volte per ridurre al minimo la formazione di schiuma. Le fiale parziali di IC possono essere nuovamente tappate e conservate a una temperatura di -10°C o inferiore per un secondo utilizzo.

- Posizionare i controlli positivi basso e alto, il controllo negativo e i calibratori, se applicabile, nei rack dei campioni Abbott *m2000sp*.

- Al termine dell'incubazione, agitare manualmente le provette per campioni DBS e quindi collocarle nei rack dei campioni Abbott *m2000sp*.

NOTA: assicurarsi che i rack dei campioni Abbott *m2000sp* siano stati calibrati specificamente per la procedura Abbott RealTime HCV per DBS.

- Caricare con cautela i rack dei campioni per evitare schizzi. Se presenti, i codici a barre sulle etichette delle provette devono essere rivolti verso destra per la scansione. Accertarsi che ciascuna provetta sia collocata saldamente nel rack dei campioni in modo che sua estremità inferiore raggiunga la base interna del rack.

- Caricare i rack dei campioni riempiti sull'Abbott *m2000sp* in posizioni di rack dei campioni consecutive, con il primo rack più lontano a destra sul piano di lavoro e qualsiasi rack aggiuntivo progressivamente a sinistra del primo rack.

- Collocare i Reaction Vessel da 5 ml nel carrier del sottosistema da 1 ml di Abbott *m2000sp*.

- Caricare i reagenti Abbott *mSample Preparation System* e la Abbott 96 Deep-Well Plate sul piano di lavoro di Abbott *m2000sp*, come descritto nel Manuale d'impiego Abbott *m2000sp*, sezione Istruzioni operative.

- Dalla schermata Protocol (Protocollo), selezionare il file dell'applicazione HCV RNA DBS. Avviare il protocollo di estrazione del campione come descritto nel Manuale d'impiego Abbott *m2000sp*, sezione Istruzioni operative.

- Inserire i valori specifici del lotto del calibratore (necessario se non è stata memorizzata una curva di calibrazione su Abbott *m2000rt*) e del controllo nei campi Sample Extraction: Worktable Setup, Calibrator e Control (Estrazione del campione: Impostazione del piano di lavoro, Calibratore e Controllo). I valori specifici del lotto sono specificati in ogni scheda dell'Abbott RealTime HCV Calibrator and Control Kit.

- Il protocollo di dispensazione della miscela master Abbott *m2000sp* (fase 28) deve essere avviato entro 1 ora dal completamento della preparazione del campione.

NOTA: cambiare i guanti prima di manipolare i reagenti per amplificazione.

- Caricare i reagenti per amplificazione e la provetta per miscela master (se necessario) sul piano di lavoro di Abbott *m2000sp* al termine della preparazione del campione. La seguente tabella mostra il numero di confezioni di reagente di amplificazione necessarie in base al numero di reazioni. Se si utilizza solo 1 confezione di reagente per amplificazione, non è necessaria alcuna provetta per miscela master.

Confezioni di reagente per amplificazione necessarie ^a			
Da 1 a 24 reazioni	Da 25 a 48 reazioni	Da 49 a 72 reazioni	Da 73 a 96 reazioni
1 se nuova; fino a 4 confezioni parziali	2 se nuove; fino a 4 confezioni parziali	3 se nuove; fino a 4 confezioni parziali	4 confezioni nuove o parziali

^a Fare riferimento al Manuale d'impiego Abbott *m2000sp* (n. di listino 09K20 versione 6 o successiva) per istruzioni sulla gestione dell'inventario per determinare il numero massimo di reazioni che è possibile testare con le confezioni parziali selezionate.

- Le confezioni di reagente per amplificazione parziali possono essere utilizzate solamente sullo stesso strumento Abbott *m2000sp* utilizzato per la preparazione iniziale della confezione di reagente. Se si utilizza una confezione di reagente per amplificazione la seconda volta su uno strumento diverso, si verifica un errore che può ritardare la seduta di analisi.
- È possibile utilizzare insieme confezioni di reagente per amplificazione parziali e nuove.

IMPORTANTE: le confezioni di reagente per amplificazione parziali devono essere conservate a una temperatura di -10°C o inferiore fino al momento del secondo utilizzo. Verificare che la miscela master sia scongelata prima di collocare una o più confezioni parziali sul piano di lavoro di Abbott *m2000sp*. Una volta rimosse dallo stoccaggio a una temperatura di -10°C o inferiore, le confezioni di reagente per amplificazione parziali da utilizzare per la seconda volta devono essere utilizzate entro 25 minuti o smaltite. Ciò si riferisce all'esposizione cumulativa a temperatura ambiente, compresi i casi in cui le confezioni vengono rimosse dallo stoccaggio ma non utilizzate.

23. Prima di aprire i reagenti per amplificazione, assicurarsi che il contenuto delle confezioni di reagente per amplificazione nuove si trovi sul fondo delle fiale, battendo delicatamente le fiale in posizione verticale sul banco di lavoro per 5-10 volte.
- Non battere sul banco di lavoro le confezioni di reagente per amplificazione parziali che si stanno utilizzando una seconda volta. Ciò potrebbe causare la perdita nel tappo di volume della miscela master.
24. Rimuovere i tappi. Se si prevede di conservare una confezione di reagente per amplificazione nuova per un secondo utilizzo, le fiale dovranno essere nuovamente tappate per la conservazione. Se si prevede di riutilizzare i tappi originali perappare nuovamente le fiale di reagente, conservare i tappi originali. Se si prevede di utilizzare tappi nuovi perappare nuovamente le fiale di reagente, è possibile gettare i tappi originali.
- Se si utilizza la uracile N-glicosilasi (UNG) per il controllo della contaminazione, attenersi alle istruzioni riportate di seguito.**

25. Utilizzare una PIPETTA DEDICATA ESCLUSIVAMENTE AL REAGENTE per aggiungere il volume specificato di 1 U/μl di UNG (n. di listino 6L87-02) alla fiala di reagente nella posizione 3 delle confezioni di reagente per amplificazione nuove e parziali. Per tutte le confezioni parziali, miscelare manualmente pipettando delicatamente su e giù. Non miscelare le confezioni nuove.
- Utilizzare la tabella seguente per determinare il volume di UNG da aggiungere alla fiala di reagente nella posizione 3 delle confezioni di reagente per amplificazione nuove e parziali. La fiala di reagente nella posizione 3 di una confezione di reagente nuova contiene l'enzima polimerasi rTth termostabile. La fiala di reagente nella posizione 3 di una confezione di reagente parziale contiene la miscela master.

Volume di UNG da aggiungere alla fiala di reagente nella posizione 3 di ciascuna confezione di reagente per amplificazione	
Analisi rimanenti nella confezione	Aggiungere questo volume di UNG (μl)
1	5
2	6
3	7
4	8
5	9
6	10
7	11
8	12
9	13
10	13
11	14
12	15
13	16
14	17
15	18
16	19
17	20
18	21
19	22
20	23
21	24
22	25
23	26
24 (confezione nuova)	27

NOTA: il volume di UNG aggiunto alla fiala di reagente nella posizione 3 dipende dal numero di test rimanenti nella confezione di reagente e non dal numero di campioni da analizzare. Fare riferimento al Manuale d'impiego Abbott *m2000sp* per le istruzioni relative alla gestione dell'inventario delle confezioni di reagente per amplificazione e per la determinazione del numero di test rimanenti in una confezione di reagente.

26. Le confezioni per amplificazione parziali sono caricate a sinistra delle confezioni di reagente per amplificazione nuove sul piano di lavoro di Abbott *m2000sp*.
27. Accertarsi che le confezioni di reagente per amplificazione siano saldamente posizionate sullo strumento.
28. Selezionare la piastra a pozzetti profondi appropriata che corrisponde all'estrazione di preparazione del campione corrispondente. Avviare il protocollo di dispensazione della miscela master Abbott *m2000sp*. Seguire le istruzioni descritte nel Manuale d'impiego Abbott *m2000sp*, sezione Istruzioni operative.

NOTA: l'operatore non deve riempire manualmente alcun pozzetto vuoto/non riempito della Abbott 96-Well Optical Reaction Plate.

- Al termine dell'estrazione del campione, Abbott *m2000sp* riempie automaticamente tutti i pozzetti vuoti della Abbott 96-Well Optical Reaction Plate con *mElution Buffer* quando sono presenti più di 48 campioni da analizzare in una seduta. Il riempimento della piastra non viene eseguito per sedute che includono 48 campioni o meno.
- Se richiesto dallo strumento, il portareagenti 2 deve rimanere in posizione, contenendo almeno la cartuccia di reagente per l'*mElution Buffer* (portareagenti 2, posizione 6). Se questa cartuccia di reagente è stata rimossa, collocare una nuova cartuccia di reagente con l'etichetta *mElution Buffer* nel portareagenti 2, posizione 6. Il liquido del sistema sarà aggiunto alla cartuccia di reagente e utilizzato per riempire i pozzetti vuoti. Una volta completato questo processo, il sistema continuerà con la dispensazione della miscela master.

NOTA: le istruzioni di sistema per l'uso della funzione di riempimento automatico delle piastre sono reperibili nel Manuale d'impiego Abbott *m2000sp* (n. di listino 09K20 versione 6 o successiva), sezione 5, Istruzioni operative, estrazione del campione - modalità chiusa.

- Il protocollo Abbott *m2000rt* (fase 33) deve essere avviato entro 50 minuti dall'inizio del protocollo di dispensazione della miscela master (fase 28).

NOTA: se la sessione viene abbandonata per qualsiasi motivo dopo la fase 28, è necessario utilizzare una nuova Abbott 96-Well Optical Reaction Plate se si ripete il protocollo di dispensazione della miscela master Abbott *m2000sp* (fase 28).

29. Accendere e inizializzare l'Abbott *m2000rt* nell'area di amplificazione.

NOTA: l'Abbott *m2000rt* richiede 15 minuti per il riscaldamento.

NOTA: togliere i guanti prima di tornare all'area di preparazione dei campioni.

30. Sigillare la Abbott 96-Well Optical Reaction Plate dopo che l'Abbott *m2000sp* ha completato l'aggiunta dei campioni e della miscela master secondo quanto riportato nel Manuale d'impiego Abbott *m2000sp*, sezione Istruzioni operative.

31. Collocare la piastra di reazione ottica sigillata nella Abbott Splash-Free Support Base per il trasferimento all'Abbott *m2000rt*.

Se si utilizza la uracile N-glicosilasi (UNG), attenersi alle istruzioni riportate di seguito:

32. Trasferire la piastra ottica sigillata nella Abbott Splash-Free Support Base e incubare a temperatura ambiente (tra 15°C e 30°C) per 10 minuti. Dopo l'incubazione a temperatura ambiente, trasferire la Abbott 96-Well Optical Reaction Plate posizionata sulla Abbott Splash-Free Support Base allo strumento Abbott *m2000rt*.

33. Collocare la Abbott 96-Well Optical Reaction Plate nello strumento Abbott *m2000rt*. Dalla schermata Protocol (Protocollo), selezionare il file dell'applicazione HCV RNA DBS. Avviare il protocollo come descritto nel Manuale d'impiego Abbott *m2000rt*, sezione Istruzioni operative.

NOTA: si consiglia di trasferire le richieste di analisi tramite l'uso di un CD-ROM o di una connessione di rete con le funzioni di esportazione e importazione del software *m2000sp* e *m2000rt*. Se si crea la richiesta di analisi di Abbott *m2000rt* manualmente, inserire gli ID campione nelle corrispondenti posizioni del vassoio PCR, in base alla griglia "Pozzetti per piastra selezionata" visualizzata nei dettagli della schermata "Risultati piastra PCR" di Abbott *m2000sp*. Consultare la sezione 5 del Manuale d'impiego Abbott *m2000sp*.

34. Se si deve usare una seconda volta una confezione di reagente per amplificazione parziale preparata,appare le 3 fiale di reagente con i tappi conservati o con tappi nuovi (n. di listino 3N20-01) e conservare immediatamente i reagenti a una temperatura di -10°C o inferiore, al riparo dalla luce e in posizione verticale. Smaltire le confezioni di reagente per amplificazione esaurite o utilizzate due volte.

IMPORTANTE: i reagenti per amplificazione che saranno utilizzati una seconda volta devono essere conservati a una temperatura di -10°C o inferiore entro 50 minuti dall'inizio del protocollo di dispensazione della miscela master.

PROCEDURE POST-PROCESSAZIONE

1. Rimuovere la Abbott 96 Deep-Well Plate dal piano di lavoro e smaltirla conformemente al Manuale d'impiego Abbott *m2000sp*.
2. Collocare la Abbott 96-Well Optical Reaction Plate in un sacchetto di plastica sigillabile e smaltirla conformemente al Manuale d'impiego Abbott *m2000rt* insieme ai guanti utilizzati per maneggiarla.
3. Pulire la Abbott Splash-Free Support Base prima del successivo utilizzo, secondo quanto indicato nel Manuale d'impiego Abbott *m2000rt*.

PROCEDURE DI CONTROLLO QUALITÀ

Calibrazione ottica di Abbott *m2000rt*

Fare riferimento al foglietto illustrativo del dosaggio Abbott RealTime HCV (n. di listino 4J86).

Calibrazione del dosaggio

Fare riferimento al foglietto illustrativo del dosaggio Abbott RealTime HCV (n. di listino 4J86).

Per l'analisi di campioni DBS mediante Abbott *m2000sp* e Abbott *m2000rt*: una calibrazione di Abbott RealTime HCV, una volta accettata e memorizzata, può essere utilizzata per 6 mesi. Durante questo periodo, è possibile testare tutti i campioni successivi senza un'ulteriore calibrazione a meno che non si verifichino le seguenti condizioni:

- Viene utilizzato un Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit con un nuovo numero di lotto.
- Viene utilizzato un Abbott *mSample* Preparation System (4 x 24 prep.) con un nuovo numero di lotto.
- Viene installato un nuovo file dell'applicazione Abbott RealTime HCV RNA DBS.

Rilevazione dell'inibizione

Fare riferimento al foglietto illustrativo del dosaggio Abbott RealTime HCV (n. di listino 4J86).

Controlli negativo e positivo

Fare riferimento al foglietto illustrativo del dosaggio Abbott RealTime HCV (n. di listino 4J86).

Monitoraggio del laboratorio per individuare la presenza di contaminazione

Fare riferimento al foglietto illustrativo del dosaggio Abbott RealTime HCV (n. di listino 4J86).

RISULTATI PER I CAMPIONI DBS

Il risultato di concentrazione del campione DBS riportato dalla seduta del protocollo DBS di Abbott *m2000rt* rappresenta la concentrazione del virus HCV nel plasma del campione di sangue intero dal quale è stato ottenuto il campione DBS. Abbott *m2000rt* riporta automaticamente i risultati sulla stazione di lavoro Abbott *m2000rt*. I risultati del dosaggio possono essere riportati in unità internazionali UI/ml o in log UI/ml.

Interpretazione dei risultati

Risultato	Interpretazione
Non rilevato	Target non rilevato
< 2,66 log UI/ml ^a	Rilevato
Da 2,66 a 8,00 log UI/ml	
> 8,00 log UI/ml	> ULQ ^b

^a 462 UI/ml

^b ULQ = limite superiore di determinazione quantitativa

LIMITI DEL METODO

• PER USO DIAGNOSTICO IN VITRO

- L'esecuzione ottimale di questo test richiede raccolta, conservazione e trasporto appropriati del campione al centro di analisi (fare riferimento alla sezione **RACCOLTA, CONSERVAZIONE E TRASPORTO DEL CAMPIONE AL CENTRO DI ANALISI** di questo foglietto illustrativo).
- I campioni di sangue intero raccolti in provette con EDTA possono essere utilizzati per generare campioni DBS testati con il dosaggio Abbott RealTime HCV per DBS. L'uso di altri anticoagulanti con il dosaggio Abbott RealTime HCV per DBS non è stato convalidato.
- L'uso del dosaggio Abbott RealTime HCV per DBS è riservato al personale addestrato alle procedure di preparazione e pre-processazione del campione DBS, a un dosaggio diagnostico molecolare e al sistema Abbott *m2000*.
- Gli strumenti e le procedure di dosaggio riducono il rischio di contaminazione da parte del prodotto di amplificazione. Tuttavia, è necessario tenere sotto controllo la contaminazione da acido nucleico derivante da calibratori, controlli positivi o campioni adottando buone pratiche di laboratorio e rispettando attentamente le procedure specificate in questo foglietto illustrativo.
- Come per qualsiasi analisi diagnostica, i risultati del dosaggio Abbott RealTime HCV per DBS devono essere interpretati in associazione ad altri riscontri clinici e di laboratorio. Non è consentito presumere che un campione per cui si ottiene il risultato "Non rilevato" sia negativo all'HCV-RNA.
- Raccolta, essiccazione, conservazione e trattamento inadeguati dei cartoncini per DBS possono determinare risultati dell'analisi inaccurati.
- È possibile utilizzare cartoncini per DBS Ahlstrom-Munktel TFN e Whatman 903. L'uso di altri cartoncini con il dosaggio Abbott RealTime HCV non è stato convalidato.

CARATTERISTICHE SPECIFICHE DI PRESTAZIONE PER CAMPIONI DBS

Limite di rilevazione (LoD)

Il LoD del dosaggio Abbott RealTime HCV è 462 UI/ml con il tipo di campione DBS. Il LoD è stato determinato testando campioni DBS preparati con una serie di diluizioni dello standard internazionale della OMS per l'RNA del virus dell'epatite C diluito in sangue intero negativo all'HCV. Il test per ciascuna concentrazione di HCV-RNA è stato eseguito con 4 lotti di reagenti di amplificazione nel corso di 3 giorni. I risultati, rappresentativi delle prestazioni di sensibilità analitica del dosaggio Abbott RealTime HCV per DBS, sono riepilogati in **Tabella 1**.

Tabella 1. Limite di rilevazione (LoD) di Abbott RealTime HCV per DBS

HCV-RNA (UI/ml)	Numero di campioni testati	Numero di campioni rilevati	Percentuale di rilevazione
500	84	83	99
400	84	80	95
350	84	75	89
300	84	73	87
150	84	54	64
50	84	26	31

L'analisi probit dei dati ha determinato che la concentrazione di HCV-RNA rilevata da un test su goccia di sangue essiccato con una probabilità del 95% era di 462 UI/ml (CI 95% da 381 a 593 UI/ml).

Intervallo di linearità

Il limite superiore di determinazione quantitativa (ULQ) per il dosaggio Abbott RealTime HCV è di 100 milioni di UI/ml e il limite inferiore di determinazione quantitativa è equivalente al LoD (462 UI/ml) dichiarato per campioni DBS. È stato preparato un pannello DBS costituito da 7 elementi con *armored* RNA di HCV diluito a concentrazioni comprese tra 200 milioni di UI/ml e 316 UI/ml in sangue intero negativo all'HCV. I risultati, rappresentativi della linearità del dosaggio RealTime HCV per DBS, sono mostrati in **Figura 1**.

Il dosaggio Abbott RealTime HCV per DBS risulta essere lineare nell'intervallo di concentrazioni di HCV-RNA testate (da 316 a 200 milioni di UI/ml, da 2,5 a 8,3 log UI/ml).

Specificità

La specificità prevista per il dosaggio Abbott RealTime HCV per DBS è superiore o uguale al 99,5%. La specificità è stata determinata analizzando 119 campioni siero-negativi all'HCV, con 2 lotti di reagenti di amplificazione. La specificità complessiva è risultata del 100% (119/119).

Precisione

La precisione è stata valutata testando un pannello DBS costituito da 6 elementi selezionati per coprire l'intervallo di concentrazione di HCV-RNA da 316 UI/ml a 200 milioni di UI/ml. Gli elementi del pannello con concentrazioni inferiori a 5 log UI/ml (100.000 UI/ml) sono stati preparati con un campione clinico positivo all'HCV diluito in sangue intero negativo all'HCV, mentre gli elementi del pannello con concentrazioni superiori a 5 log UI/ml (100.000 UI/ml) sono stati preparati con *armored* RNA di HCV diluito in sangue intero negativo all'HCV. Ciascun elemento del pannello è stato testato in 5 replicati una volta al giorno per 5 giorni, su 3 coppie di Abbott m2000sp/rt con 3 lotti di reagenti di amplificazione. Sono state determinate le deviazioni standard (DS) all'interno di una seduta, tra sedute e inter-dosaggi (intra-seduta e inter-sedute). Il dosaggio Abbott RealTime HCV per DBS è stato progettato per ottenere una DS inter-dosaggi inferiore o uguale a 0,25 log UI/ml di HCV-RNA per campioni contenenti concentrazioni di HCV da 10.000 a 100 milioni di UI/ml. I risultati, rappresentativi della precisione del dosaggio Abbott RealTime HCV per DBS, sono riepilogati in **Tabella 2**.

Figura 1. Linearità del dosaggio Abbott RealTime HCV per DBS

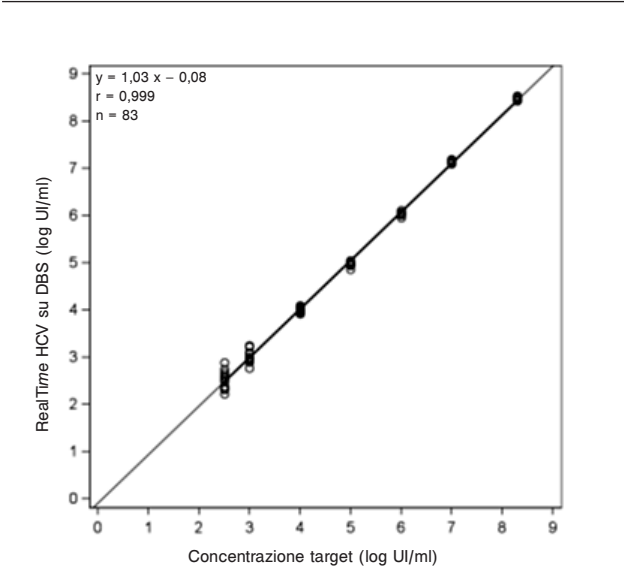


Tabella 2. Precisione del dosaggio Abbott RealTime HCV per DBS

Elemento del pannello	N	Concentrazione media (UI/ml)	Concentrazione media (log UI/ml)	DS componente intra-seduta ^{a,e}	DS componente inter-sedute ^a	DS inter-dosaggi ^{a,b}	DS componente inter-lotti/strumenti ^a	Totale ^{c,e}
1	63 ^d	420	2,62	0,26	0,07	0,27	0,00	0,27
2	75	1.435	3,16	0,23	0,00	0,23	0,09	0,25
3	75	13.211	4,12	0,06	0,04	0,07	0,05	0,09
4	75	395.427	5,60	0,04	0,03	0,05	0,02	0,05
5	75	14.008.770	7,15	0,12	0,04	0,13	0,05	0,14
6	75	316.713.566	8,50	0,04	0,03	0,05	0,05	0,07

^a Le deviazioni standard (DS) sono in log UI/ml.

^b Il valore inter-dosaggi contiene i componenti intra-seduta e inter-sedute.

^c Il totale include i componenti intra-seduta, inter-sedute e inter-lotti/strumenti.

^d La concentrazione media dell'elemento 1 del pannello è inferiore al LLoQ. Le stime di precisione si basano sui replicati quantificati.

^e La DS intra-seduta è anche nota come ripetibilità. La DS totale è anche nota come riproducibilità.

La ripetibilità e la riproducibilità per l'elemento 1 del pannello (vicino al limite inferiore di determinazione quantitativa, LLoQ) erano rispettivamente di 0,26 log UI/ml e 0,27 log UI/ml, e per l'elemento 2 del pannello (vicino al LLoQ) erano rispettivamente di 0,23 log UI/ml e 0,25 log UI/ml. La ripetibilità e la riproducibilità per l'elemento 5 del pannello (vicino al limite superiore di determinazione quantitativa, ULQ) erano rispettivamente di 0,12 log UI/ml e 0,14 log UI/ml e per l'elemento 6 del pannello (vicino al ULQ) erano rispettivamente di 0,04 log UI/ml e 0,07 log UI/ml.

Correlazione

È stato effettuato un confronto della determinazione quantitativa dell'HCV-RNA tra il dosaggio Abbott RealTime HCV con uso di campioni DBS e il dosaggio comparativo con marchio CE, il test Abbott RealTime HCV con uso di plasma umano. Sono stati inclusi nell'analisi campioni di plasma e DBS ottenuti da un totale di 346 soggetti (raccolti e analizzati in Georgia, Camerun e Grecia). Sono stati testati con il dosaggio Abbott RealTime HCV per DBS sia campioni DBS preparati da sangue venoso che campioni DBS preparati da sangue capillare (digitopuntura). I risultati quantitativi ottenuti da campioni che rientravano negli intervalli dinamici dei dosaggi sono stati analizzati mediante il metodo di regressione lineare dei minimi quadrati e il metodo di bias di Bland-Altman (per confronto tra DBS capillare e plasma N=346, per confronto tra DBS venoso e plasma N=346 e per confronto tra DBS capillare e DBS venoso N=345). Per la correlazione tra DBS capillare e plasma, il coefficiente di correlazione era 0,843, la pendenza era 0,91 (CI 95% da 0,85 a 0,97) e l'intercetta era 0,48 log UI/ml (CI 95% da 0,12 a 0,84) (**Figura 2**). Per la correlazione tra DBS venoso e plasma, il coefficiente di correlazione era 0,840, la pendenza era 0,94 (CI 95% da 0,88 a 1,00) e l'intercetta era 0,31 log UI/ml (CI 95% da -0,07 a 0,69) (**Figura 3**). Per la correlazione tra DBS capillare e DBS venoso, il coefficiente di correlazione era 0,943, la pendenza era 0,91 (CI 95% da 0,87 a 0,94) e l'intercetta era 0,53 log UI/ml (CI 95% da 0,33 a 0,72) (**Figura 4**). Inoltre, i grafici di Bland-Altman per questi stessi confronti sono presentati in **Figura 5**, **Figura 6** e **Figura 7**. La differenza di bias media tra DBS capillare e plasma è risultata -0,05 log UI/ml. La differenza di bias media tra DBS venoso e plasma è risultata -0,04 log UI/ml. La differenza di bias media tra DBS capillare e DBS venoso è risultata -0,02 log UI/ml.

Il bias previsto tra DBS capillare e plasma è stato valutato a livelli target di LLoQ e ULQ. Inoltre, il bias previsto tra DBS venoso e plasma è stato valutato a livelli target di LLoQ e ULQ. Fare riferimento alla **Tabella 3** per il riepilogo del bias previsto.

Tabella 3. Bias previsto tra DBS (capillare o venoso) e plasma al LLoQ e al ULQ

Confronto	Livello	Livello target di carica virale (log UI/ml)	Bias previsto (log UI/ml)
DBS capillare vs plasma	LLoQ	2,66	0,24
	ULQ	8,00	-0,26
DBS venoso vs plasma	LLoQ	2,66	0,15
	ULQ	8,00	-0,17

Figura 2. DBS capillare e plasma

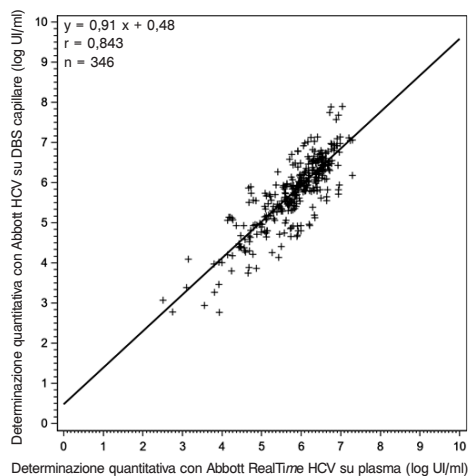


Figura 5. DBS capillare rispetto a plasma

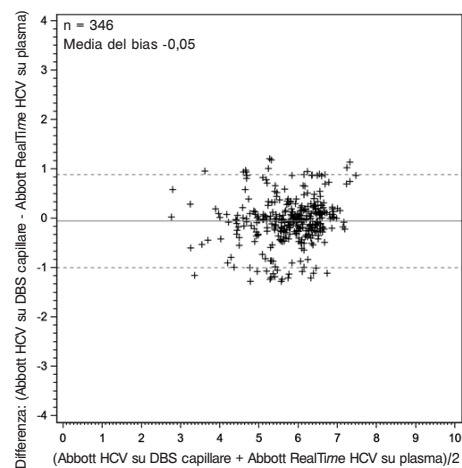


Figura 3. DBS venoso e plasma

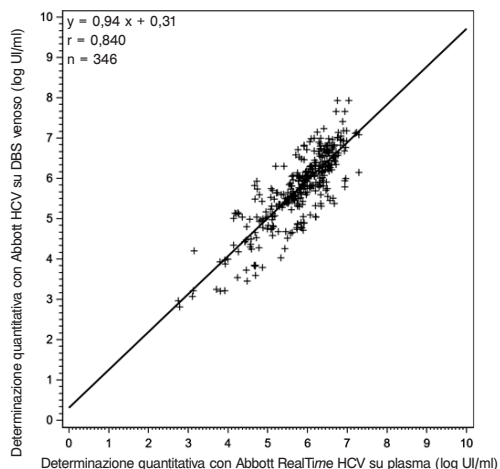


Figura 6. DBS venoso rispetto a plasma

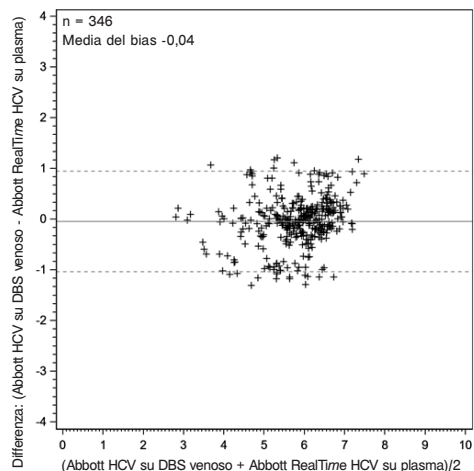


Figura 4. DBS capillare e DBS venoso

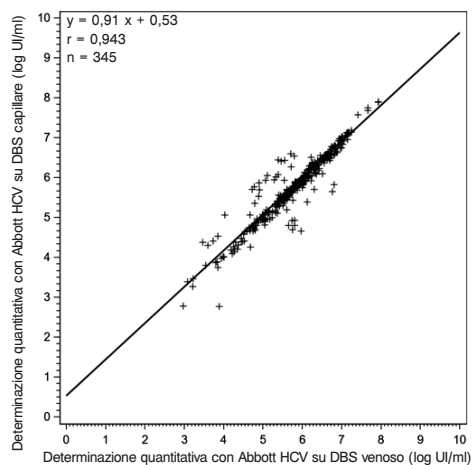
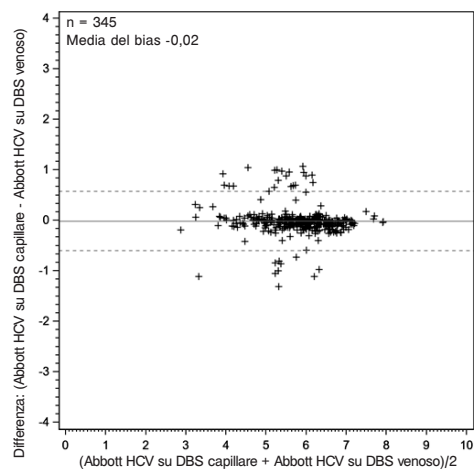


Figura 7. DBS capillare rispetto a DBS venoso



BIBLIOGRAFIA

1. Gower E, Estes C, Blach S, Razavi-Shearer K, Razavi H. Global epidemiology and genotype distribution of the hepatitis C virus infection. *J Hepatol.* 2014;61(1 Suppl):S45-S57. doi:10.1016/j.jhep.2014.07.027
2. Guidelines for the screening, care and treatment of persons with chronic hepatitis C infection. World Health Organization (WHO); updated April 2016. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/205035>
3. AASLD/IDSA HCV guidance panel. *Recommendations for testing, managing, and treating hepatitis C.* AASLD/IDSA; updated October 24, 2022. <https://www.hcvguidelines.org/>
4. European Association for the Study of the Liver. EASL Recommendations on Treatment of Hepatitis C 2018. *J Hepatol.* 2018;69(2):461-511. doi:10.1016/j.jhep.2018.03.026
5. Miller MH, Agarwal K, Austin A, et al. Review article: 2014 UK consensus guidelines - hepatitis C management and direct-acting anti-viral therapy. *Aliment Pharmacol Ther.* 2014;39(12):1363-1375. doi:10.1111/apt.12764
6. Davis GL, Esteban-Mur R, Rustgi V, et al. Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin for the treatment of relapse of chronic hepatitis C. International Hepatitis Interventional Therapy Group. *N Engl J Med.* 1998;339(21):1493-1499. doi:10.1056/NEJM199811193392102
7. Manns MP, McHutchison JG, Gordon SC, et al. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial. *Lancet.* 2001;358(9286):958-965. doi:10.1016/s0140-6736(01)06102-5
8. Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR, et al. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med.* 2002;347(13):975-982. doi:10.1056/NEJMoa020047
9. Hadziyannis SJ, Sette H Jr, Morgan TR, et al. Peginterferon-alpha2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose. *Ann Intern Med.* 2004;140(5):346-355. doi:10.7326/0003-4819-140-5-200403020-00010
10. Orlent H, Deltenre P, Francque S, et al. Update of the Belgian Association for the Study of the Liver guidelines for the treatment of chronic hepatitis C genotype 1 with protease inhibitors. *Acta Gastroenterol Belg.* 2012;75(2):245-259.
11. Halfon P, Bourlière M, Pénaranda G, Khiri H, Ouzan D. Real-time PCR assays for hepatitis C virus (HCV) RNA quantitation are adequate for clinical management of patients with chronic HCV infection. *J Clin Microbiol.* 2006;44(7):2507-2511. doi:10.1128/JCM.00163-06
12. Kowdley KV, Nelson DR, Lalezari JP, et al. On-treatment HCV RNA as a predictor of sustained virological response in HCV genotype 3-infected patients treated with daclatasvir and sofosbuvir. *Liver Int.* 2016;36(11):1611-1618. doi:10.1111/liv.13165
13. Yoshida EM, Sulkowski MS, Gane EJ, et al. Concordance of sustained virological response 4, 12, and 24 weeks post-treatment with sofosbuvir-containing regimens for hepatitis C virus. *Hepatology.* 2015;61(1):41-45. doi:10.1002/hep.27366
14. WHO Guidelines on Hepatitis B and C Testing. World Health Organization (WHO); 2017. <https://www.who.int/publications/i/item/9789241549981>
15. Saldanha J, Heath A, Aberham C, et al. World Health Organization collaborative study to establish a replacement WHO international standard for hepatitis C virus RNA nucleic acid amplification technology assays. *Vox Sang.* 2005;88(3):202-204. doi:10.1111/j.1423-0410.2005.00606.x

ASSISTENZA TECNICA

Per ricevere assistenza tecnica i clienti negli Stati Uniti possono contattare Abbott Technical Services al numero 1-800-553-7042. Al di fuori degli Stati Uniti contattare il numero +49-6122-580 o visitare il sito Abbott all'indirizzo www.molecular.abbott.

SINTESI RELATIVA ALLA SICUREZZA E ALLE PRESTAZIONI

Una sintesi relativa alla sicurezza e alle prestazioni (Summary of Safety and Performance - SSP) di questo dispositivo è disponibile all'indirizzo <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>. Qui vengono raccolte le sintesi (SSP) dopo il lancio della banca dati europea dei dispositivi medici (European Database on Medical Devices). Cercare il dispositivo utilizzando l'UDI-DI riportato sulla confezione esterna del dispositivo.

Abbott RealTime HCV è importato nell'Unione europea da Abbott Diagnostics GmbH, con sede in Max-Planck- Ring 2, 65205 Wiesbaden, Germany



Abbott Molecular Inc.
1300 East Touhy Avenue
Des Plaines, IL 60018 USA



Abbott GmbH
Max-Planck-Ring 2
65205 Wiesbaden, Germany

© 2020, 2024 Abbott. Tutti i diritti riservati.

51-608440/R3

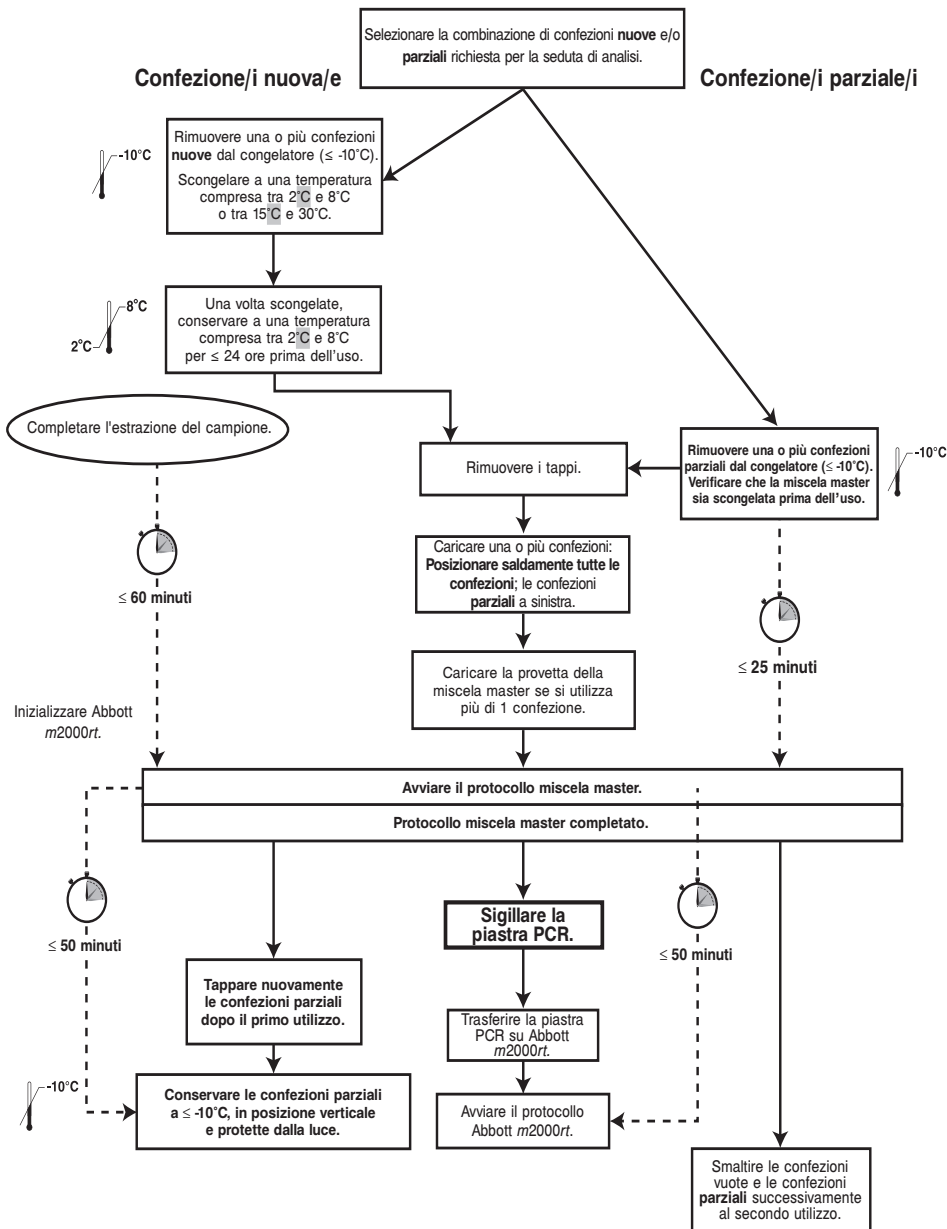
Agosto 2024

APPENDICE 1. PANORAMICA DELLA FUNZIONE DI RIUTILIZZO DEL REAGENTE PER AMPLIFICAZIONE ABBOTT REALTIME HCV

La funzione di riutilizzo del reagente per amplificazione consente l'uso di una confezione di reagente per amplificazione e di controllo interno (IC) per un totale di 2 volte. Le confezioni di reagente per amplificazione che non sono ancora state utilizzate per preparare la miscela master sono chiamate **nuove**. Le confezioni di reagente per amplificazione che sono state utilizzate una volta e contengono miscela master preparata sono chiamate **parziali**. Per ulteriori dettagli, fare riferimento alle istruzioni fornite nel presente manuale.

Condizioni di conservazione (confezioni di reagente per amplificazione e fiale di controllo interno)		
Tipo di confezione	Temperatura di conservazione	Tempo di conservazione
Confezioni nuove	-10°C o inferiore	Fino alla data indicata sull'etichetta
IC nuovo	-10°C o inferiore	Fino alla data indicata sull'etichetta
Confezioni parziali	-10°C o inferiore (al riparo dalla luce)	Fino a 14 giorni dopo il primo utilizzo
IC parziale	-10°C o inferiore	Fino a 14 giorni dopo il primo utilizzo

- Se si utilizza UNG per la procedura di controllo della contaminazione, fare riferimento alle fasi 25 e 32 del protocollo di dosaggio per le istruzioni specifiche.



- Le confezioni di reagente per amplificazione idonee al riutilizzo devono avere un numero di serie a 6 cifre sopra il codice a barre.
- Le confezioni di reagente per amplificazione **parziali** possono essere utilizzate solamente una seconda volta sullo stesso strumento utilizzato per il primo utilizzo. L'utilizzo di queste confezioni su uno strumento diverso genera un errore di processazione che può ritardare la seduta di analisi.
- È possibile utilizzare insieme confezioni **parziali** e **nuove** di reagente per amplificazione. Tutte le confezioni di reagente per amplificazione utilizzate sullo strumento per una seduta devono avere lo stesso numero di lotto.

Abbott RealTime HCV

Suplement for Dried Blood Spot (DBS)

pt

GTIN

REF

04J86-010

IVD

51-608440/R3

REF 04J86-010

51-608440/R3

NOTA: Alterações assinaladas

Legenda dos símbolos utilizados

GTIN

Número mundial de identificação de item comercial

REF

Número de referência

IVD

Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*



Tempo máximo permitido



Limite superior de temperatura



Restrições de temperatura

EC REP

Mandatário na Comunidade Europeia/União Europeia



Fabricante

SERVIÇO DE APOIO AO CLIENTE:

CONTACTAR O SEU REPRESENTANTE ABBOTT

Ler atentamente estas instruções de utilização antes da utilização do produto. As instruções de utilização têm de ser rigorosamente cumpridas. A fiabilidade dos resultados do ensaio não poderá ser assegurada em caso de desvios a estas instruções de utilização.

Estas instruções de utilização são um suplemento às instruções de utilização do ensaio Abbott RealTime HCV (Nº de Lista 4J86), especificamente para o tipo de amostra de sangue em papel de filtro (DBS - dried blood spot).

AVISO AO UTILIZADOR

Qualquer incidente grave associado a este dispositivo deve ser comunicado ao fabricante e às entidades competentes do Estado membro onde o utilizador e/ou o doente tem estabelecimento permanente. Para comunicações ao fabricante, consultar os dados para contacto na secção [Serviço ao cliente](#) ou Assistência técnica destas instruções.

NOME

Abbott RealTime HCV

FINALIDADE DE USO PARA DBS

O Abbott RealTime HCV é um ensaio, para utilização *in vitro*, de transcriptase reversa associada à reação em cadeia da polimerase (RT-PCR) para a quantificação de ARN viral da hepatite C (ARN do HCV) em sangue total aplicado em cartões para criar sangue em papel de filtro (DBS) (ou seja, obtidos através de punção venosa ou de sangue capilar) de indivíduos infetados pelo HCV. O ensaio Abbott RealTime HCV destina-se a ser utilizado como meio auxiliar na gestão de doentes infetados pelo HCV que se encontram a receber terapêutica antiviral. O ensaio Abbott RealTime HCV não se destina a ser utilizado para rastreio do HCV em doadores de sangue, plasma, soro ou tecido, nem se destina a ser utilizado como teste de diagnóstico para confirmar a presença de infeção pelo HCV.

UTILIZADOR PREVISTO

Os utilizadores previstos do ensaio Abbott RealTime HCV são profissionais de laboratório.

RESUMO E EXPLICAÇÃO DO TESTE

O vírus da hepatite C (HCV) é uma das principais causas da doença hepática. Estima-se que cerca de 1,1% da população apresente infeção crónica pela hepatite C¹ e morram aproximadamente 700.000 pessoas todos os anos por doença hepática associada à hepatite C.² O HCV é um vírus de ARN de cadeia positiva e é transmitido principalmente através do uso de drogas intravenosas e de produtos de sangue. Aproximadamente 55 a 85% dos indivíduos infetados com o HCV desenvolvem hepatite crónica, sendo que cerca de 30% dos indivíduos com infeção crónica acabam por desenvolver cirrose.¹ Nos doentes com cirrose, a incidência de carcinoma hepatocelular é de 2 a 4% por ano.¹

A quantificação do nível de ARN do HCV no sangue periférico demonstrou ser um parâmetro essencial na gestão de diversas terapêuticas anti-HCV.⁶⁻¹³ Com o aparecimento de regimes antivirais de atuação direta, os tratamentos para a infeção por HCV sofreram avanços significativos. O objetivo das terapêuticas anti-HCV consiste em alcançar uma resposta virológica sustentada (RVS), apresentada como a ausência contínua de ARN do HCV detetável.²⁻⁵ Foram utilizadas medições da carga viral do HCV para individualizar períodos de tratamento e terapêuticas orientadas pelo nível de resposta ou para determinar e prever respostas virológicas sustentadas ou não sustentadas de terapêuticas antivirais.²⁻⁵

A maioria do peso global do HCV recai em países de rendimento médio-baixo (PRMB).¹⁴ A identificação de doentes com infeção ativa por HCV é muito limitada nessas áreas com restrição de recursos. O sangue total colhido como sangue em papel de filtro (DBS) pode ser utilizado como uma alternativa ao soro ou plasma para testes de ARN do HCV. O DBS representa uma opção viável que elimina diversas limitações logísticas e técnicas associadas à colheita, processamento, conservação e transporte de soro ou plasma. As diretrizes da Organização Mundial da Saúde (OMS) sobre testes de hepatite C incluem recomendações para utilização de DBS em testes virológicos de HCV realizados em áreas com recursos limitados.¹⁴

O ensaio Abbott RealTime HCV para DBS utiliza tecnologia de transcriptase reversa associada à reação em cadeia da polimerase (RT-PCR) combinada com deteção homogénea de fluorescência em tempo real para a quantificação do ARN do HCV em DBS. A seleção de uma região conservada do genoma do HCV permite a deteção dos genótipos 1 a 6. O ensaio é padronizado relativamente ao 2º Padrão Internacional da OMS para ARN do vírus da hepatite C (código NIBSC 96/798)¹⁵ e os resultados são apresentados em unidades internacionais/ml (UI/ml) ou os seus equivalentes log de base 10.

PRINCÍPIOS BIOLÓGICOS DO PROCEDIMENTO

O ensaio Abbott RealTime HCV para DBS é constituído por 3 kits de reagente:

- Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit
- Abbott RealTime HCV Control Kit
- Abbott RealTime HCV Calibrator Kit

O ensaio Abbott RealTime HCV para DBS utiliza a RT-PCR para gerar o produto amplificado a partir do genoma de ARN do HCV em amostras de DBS humanas. Os passos do ensaio Abbott RealTime HCV para DBS consistem em tratamento pré-analítico de DBS, preparação da amostra, montagem da RT-PCR, amplificação, deteção e apresentação de resultados. O tratamento pré-analítico de DBS é realizado utilizando o Abbott mSample Preparation System DBS Buffer Kit, antes da colocação da amostra no sistema Abbott m2000sp. Após o tratamento pré-analítico de DBS, todos os passos subsequentes são realizados automaticamente pelos sistemas Abbott m2000sp e Abbott m2000rt. Consultar as instruções de utilização do ensaio Abbott RealTime HCV (Nº de Lista 4J86) para obter mais informações sobre a preparação da amostra, montagem da RT-PCR, amplificação e deteção.

UTILIZAÇÃO ALARGADA DE REAGENTE DE AMPLIFICAÇÃO

A funcionalidade opcional de utilização alargada de reagente de amplificação permite que as embalagens de reagente de amplificação e de CI sejam utilizadas num total de 2 vezes. As embalagens de reagente de amplificação contendo *master mix* preparada podem ser conservadas a -10°C ou temperatura inferior, tapadas e ao abrigo da luz, durante um período máximo de até 14 dias antes da segunda utilização. O controlo interno (CI) pode ser conservado tapado a -10°C ou temperatura inferior durante um período máximo de até 14 dias antes da segunda utilização. A segunda utilização não deve exceder o prazo de validade do reagente.

É fornecido um resumo desta funcionalidade no Anexo 1 destas instruções de utilização.

Ao longo destas instruções de utilização, as embalagens de reagente de amplificação e de CI que ainda não foram utilizadas serão designadas como embalagens de reagente de amplificação e CI novos (ou seja, utilização inicial). As embalagens de reagente de amplificação que foram utilizadas uma vez e que contêm *master mix* preparada serão designadas como embalagens de reagente de amplificação parciais. Os frascos de CI que foram utilizados uma vez serão designados como frascos de CI parciais.

EVITAR A CONTAMINAÇÃO COM ÁCIDO NUCLEICO

Consultar as instruções de utilização do ensaio Abbott RealTime HCV (Nº de Lista 4J86).

REAGENTES

Consultar as instruções de utilização do ensaio Abbott RealTime HCV (Nº de Lista 4J86).

AVISOS E PRECAUÇÕES

IVD

Para utilização em diagnóstico *in vitro*

O ensaio Abbott RealTime HCV para DBS não se destina a ser utilizado para rastreio do HCV em doadores de sangue, plasma, soro ou tecido, nem se destina a ser utilizado como teste de diagnóstico para confirmar a presença de infeção pelo HCV.

PRECAUÇÕES DE SEGURANÇA

Consultar as instruções de utilização do ensaio Abbott RealTime HCV (Nº de Lista 4J86). O ensaio Abbott RealTime HCV para DBS só utiliza os equipamentos Abbott m2000sp e Abbott m2000rt.

PRECAUÇÕES ESPECIAIS

Precauções de manuseamento para amostras DBS

O ensaio Abbott RealTime HCV para DBS destina-se a ser utilizado apenas com amostras de sangue total ou DBS, que tenham sido manuseadas e conservadas conforme descrito na secção **COLHEITA, CONSERVAÇÃO E TRANSPORTE DE AMOSTRAS PARA O LOCAL DO ENSAIO**.

Consultar as instruções de utilização do ensaio Abbott RealTime HCV (Nº de Lista 4J86).

Precauções de manuseamento específicas para DBS:

- Assegurar que os cartões DBS estão completamente secos antes da conservação no saco com dessecantes. A aplicação da gota, secagem, conservação e manuseamento inadequados de DBS pode levar a resultados de teste inexatos.
- Para evitar contaminação, utilizar uma ponta de pipeta nova para cada amostra DBS ao empurrar a gota para fora do cartão DBS perfurado. Caso seja utilizado um cartão DBS não perfurado, assegurar que a ferramenta utilizada para excisar a gota é descontaminada antes e depois de entrar em contacto com a amostra DBS.

Zonas de trabalho

Quando o Abbott m2000sp e o Abbott m2000rt são utilizados, só se recomenda a utilização de duas zonas reservadas, a zona de preparação da amostra e a zona de amplificação.

Consultar as instruções de utilização do ensaio Abbott RealTime HCV (Nº de Lista 4J86).

Contaminação por aerossóis

Consultar as instruções de utilização do ensaio Abbott RealTime HCV (Nº de Lista 4J86).

Contaminação e inibição

Consultar as instruções de utilização do ensaio Abbott RealTime HCV (Nº de Lista 4J86).

Contaminação com produto amplificado externo contendo dU

Os laboratórios que utilizam ou que tenham utilizado ensaios de amplificação de HCV que incluam processamento pós-PCR de produto amplificado podem estar contaminados por produto amplificado contendo dU. Essa contaminação pode provocar resultados inexatos no ensaio Abbott RealTime HCV para DBS. Consultar a secção **Monitorizar o laboratório quanto à presença de contaminação** das instruções de utilização do ensaio Abbott RealTime HCV (Nº de Lista 4J86). Quando os controlos negativos são persistentemente reativos ou quando é provável que tenha ocorrido contaminação com produto amplificado do HCV contendo dU, recomenda-se que o laboratório utilize o procedimento de controlo de contaminação com uracilo-N-glicosilase (UNG) caso a descontaminação do laboratório não seja bem sucedida.

CONDIÇÕES DE CONSERVAÇÃO

Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit (Nº de Lista 4J86-90)



-10°C

- As embalagens de reagentes de amplificação Abbott RealTime HCV e frascos de controlo interno (CI) **novos e parciais** têm de ser conservados a -10°C ou temperatura inferior, quando não estão a ser utilizados. Ter o cuidado de evitar o contacto direto da embalagem de reagente de amplificação Abbott RealTime HCV que está a ser utilizada com amostras, calibradores e controlos.
- As embalagens de reagente de amplificação e CI **parciais** têm de ser conservados a -10°C ou temperatura inferior, tapados, na vertical e ao abrigo da luz após a utilização inicial. Se conservadas desta forma, as embalagens de reagente de amplificação **parciais** com *master mix* preparada podem ser utilizadas uma segunda vez no prazo máximo de 14 dias após a utilização inicial. O CI também pode ser utilizado uma segunda vez no período máximo de 14 dias após ser descongelado, se conservado tapado a -10°C ou temperatura inferior. Após 2 utilizações, as embalagens de reagente de amplificação e CI parciais devem ser eliminadas. A segunda utilização não deve exceder o prazo de validade do reagente.

Abbott RealTime HCV Control Kit (Nº de Lista 4J86-80)



-10°C

- Os controlos negativo e positivo Abbott RealTime HCV têm de ser conservados a -10°C ou temperatura inferior.

Abbott RealTime HCV Calibrator Kit (Nº de Lista 4J86-70)



-10°C

- O calibrador A e o calibrador B Abbott RealTime HCV têm de ser conservados a -10°C ou temperatura inferior.

CONDIÇÕES DE TRANSPORTE

Consultar as instruções de utilização do ensaio Abbott RealTime HCV (Nº de Lista 4J86).

INDICAÇÃO DE INSTABILIDADE OU DETERIORAÇÃO DOS REAGENTES

Consultar as instruções de utilização do ensaio Abbott RealTime HCV (Nº de Lista 4J86).

FUNCIONAMENTO DO EQUIPAMENTO

O ficheiro de ensaio do Abbott RealTime HCV para DBS tem de ser instalado nos sistemas Abbott m2000sp e Abbott m2000rt a partir do Abbott RealTime HCV m2000 ROW System Combined Application CD-ROM (Nº de Lista 01L69-040 ou superior) antes da execução do ensaio. Para informação detalhada relativa à instalação do ficheiro de ensaio, consultar a secção Instruções de funcionamento dos manuais de operação do Abbott m2000sp e do Abbott m2000rt.

COLHEITA, CONSERVAÇÃO E TRANSPORTE DE AMOSTRAS PARA O LOCAL DO ENSAIO

Colheita e conservação de amostras

- Para preparar DBS, utilizar sangue capilar ou sangue total em EDTA. O sangue total em EDTA deve ser mantido em condições de temperatura controlada durante a conservação e transporte (2°C a 8°C durante um período máximo de até 48 horas, ou temperatura ambiente não excedendo 30°C durante um período máximo de até 24 horas).

- O sangue total em EDTA colhido para um tubo deve ser bem homogeneizado através de inversões cuidadosas antes de aplicar a gota. Aplicar a gota de sangue em círculos de 12 milímetros no cartão de papel Ahlstrom-Munktel TFN ou Whatman 903, assegurando que o círculo fica totalmente coberto. Recomenda-se que seja utilizado um mínimo de 70 µl de sangue (aproximadamente 3 a 5 gotas de sangue) para cada círculo para assegurar a total cobertura.
- Deixar secar o cartão à temperatura ambiente durante um mínimo de 3 horas. Colocar cada cartão num saco de plástico selável com embalagens de dessecante (pelo menos, 2 a 3 embalagens de dessecante).
- Os cartões de amostras DBS podem ser conservados nas condições indicadas na tabela abaixo antes do processamento do ensaio.

Conservação do cartão de amostra DBS

Condições	Tempo máximo de conservação
2°C a 30°C à humidade ambiente	18 semanas
≤37°C à humidade ambiente	12 semanas
≤45°C à humidade ambiente	8 semanas
≤38°C a humidade elevada (≤ 85%)	4 semanas
-25°C a -15°C à humidade ambiente	18 semanas
-70°C ou temperatura inferior à humidade ambiente	18 semanas

Transporte de amostras

Transportar as amostras de acordo com a temperatura de conservação recomendada e durante os períodos apresentados na secção **Colheita e conservação de amostras** acima. Para o transporte nacional e internacional, as amostras devem ser embaladas e rotuladas de acordo com a legislação nacional e internacional aplicável ao transporte de amostras clínicas, de diagnóstico ou biológicas.

PROCEDIMENTO DO ENSAIO ABBOTT REALTIME HCV PARA DBS

Material necessário mas não incluído

- Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit (Nº de Lista 4J86-90)
- Abbott RealTime HCV Calibrator Kit (Nº de Lista 4J86-70)
- Abbott RealTime HCV Control Kit (Nº de Lista 4J86-80)

Para a zona de preparação da amostra do equipamento Abbott m2000sp

- Abbott mSample Preparation System DBS Buffer Kit (Nº de Lista 09N02-001)
- Equipamento Abbott m2000sp (Nº de Lista 09K14-01, 09K14-02)
- Abbott mSample Preparation System (4 × 24 Preps) (Nº de Lista 04J70-24)
- Pipetas de precisão calibradas com capacidade para dispensar 20 a 1000 µl (podem ser necessárias pipetas de precisão calibradas com capacidade para dispensar <20 µl caso se utilize UNG.)
- Pontas de pipeta com filtro contra aerossóis para pipetas de 20 a 1000 µl (podem ser necessárias pontas de pipeta com filtro contra aerossóis com capacidade para dispensar <20 µl caso se utilize UNG.)
- Agitador tipo vórtex
- Tubo master mix (Nº de Lista 04J71-80)
- Abbott 96-Deep-Well Plate (Nº de Lista 04J71-30)
- Cuvetes de reação de 5 ml (Nº de Lista 04J71-20)
- Cuvetes de reagente de 200 ml (Nº de Lista 04J71-60)
- Abbott 96-Well Optical Reaction Plate (Nº de Lista 04J71-70)
- Abbott Optical Adhesive Covers (Nº de Lista 04J71-75)
- Abbott Adhesive Cover Applicators (Nº de Lista 9K32-01)
- Abbott Splash-Free Support Base (Nº de Lista 9K31-01)
- Abbott RealTime HCV m2000 ROW System Combined Application CD-ROM (Nº de Lista 01L69-040 ou superior)
- m2000 System 13mm DBS-PoS Set (Nº de Lista 09N03-001)
- Tampas de 15 mm para microfrascos de 1,4 ml (Nº de Lista 03N20-01) opcional
- Uracil-N-glycosylase (UNG)^a (Nº de Lista 6L87-02)

^aSe necessário, de acordo com a secção **Contaminação com produto amplificado externo contendo dU** destas instruções de utilização.

Para a zona de amplificação do equipamento Abbott m2000rt

- Equipamento Abbott m2000rt (Nº de Lista 9K15-01)
- Abbott RealTime HCV m2000 ROW System Combined Application CD-ROM (Nº de Lista 01L69-040 ou superior)
- Abbott m2000rt Optical Calibration Kit (Nº de Lista 04J71-93)

Outros materiais

- Câmara de segurança biológica aprovada para utilização com materiais infecciosos
- Saco selável para cartão DBS
- Embalagem de dessecante para cartão DBS
- Cartão Ahlstrom-Munktel TFN e/ou Whatman 903
- Saco de plástico selável para eliminação da placa de reação de 96 poços
- Água isenta de RNase (Eppendorf ou equivalente)^b
- Tubos de microcentrifuga de grau de biologia molecular de 1,7 ml (Dot Scientific, Inc. ou equivalente)^b
- Zaragatoas com ponta de algodão (Puritan ou equivalente)^b

^bNota: estes 3 itens são utilizados no procedimento para Monitorizar o laboratório quanto à presença de contaminação. Consultar a secção **PROCEDIMENTOS DE CONTROLO DE QUALIDADE nas instruções de utilização do ensaio Abbott RealTime HCV (Nº de Lista 4J86).**

Precauções de procedimento

- Antes de processar as amostras, ler atentamente estas instruções de utilização.
 - Os reagentes de amplificação e o controlo interno podem ser utilizados até 2 vezes, tal como descrito nestas instruções de utilização. Os frascos dos calibradores, controlo negativo, controlo positivo baixo e controlo positivo alto Abbott RealTime HCV destinam-se a utilização única e devem ser eliminados depois de serem utilizados.
 - Utilizar pontas de pipeta com barreira de aerossóis ou pipetas descartáveis apenas 1 vez durante a pipetagem de amostras ou CI. Para evitar a contaminação do corpo da pipeta durante a pipetagem, deve tomar-se cuidado para evitar tocar com o corpo da pipeta no interior do tubo ou recipiente de amostra. Recomenda-se a utilização de pontas de pipeta com filtro alongado contra aerossóis.
 - Os procedimentos de monitorização da presença de produto de amplificação encontram-se na secção **PROCEDIMENTOS DE CONTROLO DE QUALIDADE.**
 - Para reduzir o risco de contaminação do ácido nucleico, limpar e desinfetar salpicos de amostras incluindo a utilização de um desinfetante tuberculicida como o hipoclorito de sódio a 1,0% ou outro desinfetante adequado.
 - Os calibradores e controlos Abbott RealTime HCV têm de ser preparados juntamente com as amostras a serem analisadas. A utilização dos controlos e calibradores Abbott RealTime HCV é essencial para o desempenho do ensaio Abbott RealTime HCV. Consultar a secção **PROCEDIMENTOS DE CONTROLO DE QUALIDADE.**
 - O protocolo de adição da *master mix* do Abbott m2000sp tem de ser iniciado durante a 1 hora seguinte à conclusão da preparação da amostra.
 - Se o protocolo de adição da *master mix* do Abbott m2000sp for cancelado, eliminar os reagentes de amplificação que estavam a ser utilizados pela segunda vez. As embalagens de reagente novas usadas pela primeira vez podem ser guardadas e conservadas para uma utilização posterior, tal como descrito neste manual.
 - O protocolo Abbott m2000rt tem de ser iniciado no período máximo de 50 minutos após o início do protocolo de adição da *master mix*. Se o funcionamento do equipamento Abbott m2000rt não for iniciado no período máximo de 50 minutos, ou se for interrompido ou cancelado, selar a Abbott 96-Well Optical Reaction Plate num saco de plástico adequado e eliminá-la de acordo com as instruções do Manual de Operação do Abbott m2000rt, juntamente com as luvas utilizadas para manusear a placa.
- IMPORTANTE: os reagentes de amplificação que serão utilizados uma segunda vez têm de ser conservados a -10°C ou temperatura inferior no período máximo de 50 minutos após o início do protocolo de adição da *master mix*.**

PROTOCOLO DO ENSAIO: AMOSTRAS DBS UTILIZANDO OS EQUIPAMENTOS ABBOTT *m2000sp* E ABBOTT *m2000rt*

Para uma descrição detalhada de como efetuar um protocolo nos equipamentos Abbott *m2000sp* e Abbott *m2000rt*, consultar as secções Instruções de funcionamento dos manuais de operação do Abbott *m2000sp* e do Abbott *m2000rt*. O protocolo DBS requer a versão 6.0 ou superior do software do Abbott *m2000sp*. Seguir as instruções fornecidas no Manual de Operação do Abbott *m2000sp* (Nº de Lista 09K20, versão 6 ou superior).

Em cada ensaio poderão ser processadas 96 amostras. Um controlo negativo, um controlo positivo baixo e um controlo positivo alto Abbott *RealTime HCV* estão incluídos em cada execução, permitindo assim que seja processado um máximo de 93 amostras DBS por ensaio quando não estão incluídos calibradores. Processar os calibradores e controlos diretamente como amostras líquidas. Os passos 1 a 5 destinam-se exclusivamente a DBS. Não processar amostras de plasma ou soro em nenhum processamento onde seja utilizado o protocolo DBS. Para cada amostra DBS, deve ser utilizado um único Abbott Master Mix Tube durante todo o procedimento de processamento de amostras. Assegurar que as amostras DBS estão rotuladas ao longo do processamento.

1. Encher o Abbott Master Mix Tube com 1,3 ml de tampão *mDBS* do Abbott *mSample Preparation system DBS Buffer Kit* (Nº de Lista 09N02-001).

NOTA: não utilizar *mLysis Buffer* ou qualquer outro reagente para este passo.

2. Segurar o cartão perfurado DBS por cima do Abbott Master Mix Tube.
3. Empurrar o círculo DBS para fora do cartão utilizando uma ponta de pipeta nova, 1 círculo DBS por Abbott Master Mix Tube. Cada DBS deve apresentar um diâmetro de aproximadamente 12 milímetros.

NOTA: UTILIZAR UMA PONTA DE PIPETA NOVA PARA CADA AMOSTRA DBS PARA EVITAR CONTAMINAÇÃO CRUZADA.

Como alternativa, para papel DBS não perfurado, cortar 1 DBS inteiro (aproximadamente 12 milímetros de diâmetro) para cada amostra e transferir para o Abbott Master Mix Tube.

NOTA: Evitar o contacto direto da superfície cortante com amostras DBS. Caso seja necessário, descontaminar a ferramenta utilizada para cortar cada DBS entre amostras, de acordo com as boas práticas de laboratório.

4. Assegurar que o círculo DBS está completamente submerso em tampão *mDBS* batendo no tubo ou utilizando a ponta da pipeta para empurrar o DBS seco para dentro do tampão.

NOTA: se for utilizada uma ponta de pipeta para empurrar o DBS para dentro do tampão, assegurar que a ponta da pipeta não provoca perda de volume do tampão DBS devido a líquido que se aloje na ponta e/ou absorção de tampão pelo filtro da ponta.

5. Agitar manualmente ou fazer girar os tubos de amostra. Não submeter as amostras ao vórtex. Incubar durante 30 minutos (± 2 minutos) à temperatura ambiente.
 6. Entretanto, descongelar os controlos do ensaio e o controlo interno (CI) a uma temperatura entre 15°C e 30°C ou entre 2°C e 8°C. Descongelar os calibradores a uma temperatura entre 15°C e 30°C ou 2°C e 8°C caso apenas se realize um ensaio de calibração.
- NOTA: Depois de descongelados, os controlos, CI e calibradores do ensaio podem ser conservados a 2°C a 8°C durante um período máximo de 24 horas antes de serem utilizados.**

7. Antes de utilizar cada calibrador e cada controlo, submetê-los 3 vezes ao vórtex, durante 2 a 3 segundos. Assegurar que o conteúdo de cada frasco se encontra no fundo, batendo com os frascos contra a bancada para fazer o líquido escorrer para o fundo do frasco. Assegurar que não se formam bolhas ou espuma. Caso isso se verifique, eliminá-las com uma ponta de pipeta esterilizada, utilizando uma ponta nova para cada frasco.
8. Descongelar os reagentes de amplificação a uma temperatura entre 15°C e 30°C ou entre 2°C e 8°C e conservar a uma temperatura entre 2°C e 8°C até serem necessários para o procedimento de amplificação da *master mix*.

9. Selecionar embalagens de reagente de amplificação **novas** e/ou **parciais** a serem utilizadas no processamento. Consultar o Manual de Operação Abbott *m2000sp* (Nº de Lista 09K20, versão 6 ou superior), secção Instruções de funcionamento, para obter instruções relativas à gestão do inventário de embalagens de reagente de amplificação. As embalagens de reagente de amplificação têm de ter o mesmo número de lote. Descongelar os reagentes de amplificação **novos** a uma temperatura entre 15°C e 30°C ou entre 2°C e 8°C e conservá-los a 2°C a 8°C até serem necessários para o procedimento da *master mix* de amplificação.

NOTA: Uma vez descongelados, os reagentes de amplificação novos podem ser conservados a uma temperatura entre 2°C e 8°C durante um prazo máximo de 24 horas, se não forem utilizados imediatamente. As embalagens de reagente de amplificação parciais a serem utilizadas uma segunda vez NÃO devem ser conservadas a uma temperatura entre 2°C e 8°C antes da utilização. Estas embalagens devem ser conservadas a -10°C ou temperatura inferior até que sejam necessárias para adição da *master mix*. Uma vez retiradas do congelador, a exposição cumulativa à temperatura ambiente não deve exceder 25 minutos, incluindo as ocasiões em que as embalagens foram retiradas do local de conservação, mas não foram utilizadas. Se forem excedidos 25 minutos, eliminar as embalagens de reagente de amplificação parciais.

A tabela que se segue apresenta o número de reagentes de preparação de amostras e frascos de controlo interno necessários com base no número de reações.

Requisitos de reagentes de preparação de amostras e controlo interno				
Reagente	1 a 24 reações	25 a 48 reações	49 a 72 reações	73 a 96 reações
<i>mMicroparticles</i>	1 frasco	2 frascos	2 frascos	2 frascos
<i>mLysis</i>	1 frasco	2 frascos	3 frascos	4 frascos
<i>mWash 1</i>	1 frasco	2 frascos	3 frascos	4 frascos
<i>mWash 2</i>	1 frasco	2 frascos	3 frascos	4 frascos
<i>mElution Buffer</i>	1 frasco	2 frascos	3 frascos	4 frascos
Controlo interno ^a	1 frasco novo ou 1 frasco parcial	1 frasco novo ou 2 frascos parciais	2 frascos novos ou 3 frascos parciais	2 frascos novos ou 4 frascos parciais

^a Pode ser utilizada uma combinação de frascos novos e parciais de controlo interno.

10. Inverter cuidadosamente os frascos de Abbott *mSample Preparation* para assegurar a homogeneização do seu conteúdo. Se forem observados cristais em qualquer um dos frascos de reagente após a sua abertura, deixar o reagente repousar à temperatura ambiente até os cristais desaparecerem. Não utilizar os reagentes antes dos cristais se terem dissolvido.
11. Antes de utilizar, submeter cada CI ao vórtex 3 vezes durante 2 a 3 segundos.
12. Utilizar uma pipeta de precisão calibrada **EXCLUSIVA PARA O CONTROLO INTERNO** para adicionar 500 µl de CI a cada frasco de tampão *mLysis*. Homogeneizar invertendo cuidadosamente o recipiente 5 a 10 vezes para minimizar a formação de espuma. Os frascos de CI parciais podem ser novamente tapados e conservados a -10°C ou temperatura inferior para uma segunda utilização.
13. Colocar os controlos positivos baixo e alto, o controlo negativo, os calibradores, se aplicável, no suporte de amostras do Abbott *m2000sp*.
14. Depois da incubação estar concluída, agitar manualmente ou fazer rodar os tubos de amostras DBS e, depois, colocá-los nos suportes de amostras Abbott *m2000sp*.

NOTA: assegurar que os suportes de amostras Abbott *m2000sp* foram calibrados especificamente para o procedimento DBS Abbott *RealTime HCV*.

15. Colocar os suportes de amostras cuidadosamente para evitar salpicos. Se utilizadas, as etiquetas de código de barras dos tubos devem estar viradas para a direita para permitir a leitura. Certificar que cada tubo fica bem colocado no suporte de amostras, de modo a que o fundo do tubo atinja o fundo do interior do suporte.

16. Colocar os suportes de amostras preenchidos no Abbott *m2000sp*, em posições consecutivas, ficando o primeiro suporte o mais à direita possível na mesa de trabalho e qualquer outro suporte que seja colocado, progressivamente à esquerda do primeiro suporte.
17. Colocar as cuvets de reação de 5 ml no transportador do subsistema de 1 ml do Abbott *m2000sp*.
18. Colocar os reagentes do Abbott *mSample Preparation System* e a Abbott 96 Deep-Well Plate na mesa de trabalho do Abbott *m2000sp*, de acordo com o descrito na secção Instruções de funcionamento do Manual de Operação do Abbott *m2000sp*.
19. No ecrã Protocol, seleccionar o ficheiro de ensaio HCV RNA DBS. Iniciar o protocolo de extração da amostra de acordo com o descrito na secção Instruções de funcionamento do Manual de Operação do Abbott *m2000sp*.
20. Introduzir os valores do calibrador (necessário se não existir uma curva de calibração memorizada no Abbott *m2000rt*) e dos controlos específicos do respetivo lote no ecrã Sample Extraction: Worktable Setup, Calibrator e Control. Os valores específicos do lote são apresentados em cada ficha dos calibradores e controlos do ensaio Abbott RealTime HCV.
21. O protocolo de adição da *master mix* Abbott *m2000sp* (passo 28) tem de ser iniciado no prazo de 1 hora após a conclusão da preparação da amostra.

NOTA: mudar de luvas antes de manusear os reagentes de amplificação.

22. Colocar os reagentes de amplificação e o tubo *master mix* (se necessário) na mesa de trabalho do Abbott *m2000sp* depois de concluída a preparação da amostra. A tabela que se segue apresenta o número de embalagens de reagente de amplificação necessárias com base no número de reações. Se só estiver a ser utilizada 1 embalagem de reagente de amplificação, não é necessário um tubo *master mix*.

Requisitos de embalagem de reagente de amplificação^a

1 a 24 reações	25 a 48 reações	49 a 72 reações	73 a 96 reações
1 se nova; até 4 com embalagens parciais	2 se novas; até 4 com embalagens parciais	3 se novas; até 4 com embalagens parciais	4 embalagens novas ou parciais

^a Consultar o Manual de Operação do Abbott *m2000sp* (Nº de Lista 09K20, versão 6 ou superior) para instruções sobre a gestão do inventário para determinar o número máximo de reações que podem ser testadas com as embalagens parciais selecionadas.

- As embalagens de reagente de amplificação parciais só podem ser utilizadas no mesmo equipamento Abbott *m2000sp* utilizado para a preparação inicial da embalagem de reagente. A utilização de uma embalagem de reagente de amplificação pela segunda vez num equipamento diferente irá resultar num erro, que pode atrasar o processamento.
- As embalagens de reagentes de amplificação parciais e novas podem ser utilizadas em conjunto.

IMPORTANTE: as embalagens de reagente de amplificação parciais devem ser conservadas a -10°C ou temperatura inferior até imediatamente antes da segunda utilização. Confirmar que a *master mix* está descongelada antes de colocar a(s) embalagem(ns) parcial(ais) na mesa de trabalho Abbott *m2000sp*. Uma vez retiradas do local de conservação a -10°C ou temperatura inferior, as embalagens de reagentes de amplificação parciais a serem utilizadas uma segunda vez têm de ser utilizadas no período máximo de 25 minutos ou eliminadas. Isto aplica-se à exposição cumulativa à temperatura ambiente, incluindo as ocasiões em que as embalagens são retiradas do local de conservação, mas não são utilizadas.

23. Assegurar que o conteúdo das embalagens de reagente de amplificação novas se encontra no fundo dos frascos antes de os abrir, batendo com eles na vertical contra a bancada 5 a 10 vezes.
 - Não bater as embalagens de reagente de amplificação parciais a serem utilizadas uma segunda vez. Bater pode resultar na perda de volume da *master mix* na tampa.

24. Retirar as tampas. Se uma embalagem de reagente de amplificação nova for conservada para uma segunda utilização, os frascos têm de ser novamente tapados para conservação. Se planejar voltar a usar as tampas originais para tapar os frascos de reagente, guardar as tampas originais. Se planejar utilizar tampas novas para voltar a tapar os frascos de reagente, as tampas originais podem ser eliminadas.

Se o uracilo-N-glicosilase (UNG) for utilizado para controlo de contaminação, seguir as instruções abaixo.

25. Utilizar uma PIPETA EXCLUSIVA PARA REAGENTES para adicionar o volume especificado de 1 U/μl de UNG (Nº de Lista 6L87-02) ao frasco de reagente na posição 3 de embalagens de reagentes de amplificação novas e parciais. Homogeneizar manualmente pipetando cuidadosamente para cima e para baixo todas as embalagens parciais. Não homogeneizar embalagens novas.
 - Utilizar a tabela abaixo apresentada para determinar o volume de UNG a adicionar ao frasco de reagente na posição 3 das embalagens de reagente de amplificação novas e parciais. O frasco de reagente na posição 3 de uma embalagem de reagente nova contém a enzima rTth de polimerase termoestável. O frasco de reagente na posição 3 de uma embalagem de reagente parcial contém a *master mix*.

Volume de UNG a adicionar ao frasco de reagente na posição 3 de cada embalagem de reagente de amplificação

Testes remanescentes na embalagem	Adicionar este volume de UNG (μl)
1	5
2	6
3	7
4	8
5	9
6	10
7	11
8	12
9	13
10	13
11	14
12	15
13	16
14	17
15	18
16	19
17	20
18	21
19	22
20	23
21	24
22	25
23	26
24 (embalagem nova)	27

NOTA: o volume de UNG adicionado ao frasco de reagente na posição 3 depende do número de testes remanescentes na embalagem de reagente e não do número de amostras a serem processadas. Consultar o Manual de Operação do Abbott *m2000sp* para obter instruções relativas à gestão do inventário de embalagens de reagente de amplificação e sobre como determinar o número de testes remanescentes numa embalagem de reagente.

26. As embalagens de amplificação parciais são colocadas à esquerda das embalagens de reagente de amplificação novas na mesa de trabalho do Abbott *m2000sp*.
27. Assegurar que as embalagens de reagente de amplificação estão bem colocadas no equipamento.

28. Selecionar a placa de poços fundos adequada que corresponda à respetiva extração de preparação da amostra. Iniciar o protocolo de adição da *master mix* do Abbott *m2000sp*. Seguir as instruções descritas na secção Instruções de funcionamento do Manual de Operação do Abbott *m2000sp*.

NOTA: o operador não deve encher manualmente quaisquer poços vazios/não cheios na Abbott 96-Well Optical Reaction Plate.

- Depois da extração da amostra estar concluída, o Abbott *m2000sp* enche automaticamente quaisquer poços vazios na Abbott 96-Well Optical Reaction Plate com tampão *mElution*, quando existem mais de 48 amostras processadas num ensaio. O enchimento da placa não é efetuado para ensaios contendo 48 amostras ou menos.
- Se solicitado pelo equipamento, o transportador de reagentes 2 deve permanecer no lugar, contendo, no mínimo, a cubete de reagente para *mElution Buffer* (transportador de reagentes 2, localização 6). Se esta cubete de reagente foi retirada, colocar uma nova cubete de reagente com o rótulo do *mElution Buffer* no transportador de reagentes 2, localização 6. O líquido do sistema irá ser adicionado à cubete de reagente e utilizado para encher poços vazios. Quando este processo estiver concluído, o sistema irá continuar com a adição da *master mix*.

NOTA: as instruções do sistema para utilização da funcionalidade de enchimento automático de placas encontram-se no Manual de Operação do Abbott *m2000sp* (Nº de Lista 09K20, versão 6 ou superior), secção 5, Instruções de funcionamento, Extração da amostra - modo fechado.

- O protocolo Abbott *m2000rt* (passo 33) tem de ser iniciado no prazo de 50 minutos a partir do início do protocolo de adição da *master mix* (passo 28).

NOTA: se o processamento for cancelado por qualquer motivo após o passo 28, tem de ser utilizada uma nova Abbott 96-Well Optical Reaction Plate caso o protocolo de adição da *master mix* Abbott *m2000sp* (passo 28) seja repetido.

29. Ligar e inicializar o equipamento Abbott *m2000rt* na zona de amplificação.

NOTA: o Abbott *m2000rt* demora 15 minutos a aquecer.

NOTA: retirar as luvas antes de voltar à zona de preparação da amostra.

30. Selar a Abbott 96-Well Optical Reaction Plate depois do equipamento Abbott *m2000sp* ter acabado de adicionar as amostras e a *master mix*, conforme indicado no Manual de Operação do Abbott *m2000sp*, secção Instruções de funcionamento.

31. Colocar a placa de reação ótica selada na Abbott Splash-Free Support Base para transferi-la para o equipamento Abbott *m2000rt*.

Se for utilizado uracilo-N-glicosilase (UNG), seguir as instruções que se seguem:

32. Transferir a placa de reação ótica selada para a Abbott Splash-Free Support Base e incubar à temperatura ambiente (15°C a 30°C) durante 10 minutos. A seguir à incubação à temperatura ambiente, transferir a Abbott 96-Well Optical Reaction Plate na Abbott Splash-Free Support Base para o equipamento Abbott *m2000rt*.

33. Colocar a Abbott 96-Well Optical Reaction Plate no equipamento Abbott *m2000rt*. No ecrã Protocol, seleccionar o ficheiro de ensaio HCV RNA DBS. Iniciar o protocolo tal como descrito no Manual de Operação do Abbott *m2000rt*, secção Instruções de funcionamento.

NOTA: é recomendado que seja efetuado um teste à transferência de programações através da utilização de CD-ROM ou ligação de rede com funcionalidades de exportação e importação do software do *m2000sp* e do *m2000rt*. Caso se criem manualmente programações de teste Abbott *m2000rt*, inserir as ID da amostra nas localizações correspondentes do tabuleiro PCR de acordo com a grelha "Wells for Selected Plate", que se encontra no ecrã detalhado "PCR Plate Results" no Abbott *m2000sp*. Consultar a secção 5 do Manual de Operação Abbott *m2000sp*.

34. Se uma embalagem de reagente de amplificação parcial preparada for utilizada uma segunda vez, tapar os 3 frascos de reagente com tampas novas ou guardadas (Nº de Lista 3N20-01) e conservar os reagentes de imediato a -10°C ou temperatura inferior, ao abrigo da luz e na posição vertical. Eliminar qualquer embalagem de reagente de amplificação que esteja gasta ou que tenha sido utilizada duas vezes.

IMPORTANTE: os reagentes de amplificação que serão utilizados uma segunda vez têm de ser conservados a -10°C ou temperatura inferior no período máximo de 50 minutos após o início do protocolo de adição da *master mix*.

PROCEDIMENTOS PÓS-PROCESSAMENTO

- Retirar a Abbott 96 Deep-Well Plate da mesa de trabalho e eliminá-la de acordo com o Manual de Operação Abbott *m2000sp*.
- Selar a Abbott 96-Well Optical Reaction Plate num saco de plástico e eliminá-la de acordo com o Manual de Operação Abbott *m2000rt*, juntamente com as luvas utilizadas para manusear a placa.
- Antes de voltar a utilizar, limpar a Abbott Splash-Free Support Base, de acordo com o descrito no Manual de Operação Abbott *m2000rt*.

PROCEDIMENTOS DE CONTROLO DE QUALIDADE

Calibração ótica do Abbott *m2000rt*

Consultar as instruções de utilização do ensaio Abbott RealTime HCV (Nº de Lista 4J86).

Calibração do ensaio

Consultar as instruções de utilização do ensaio Abbott RealTime HCV (Nº de Lista 4J86).

Para testes de DBS que utilizem Abbott *m2000sp* e Abbott *m2000rt*: Depois de aceite e memorizada uma calibração Abbott RealTime HCV, esta pode ser utilizada durante 6 meses. Durante este período, todas as amostras subsequentes podem ser analisadas sem outra calibração, exceto se:

- for utilizado um Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit com um novo número de lote.
- for utilizado um Abbott *mSample Preparation System* (4 x 24 Preps) com um novo número de lote.
- for instalado um ficheiro de ensaio Abbott RealTime HCV RNA DBS novo.

Deteção da inibição

Consultar as instruções de utilização do ensaio Abbott RealTime HCV (Nº de Lista 4J86).

Controlos negativo e positivo

Consultar as instruções de utilização do ensaio Abbott RealTime HCV (Nº de Lista 4J86).

Monitorização do laboratório quanto à presença de contaminação

Consultar as instruções de utilização do ensaio Abbott RealTime HCV (Nº de Lista 4J86).

RESULTADOS PARA AMOSTRAS DBS

O resultado da concentração da amostra DBS apresentado a partir do processamento do protocolo para DBS Abbott *m2000rt* representa a concentração de carga viral do HCV em plasma proveniente de amostras de sangue total de onde a amostra DBS foi obtida. O equipamento Abbott *m2000rt* apresenta automaticamente os resultados na estação de trabalho do Abbott *m2000rt*. Os resultados do ensaio podem ser apresentados em unidades internacionais UI/ml ou em log UI/ml.

Interpretação de resultados

Resultado	Interpretação
Não detetado	Alvo não detetado
< 2,66 log UI/ml ^a	Detetado
2,66 a 8,00 log UI/ml	
> 8,00 log UI/ml	> ULQ ^b

^a 462 UI/ml

^b ULQ = limite superior de quantificação

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

PARA UTILIZAÇÃO EM DIAGNÓSTICO *IN VITRO*

- O desempenho ótimo deste ensaio requer a colheita, conservação e transporte adequados para o local do ensaio (consultar a secção **COLHEITA, CONSERVAÇÃO E TRANSPORTE DE AMOSTRAS PARA O LOCAL DO ENSAIO** destas instruções de utilização).
- As amostras de sangue total colhidas para tubos EDTA podem ser utilizadas para gerar DBS que são testadas com o ensaio Abbott RealTime HCV para DBS. A utilização de outros anticoagulantes não foi validada para utilização com o ensaio Abbott RealTime HCV.

- O ensaio Abbott RealTime HCV para DBS só pode ser utilizado por pessoal treinado nos procedimentos de preparação e pré-processamento de DBS, procedimentos dos ensaios de diagnóstico de biologia molecular e no sistema Abbott m2000.
- Os equipamentos e os procedimentos do ensaio reduzem o risco de contaminação pelo produto amplificado. No entanto, a contaminação com ácido nucleico proveniente dos calibradores, controles positivos ou amostras tem de ser controlada por práticas de laboratório adequadas e deverão ser cuidadosamente seguidos os procedimentos especificados nestas instruções de utilização.
- Tal como em todos os testes de diagnóstico, os resultados do ensaio Abbott RealTime HCV para DBS devem ser interpretados juntamente com outras informações clínicas e laboratoriais. Uma amostra com um resultado "Não detetado" não pode ser considerada como negativa para ARN do HCV.
- A colheita, secagem, conservação e manuseamento inadequados de cartões DBS pode levar a resultados de teste inexatos.
- Podem ser utilizados cartões DBS Ahlstrom-Munktel TFN e Whatman 903. A utilização de outros cartões não foi validada para utilização com o ensaio Abbott RealTime HCV.

CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS DE DESEMPENHO PARA AMOSTRAS DBS

Limite de deteção (LoD - Limit of detection)

O LoD do ensaio Abbott RealTime HCV é de 462 UI/ml com o tipo de amostra DBS. O LoD foi determinado analisando amostras DBS preparadas com uma série de diluições do Padrão Internacional da OMS para ARN do vírus da hepatite C diluídas em sangue total negativo para HCV. Foram efetuados testes para cada concentração de ARN do HCV com 4 lotes de reagentes de amplificação ao longo de 3 dias. Os resultados, representativos do desempenho da sensibilidade analítica do ensaio Abbott RealTime HCV para DBS, encontram-se resumidos na **tabela 1**.

Tabela 1. Limite de deteção (LoD) do Abbott RealTime HCV para DBS

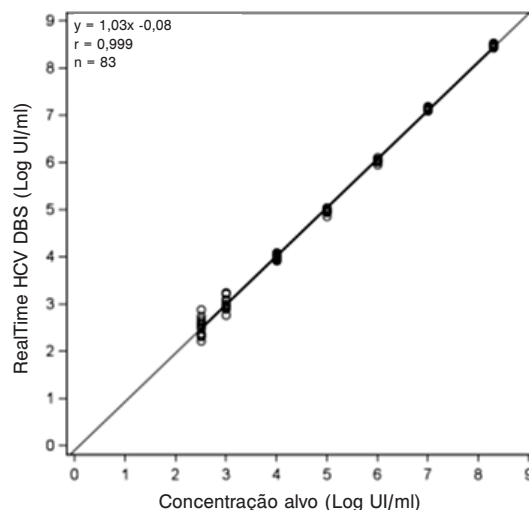
ARN do HCV (UI/ml)	Número testado	Número detetado	Percentagem detetada
500	84	83	99
400	84	80	95
350	84	75	89
300	84	73	87
150	84	54	64
50	84	26	31

A análise Probit dos dados determinou que a concentração de ARN do HCV detetada de sangue em papel de filtro com uma probabilidade de 95% foi de 462 UI/ml (IC 95% 381 a 593 UI/ml).

Intervalo de linearidade

O limite superior de quantificação (ULQ) para o ensaio Abbott RealTime HCV é de 100 milhões de UI/ml e o limite inferior de quantificação é equivalente ao LoD (462 UI/ml) para a especificação de DBS. Um painel de DBS de 7 elementos foi preparado com armoured RNA do HCV diluído em concentrações de 200 milhões de UI/ml a 316 UI/ml em sangue total negativo para HCV. Os resultados, representativos da linearidade do ensaio Abbott RealTime HCV para DBS, são apresentados na **Figura 1**.

Figura 1. Linearidade do ensaio Abbott RealTime HCV para DBS



O ensaio Abbott RealTime HCV para DBS demonstrou ser linear ao longo do intervalo de concentrações de ARN do HCV analisadas (316 a 200 milhões de UI/ml, 2,5 a 8,3 log UI/ml).

Especificidade

A especificidade alvo do ensaio Abbott RealTime HCV para DBS é superior ou igual a 99,5%. A especificidade foi determinada analisando 119 amostras seronegativas para HCV, em 2 lotes de reagentes de amplificação. A especificidade geral foi de 100% (119/119).

Precisão

A precisão foi avaliada analisando um painel de DBS de 6 elementos tendo como alvo o intervalo de concentração de ARN do HCV de 316 UI/ml a 200 milhões de UI/ml. Os elementos do painel com concentrações inferiores a 5 log UI/ml (100.000 UI/ml) foram preparados com amostras clínicas positivas para HCV diluídas em sangue total negativo para HCV, enquanto os elementos do painel com concentrações superiores a 5 log UI/ml (100.000 UI/ml) foram preparados com armoured RNA do HCV diluído em sangue total negativo para HCV. Cada elemento do painel foi analisado em 5 réplicas uma vez por dia durante 5 dias, em 3 pares de Abbott m2000sp/rt com 3 lotes de reagentes de amplificação. Foram calculados desvios padrão (DP) intraensaio, entre-ensaios e interensaios (intraensaio e entre-ensaios). O ensaio Abbott RealTime HCV para DBS foi concebido para apresentar um desvio padrão (DP) interensaios inferior ou igual a 0,25 log UI/ml de ARN do HCV em amostras contendo concentrações de HCV entre 10.000 e 100 milhões UI/ml. Os resultados, representativos da precisão do ensaio Abbott RealTime HCV para DBS, encontram-se resumidos na **tabela 2**.

Tabela 2. Precisão do ensaio Abbott RealTime HCV para DBS

Elemento do painel	N	Concentração média (UI/ml)	Concentração média (log UI/ml)	DP de componentes intraensaio ^{a,e}	DP de componentes entre-ensaios ^a	DP interensaio ^{a,b}	DP de componentes entrelotes/equipamentos ^a	Total ^{c,e}
1	63 ^d	420	2,62	0,26	0,07	0,27	0,00	0,27
2	75	1.435	3,16	0,23	0,00	0,23	0,09	0,25
3	75	13.211	4,12	0,06	0,04	0,07	0,05	0,09
4	75	395.427	5,60	0,04	0,03	0,05	0,02	0,05
5	75	14.008.770	7,15	0,12	0,04	0,13	0,05	0,14
6	75	316.713.566	8,50	0,04	0,03	0,05	0,05	0,07

^a Desvios padrão (DP) são em log UI/ml.

^b Interensaio contém os componentes intraensaio e entre-ensaios.

^c O total inclui os componentes intraensaio, entre-ensaios e entrelotes/equipamentos.

^d A concentração média do elemento de painel 1 é inferior ao LLoQ. As estimativas de precisão são baseadas nas réplicas que são quantificadas.

^e O DP intraensaio também é conhecido como repetibilidade. O DP total também é conhecido como reprodutibilidade.

A repetibilidade e reprodutibilidade para o elemento de painel 1 (próximo do LLoQ) foi de 0,26 log UI/ml e de 0,27 log UI/ml, respectivamente, e para o elemento de painel 2 (próximo do LLoQ) foi de 0,23 log UI/ml e 0,25 log UI/ml, respectivamente. A repetibilidade e reprodutibilidade para o elemento de painel 5 (próximo do ULQ) foi de 0,12 log UI/ml e de 0,14 log UI/ml, respectivamente, e para o elemento de painel 6 (próximo do ULQ) foi de 0,04 log UI/ml e 0,07 log UI/ml, respectivamente.

Correlação

A quantificação de ARN do HCV foi comparada entre o ensaio Abbott RealTime HCV utilizando sangue em papel de filtro e testes do ensaio comparativo com marcação CE, Abbott RealTime HCV, utilizando plasma humano. Amostras de plasma e DBS de um total de 346 indivíduos (colhidas e testadas na Geórgia, Camarões e Grécia) foram incluídas na análise. Tanto o DBS preparado a partir de sangue venoso como o DBS preparado a partir de sangue capilar (picada de dedo) foram analisados com o ensaio Abbott RealTime HCV para DBS. Os resultados quantitativos das amostras que se situaram dentro dos intervalos dinâmicos do ensaio foram analisados através do método de regressão linear de mínimos quadrados e o método de erro sistemático Bland-Altman (DBS capilar versus plasma N=346, DBS venoso versus plasma N=346 e DBS capilar versus DBS venoso N=345). Para a correlação entre DBS capilar e plasma, o coeficiente de correlação foi de 0,843, o declive foi de 0,91 (IC 95% 0,85 a 0,97) e interceção foi de 0,48 log UI/ml (IC 95% 0,12 a 0,84)(**figura 2**). Para a correlação entre DBS venoso e plasma, o coeficiente de correlação foi de 0,840, o declive foi de 0,94 (IC 95% 0,88 a 1,00) e interceção foi de 0,31 log UI/ml (IC 95% -0,07 a 0,69)(**figura 3**). Para a correlação entre DBS capilar e DBS venoso, o coeficiente de correlação foi de 0,943, o declive foi de 0,91 (IC 95% 0,87 a 0,94) e interceção foi de 0,53 log UI/ml (IC 95% 0,33 a 0,72)(**figura 4**). Além disso, os gráficos Bland-Altman para estas mesmas comparações são apresentados na **figura 5**, **figura 6** e **figura 7**. A diferença do erro sistemático médio entre DBS capilar e plasma foi de -0,05 log UI/ml. A diferença do erro sistemático médio entre DBS venoso e plasma foi de -0,04 log UI/ml. A diferença do erro sistemático médio entre DBS capilar e DBS venoso foi de -0,02 log UI/ml.

O erro sistemático previsto entre DBS capilar e plasma foi avaliado nos níveis alvo do LLoQ e do ULQ. Além disso, o erro sistemático previsto entre DBS venoso e plasma foi avaliado nos níveis alvo do LLoQ e do ULQ. Consultar a **tabela 3** para o resumo do erro sistemático previsto.

Tabela 3. Erro sistemático previsto entre DBS (capilar ou venoso) e plasma no LLoQ e no ULQ

Comparação	Nível	Nível alvo de carga viral (log UI/ml)	Erro sistemático previsto (log UI/ml)
DBS capilar vs plasma	LLoQ	2,66	0,24
	ULQ	8,00	-0,26
DBS venoso vs plasma	LLoQ	2,66	0,15
	ULQ	8,00	-0,17

Figura 2. DBS capilar e plasma

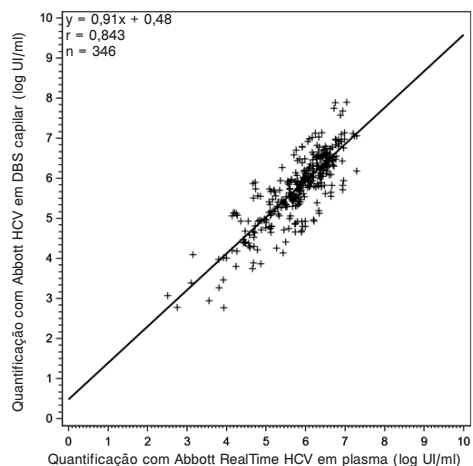


Figura 5. DBS capilar versus plasma

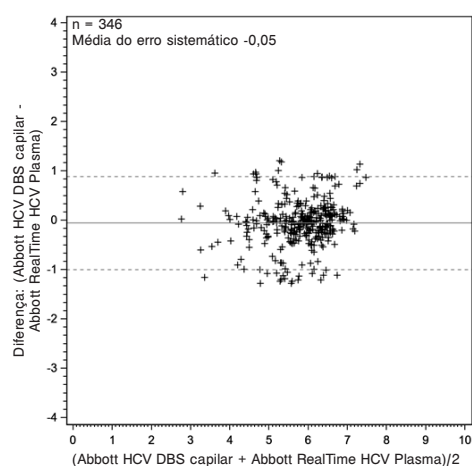


Figura 3. DBS venoso e plasma

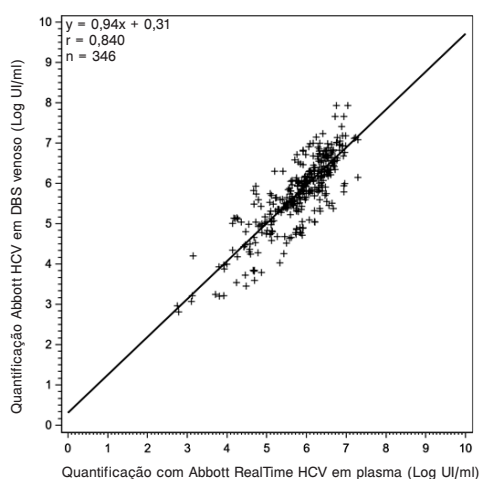


Figura 6. DBS venoso versus plasma

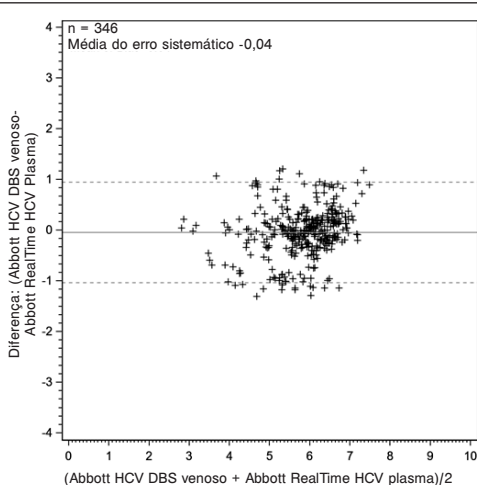


Figura 4. DBS capilar e DBS venoso

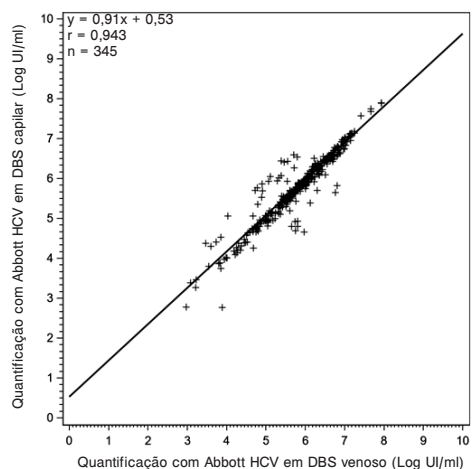
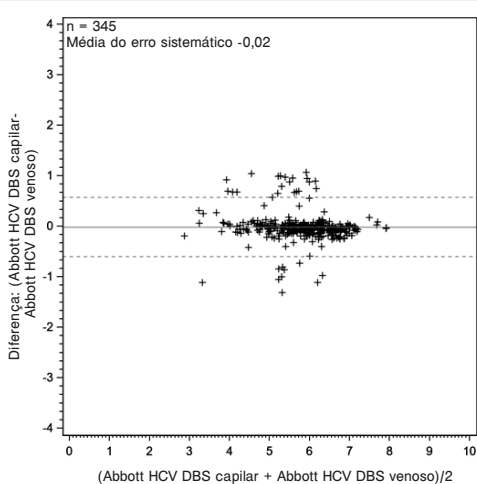


Figura 7. DBS capilar versus DBS venoso



BIBLIOGRAFIA

1. Gower E, Estes C, Blach S, Razavi-Shearer K, Razavi H. Global epidemiology and genotype distribution of the hepatitis C virus infection. *J Hepatol.* 2014;61(1 Suppl):S45-S57. doi:10.1016/j.jhep.2014.07.027
2. Guidelines for the screening, care and treatment of persons with chronic hepatitis C infection. World Health Organization (WHO); updated April 2016. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/205035>
3. AASLD/IDSA HCV guidance panel. *Recommendations for testing, managing, and treating hepatitis C.* AASLD/IDSA; updated October 24, 2022. <https://www.hcvguidelines.org/>
4. European Association for the Study of the Liver. EASL Recommendations on Treatment of Hepatitis C 2018. *J Hepatol.* 2018;69(2):461-511. doi:10.1016/j.jhep.2018.03.026
5. Miller MH, Agarwal K, Austin A, et al. Review article: 2014 UK consensus guidelines - hepatitis C management and direct-acting anti-viral therapy. *Aliment Pharmacol Ther.* 2014;39(12):1363-1375. doi:10.1111/apt.12764
6. Davis GL, Esteban-Mur R, Rustgi V, et al. Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin for the treatment of relapse of chronic hepatitis C. International Hepatitis Interventional Therapy Group. *N Engl J Med.* 1998;339(21):1493-1499. doi:10.1056/NEJM199811193392102
7. Manns MP, McHutchison JG, Gordon SC, et al. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial. *Lancet.* 2001;358(9286):958-965. doi:10.1016/s0140-6736(01)06102-5
8. Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR, et al. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med.* 2002;347(13):975-982. doi:10.1056/NEJMoa020047
9. Hadziyannis SJ, Sette H Jr, Morgan TR, et al. Peginterferon-alpha2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose. *Ann Intern Med.* 2004;140(5):346-355. doi:10.7326/0003-4819-140-5-200403020-00010
10. Orlent H, Deltenre P, Francque S, et al. Update of the Belgian Association for the Study of the Liver guidelines for the treatment of chronic hepatitis C genotype 1 with protease inhibitors. *Acta Gastroenterol Belg.* 2012;75(2):245-259.
11. Halfon P, Bourlière M, Pénaranda G, Khiri H, Ouzan D. Real-time PCR assays for hepatitis C virus (HCV) RNA quantitation are adequate for clinical management of patients with chronic HCV infection. *J Clin Microbiol.* 2006;44(7):2507-2511. doi:10.1128/JCM.00163-06
12. Kowdley KV, Nelson DR, Lalezari JP, et al. On-treatment HCV RNA as a predictor of sustained virological response in HCV genotype 3-infected patients treated with daclatasvir and sofosbuvir. *Liver Int.* 2016;36(11):1611-1618. doi:10.1111/liv.13165
13. Yoshida EM, Sulkowski MS, Gane EJ, et al. Concordance of sustained virological response 4, 12, and 24 weeks post-treatment with sofosbuvir-containing regimens for hepatitis C virus. *Hepatology.* 2015;61(1):41-45. doi:10.1002/hep.27366
14. WHO Guidelines on Hepatitis B and C Testing. World Health Organization (WHO); 2017. <https://www.who.int/publications/i/item/9789241549981>
15. Saldanha J, Heath A, Aberham C, et al. World Health Organization collaborative study to establish a replacement WHO international standard for hepatitis C virus RNA nucleic acid amplification technology assays. *Vox Sang.* 2005;88(3):202-204. doi:10.1111/j.1423-0410.2005.00606.x

ASSISTÊNCIA TÉCNICA

Para assistência técnica, contactar os serviços técnicos Abbott através do número de telefone 800 849 228 ou visitar o sítio do Abbott em www.molecular.abott.

DECLARAÇÃO DO RESUMO DA SEGURANÇA E DO DESEMPENHO

Está disponível um resumo da segurança e desempenho (SSP) para este dispositivo em <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>. Esta é a localização do SSP após o lançamento da Base de Dados Europeia sobre Dispositivos Médicos. Procurar o dispositivo utilizando o UDI-DI fornecido na embalagem exterior do dispositivo.

O Abbott RealTime HCV é importado para a União Europeia por Abbott Diagnostics GmbH, Max-Planck-Ring 2, 65205 Wiesbaden, Alemanha



Abbott Molecular Inc.
1300 East Touhy Avenue
Des Plaines, IL 60018 USA



Abbott GmbH
Max-Planck-Ring 2
65205 Wiesbaden, Germany



© 2020, 2024 Abbott. Todos os direitos reservados.

51-608440/R3

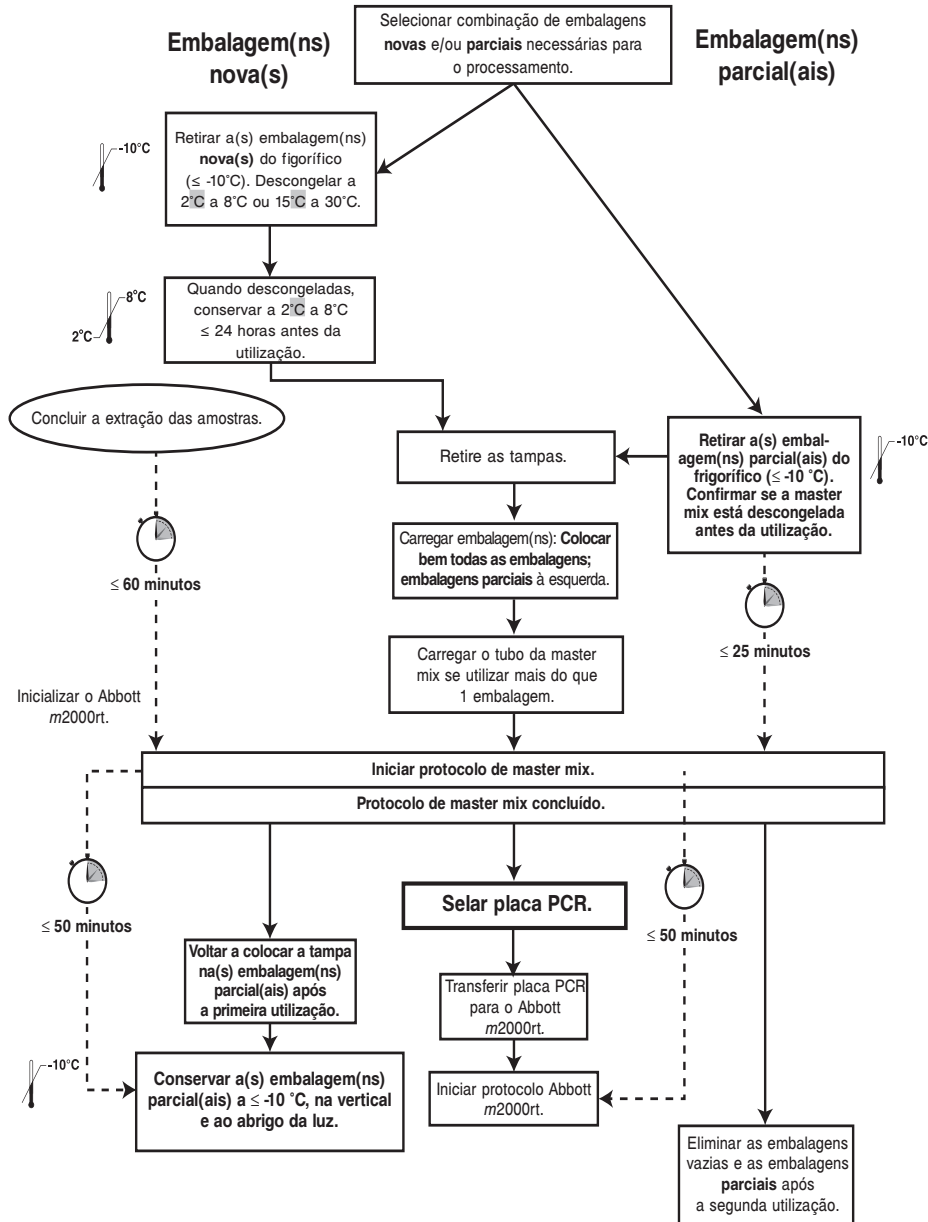
Agosto de 2024

ANEXO 1. RESUMO DA FUNCIONALIDADE DE UTILIZAÇÃO ALARGADA DE REAGENTE DE AMPLIFICAÇÃO ABBOTT REALTIME HCV

A funcionalidade de utilização alargada de reagente de amplificação permite a utilização de uma embalagem de reagente de amplificação e controlo interno (CI) num total de 2 vezes. As embalagens de reagente de amplificação que ainda não foram utilizadas para preparar *master mix* são designadas de embalagens de reagente de amplificação **novas**. As embalagens de reagente de amplificação que foram utilizadas uma vez e que contêm *master mix* preparada serão designadas como embalagens de reagente de amplificação **parciais**. Consultar as instruções fornecidas neste manual para informação adicional.

Condições de conservação (embalagem de reagente de amplificação e frascos de controlo interno)		
Tipo de embalagem	Temperatura de conservação	Tempo de conservação
Embalagens novas	-10°C ou temperatura inferior	Até à data apresentada no rótulo
CI novo	-10°C ou temperatura inferior	Até à data apresentada no rótulo
Embalagens parciais	-10°C ou temperatura inferior (ao abrigo da luz)	Até 14 dias após a utilização inicial
CI parcial	-10°C ou temperatura inferior	Até 14 dias após a utilização inicial

- Se utilizar UNG para o procedimento de controlo de contaminação, consultar o Protocolo do ensaio, passo 25 a 32, para obter instruções específicas.



- As embalagens de reagente de amplificação elegíveis para utilização alargada têm de ter um número de série de 6 dígitos por cima do código de barras.
- As embalagens de reagentes de amplificação **parciais** só podem ser utilizadas uma segunda vez no mesmo equipamento em que foi efetuada a utilização inicial. Utilizá-las num equipamento diferente irá gerar um erro de processamento, o que pode atrasar esse mesmo processamento.
- As embalagens de reagentes de amplificação **parciais** e **novas** podem ser utilizadas em conjunto. Todas as embalagens de reagente de amplificação utilizadas no equipamento para um processamento têm de ter o mesmo número de lote.

Abbott RealTime HCV

Supplement for Dried Blood Spot (DBS)

da

GTIN

REF

04J86-010

IVD

REF 04J86-010

51-608440/R3

51-608440/R3

BEMÆRK: Ændringer er markeret

Symbolforklaring	
	Globalt varenummer
	Bestillingsnummer
	Medicinsk udstyr til in vitro-diagnostik
	Maks. tilladt tid
	Øvre temperaturgrænse
	Temperatur begrænsning
	Autoriseret repræsentant i EF/EU
	Fabrikant

FOR YDERLIGERE OPLYSNINGER KONTAKTES ABBOTT KUNDESERVICE

Denne brugsanvisning skal læses nøje før brug. Anvisningerne i brugsanvisningen skal følges. Hvis anvisningerne ikke følges, kan analyseresultaternes pålidelighed ikke garanteres.

Denne brugsanvisning er et supplement til brugsanvisningen til Abbott RealTime HCV-analysen (bestillingsnr. 4J86), specifikt i forbindelse med prøvetypen tørrede blodpletter (DBS).

MEDDELELSE TIL BRUGEREN

Hvis der finder en alvorlig hændelse sted, der har relation til denne enhed, bør hændelsen rapporteres til fabrikanten og den relevante myndighed i brugerens og/eller patientens hjemland. Se kontaktoplysningerne i afsnittet om **kundeservice** eller teknisk assistance i denne vejledning for at rapportere til fabrikanten.

BETEGNELSE

Abbott RealTime HCV

ANVENDELSE AF DBS

Abbott RealTime HCV-analysen er en in vitro-analyse baseret på revers transskription efterfulgt af polymerasekædereaktion (RT-PCR) til kvantificering af RNA fra hepatitis C-virus (HCV-RNA) i fuldblod, der er opdryppet på kort som tørrede blodpletter (DBS) (dvs. opnået via venepunktur eller kapillærblod) fra HCV-smittede personer. Abbott RealTime HCV-analysen er beregnet til at understøtte behandling af HCV-smittede patienter, der modtager antiviral behandling. Abbott RealTime HCV-analysen må ikke anvendes til at screene blod-, plasma-, serum- eller vævsdonorer for HCV eller som diagnostisk test til at konfirmere forekomsten af HCV-infektion.

MÅLGRUPPE

Abbott RealTime HCV-analysen er beregnet til at blive anvendt af laboranter.

RESUME OG ANALYSEFORKLARING

Hepatitis C-virus (HCV) er en af hovedårsagerne til leversygdomme. Det estimeres, at cirka 1,1% af populationen er kronisk smittet med hepatitis C,¹ og cirka 700.000 personer dør hvert år som følge af hepatitis C-relateret leversygdom.² HCV er et positivt strengt RNA-virus og overføres primært ved intravenøst stofmisbrug og via blodprodukter. Cirka 55 til 85% af HCV-smittede personer udvikler kronisk hepatitis, og op til 30% af kronisk smittede personer udvikler cirrose.¹ Hos patienter

med cirrose er incidensen af hepatocellulært karcinom 2 til 4% pr. år.¹ Kvantitativ måling af HCV-RNA-niveauet i perifert blod har vist sig at være et vigtigt parameter ved håndtering af forskellige anti-HCV-behandlinger.⁶⁻¹³ Med udviklingen af direkte virkende antivirale regimer er behandling af HCV-infektion betydeligt forbedret. Formålet med anti-HCV-behandling er at opnå en vedvarende virologisk respons (SVR), der udtrykkes som kontinuerligt fravær af påviseligt HCV-RNA.²⁻⁵ Målinger af HCV-virusmængden er blevet anvendt til at individualisere behandlingsvarighed og responsstyret behandling eller til at bestemme og forudsige vedvarende eller ikke-vedvarende virologisk respons på antiviral behandling.²⁻⁵

Størstedelen af den globale HCV-byrde findes i lande med lav til mellemstor indkomst (LMIC'er).¹⁴ Identifikation af patienter med aktiv HCV-infektion er meget begrænset i disse ressourcebegrænsede områder. Fuldblod udtaget som tørrede blodpletter (DBS) kan bruges som et alternativ til serum eller plasma ved HCV-RNA-testning. DBS repræsenterer en mulig løsning, der eliminerer mange logistiske og tekniske begrænsninger i forbindelse med indsamling, behandling, opbevaring og forsendelse af serum eller plasma. Retningslinjerne fra Verdenssundhedsorganisationen (WHO) for testning af hepatitis C omfatter anbefalinger for brug af DBS ved HCV-virustestning i ressourcebegrænsede områder.¹⁴

Abbott RealTime HCV-analysen til DBS anvender revers transskription efterfulgt af polymerasekædereaktionsteknologi (RT-PCR) kombineret med homogen fluorescenspåvisning i realtid til kvantificering af HCV-RNA i DBS. Valget af en bevaret region i HCV-genomet gør det muligt at påvise genotype 1 til og med 6. Analysen er standardiseret i forhold til WHO's anden internationale standard for hepatitis C virus-RNA (NIBSC-kode 96/798),¹⁵ og resultaterne afgives i internationale enheder/ml (IU/ml) eller den tilsvarende 10-talslogaritme.

ANALYSEPRINCIP

Abbott RealTime HCV-analysen til DBS kræver 3 reagenssæt:

- Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit
- Abbott RealTime HCV Control Kit
- Abbott RealTime HCV Calibrator Kit

Abbott RealTime HCV-analysen til DBS anvender RT-PCR til at generere et amplifieret produkt fra HCV's RNA-genom i humane DBS-prøver. Trinnene i Abbott RealTime HCV-analysen til DBS består af præanalytisk DBS-behandling, prøveklargøring, RT-PCR-blanding, amplifikation, påvisning og afgivelse af resultater. Præanalytisk DBS-behandling udføres ved hjælp af Abbott mSample Preparation System DBS Buffer Kit, før prøven anbringes på Abbott m2000sp-systemet. Efter den præanalytiske DBS-behandling udføres alle efterfølgende trin automatisk af Abbott m2000sp- og Abbott m2000rt-systemerne.

Se brugsanvisningen til Abbott RealTime HCV-analysen (bestillingsnr. 4J86) for yderligere oplysninger om prøveklargøring, RT-PCR-blanding, amplifikation og påvisning.

FORLÆNGET ANVENDELSE AF AMPLIFIKATIONS-REAGENS

Den valgfri funktion til forlænget anvendelse af amplifikationsreagens gør det muligt at bruge amplifikationsreagenspakker og intern kontrol i alt 2 gange. Amplifikationsreagenspakker med klargjort masterblanding kan opbevares ved -10 °C eller koldere, tillukket og beskyttet mod lys i op til 14 dage før genanvendelsen. Den interne kontrol (IC) kan opbevares tillukket ved -10 °C eller koldere i op til 14 dage før genanvendelsen. Den næste brug bør ikke overskride reagensets udløbsdato.

Der findes en oversigt over denne funktion i appendiks 1 i denne brugsanvisning.

I hele denne brugsanvisning omtales amplifikationsreagenspakker og IC'er, der endnu ikke er blevet brugt, som nye amplifikationsreagenspakker og IC'er (dvs. første brug). Amplifikationsreagenspakker, der har været brugt én gang og indeholder klargjort masterblanding, kaldes

delvise amplifikationsreagenspakker. IC-hætteglas, der er blevet brugt én gang, kaldes delvise IC-hætteglas.

FOREBYGGELSE AF KONTAMINERING MED NUKLEINSYRER

Se brugsanvisningen til Abbott RealTime HCV-analysen (bestillingsnr. 4J86).

REAGENSER

Se brugsanvisningen til Abbott RealTime HCV-analysen (bestillingsnr. 4J86).

VIGTIGE FORHOLDSREGLER

IVD

Til in-vitro-diagnostisk brug

Abbott RealTime HCV-analysen til DBS må ikke anvendes til at screene blod-, plasma-, serum- eller vævsdonorer for HCV eller som diagnostisk test til at konfirmere forekomsten af HCV-infektion.

SIKKERHEDSFORANSTALTNINGER

Se brugsanvisningen til Abbott RealTime HCV-analysen (bestillingsnr. 4J86).

Abbott RealTime HCV-analysen til DBS bruger kun Abbott m2000sp- og Abbott m2000rt-instrumenter.

SÆRLIGE FORHOLDSREGLER

Forholdsregler ved håndtering af DBS-prøver

Abbott RealTime HCV-analysen til DBS er kun beregnet til brug med fuldblods- eller DBS-prøver, der er blevet behandlet og opbevaret som beskrevet i afsnittet **PRØVETAGNING, OPBEVARING OG TRANSPORT TIL ANALYSESTEDET**.

Se brugsanvisningen til Abbott RealTime HCV-analysen (bestillingsnr. 4J86).

Forholdsregler ved håndtering, der er specifikke for DBS:

- Sørg for, at DBS-kort er helt tørre, før de opbevares i en pose med tørremidler. Forkert opdrypning, tørring, opbevaring og håndtering af DBS kan forårsage upræcise testresultater.
- For at undgå krydskontaminering skal der anvendes en ny pipette-spids til hver DBS-prøve, når pletten skubbes ud af det perforerede DBS-kort. Hvis der anvendes et ikke-perforeret DBS-kort, skal det sikres, at det værktøj, der anvendes til at fjerne blodpletten, dekontamineres før og efter kontakt med DBS-prøven.

Arbejdsområder

Det anbefales kun at forbeholde 2 områder, prøveklargøringsområdet og amplifikationsområdet, ved anvendelse af Abbott m2000sp og Abbott m2000rt.

Se brugsanvisningen til Abbott RealTime HCV-analysen (bestillingsnr. 4J86).

Aerosolkontaminering

Se brugsanvisningen til Abbott RealTime HCV-analysen (bestillingsnr. 4J86).

Kontaminering og inhibition

Se brugsanvisningen til Abbott RealTime HCV-analysen (bestillingsnr. 4J86).

Kontaminering fra eksternt amplificeret produkt med dU-indhold

Laboratorier, der anvender eller har anvendt HCV-amplifikationsanalyser, der omfatter post-PCR-behandling af det amplificerede produkt, kan være kontamineret med amplificeret produkt indeholdende dU. Denne form for kontaminering kan medføre unøjagtige resultater med Abbott RealTime HCV-analysen til DBS. Se afsnittet **Kontrol af laboratoriet for kontaminering** i brugsanvisningen til Abbott RealTime HCV-analysen (bestillingsnr. 4J86). I tilfælde hvor de negative kontroller bliver ved med at være reaktive, eller hvor der er sandsynlighed for, at der er forekommet kontaminering med HCV-amplificeret produkt med indhold af dU, anbefales det, at laboratoriet benytter UNG-kontamineringskontrol-proceduren (uracil-N-glykosylase), hvis dekontaminering af laboratoriet mislykkes.

OPBEVARINGSINSTRUKTIONER

Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit (bestillingsnr. 4J86-90)



- **Nye og delvise** Abbott RealTime HCV-amplifikations-reagenspakker og hætteglas med intern kontrol (IC) skal opbevares ved -10 °C eller koldere, når de ikke er i brug. Når Abbott RealTime HCV-amplifikations-reagenspakken er i brug, må den ikke komme i direkte kontakt med prøver, kalibratorer og kontroller.



- **Delvise** amplifikationsreagenspakker og IC skal opbevares ved -10 °C eller koldere, tillukket, oprejst og beskyttet mod lys efter første brug. Hvis de opbevares på denne måde, kan **delvise** amplifikationsreagenspakker med klargjort master-blanding genanvendes inden for 14 dage efter første brug. Interne kontroller kan også genanvendes inden for 14 dage efter optøning, hvis de opbevares tillukket ved -10 °C eller koldere. Efter at have været brugt 2 gange skal de delvise amplifikationsreagenspakker og den interne kontrol bortskaffes. Genanvendelse skal finde sted inden reagensernes udløbsdato.

Abbott RealTime HCV Control Kit (bestillingsnr. 4J86-80)



- Negative og positive Abbott RealTime HCV-kontroller skal opbevares ved -10 °C eller koldere.

Abbott RealTime HCV Calibrator Kit (bestillingsnr. 4J86-70)



- Abbott RealTime HCV-kalibrator A og -kalibrator B skal opbevares ved -10 °C eller koldere.

FORSENDELSE

Se brugsanvisningen til Abbott RealTime HCV-analysen (bestillingsnr. 4J86).

INDIKATION AF USTABILITET ELLER REAGENSHENFALD

Se brugsanvisningen til Abbott RealTime HCV-analysen (bestillingsnr. 4J86).

INSTRUMENTPROCEDURE

Applikationsfilen til Abbott RealTime HCV til DBS skal installeres på Abbott m2000sp- og Abbott m2000rt-systemerne fra Abbott RealTime HCV m2000 ROW System Combined Application CD-ROM (bestillingsnr. 01L69-040 eller højere), før analysen udføres. Se kapitlet Brugsvejledning i brugermanualerne til Abbott m2000sp og Abbott m2000rt for yderligere oplysninger om installation af applikationsfiler.

PRØVETAGNING, OPBEVARING OG TRANSPORT TIL ANALYSESTEDET

Prøvetagning og opbevaring

- Ved klargøring af DBS anvendes blod fra fingerprik eller EDTA-fuldblod. EDTA-fuldblod bør opbevares under kontrollerede temperaturforhold under opbevaring og forsendelse (2 °C til 8 °C i op til 48 timer eller ved en omgivende temperatur på højst 30 °C i op til 24 timer).
- EDTA-fuldblod, der er udtaget i et rør, bør blandes grundigt ved at vende det forsigtigt før opdrypning. Dryp blodet op på cirklerne med en diameter på 12 millimeter på TFN-papirkort fra Ahlstrom-Munktel eller Whatman 903-kort, og sørg for, at hele cirklen er dækket. Det anbefales at anvende mindst 70 µl blod (cirka 3 til 5 dråber blod) til hver cirkel for at sikre, at cirklerne dækkes helt.
- Lufttør kortet ved omgivende temperatur i mindst 3 timer. Pak hvert kort i en pose, der kan forsegles, sammen med tørremiddelpakker (mindst 2 til 3 tørremiddelpakker).
- Før analysebehandlingen kan DBS-prøvekort opbevares under de forhold, der er angivet i tabellen nedenfor.

Opbevaring af DBS-prøvekort

Forhold	Maks. opbevaringstid
2 °C til 30 °C ved omgivende luftfugtighed	18 uger
≤37 °C ved omgivende luftfugtighed	12 uger
≤45 °C ved omgivende luftfugtighed	8 uger
≤38 °C ved høj luftfugtighed (≤85%)	4 uger
-25 °C til -15 °C ved omgivende luftfugtighed	18 uger
-70 °C eller koldere ved omgivende luftfugtighed	18 uger

Transport af prøver

Prøverne skal forsendes i henhold til de anbefalede opbevarings-temperaturer og -tider, der er angivet i afsnittet **Prøvetagning og -opbevaring** ovenfor. Ved national og international forsendelse pakkes og mærkes prøverne i overensstemmelse med gældende nationale og internationale regler for transport af kliniske, diagnostiske eller biologiske prøver.

ABBOTT REALTIME HCV-ANALYSEPROCEDURE FOR DBS

Nødvendige materialer, der ikke medfølger

- Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit (bestillingsnr. 4J86-90)
- Abbott RealTime HCV Calibrator Kit (bestillingsnr. 4J86-70)
- Abbott RealTime HCV Control Kit (bestillingsnr. 4J86-80)

Til Abbott m2000sp-instrumentets prøveklargøringsområde

- Abbott mSample Preparation System DBS Buffer Kit (bestillingsnr. 09N02-001)
- Abbott m2000sp-instrument (bestillingsnr. 09K14-01, 09K14-02)
- Abbott mSample Preparation System (4 × 24 Preps) (bestillingsnr. 04J70-24)
- Kalibrerede præcisionspipetter, der kan levere 20 til 1000 µl (kalibrerede præcisionspipetter, der kan levere < 20 µl, kan være nødvendige ved brug af UNG).
- Pipettespidser med aerosolbarriere til 20- til 1000-µl-pipetter (pipettespidser med aerosolbarriere, der kan levere < 20 µl, kan være nødvendige ved brug af UNG).
- Vortex-blander
- Master Mix Tube (bestillingsnr. 04J71-80)
- Abbott 96-Deep-Well Plate (bestillingsnr. 04J71-30)
- 5 mL Reaction Vessels (bestillingsnr. 04J71-20)
- 200 mL Reagent Vessels (bestillingsnr. 04J71-60)
- Abbott 96-Well Optical Reaction Plate (klar Abbott-mikrotiterplade) (bestillingsnr. 04J71-70)
- Abbott Optical Adhesive Covers (klar, selvklæbende Abbott-film) (bestillingsnr. 04J71-75)
- Abbott Adhesive Cover Applicators (Abbott-applikator til selvklæbende film) (bestillingsnr. 9K32-01)
- Abbott Splash-Free Support Base (stænkfri Abbott-pladeholder) (bestillingsnr. 9K31-01)
- Abbott RealTime HCV m2000 ROW System Combined Application CD-ROM (bestillingsnr. 01L69-040 eller højere)
- m2000 System 13mm DBS-PoS Set (bestillingsnr. 09N03-001)
- 1.4 mL Micro Vial 15mm Caps (bestillingsnr. 03N20-01); valgfrit
- Uracil N-Glycosylase (UNG)^a (bestillingsnr. 6L87-02)

^a Hvis det er nødvendigt i henhold til afsnittet **Kontaminering fra eksternt amplificeret produkt med dU-indhold** i denne brugsanvisning.

Til Abbott m2000rt-instrumentets amplifikationsområde

- Abbott m2000rt-instrument (bestillingsnr. 9K15-01)
- Abbott RealTime HCV m2000 ROW System Combined Application CD-ROM (bestillingsnr. 01L69-040 eller højere)
- Abbott m2000rt Optical Calibration Kit (bestillingsnr. 04J71-93)

Andre materialer

- Stinksab, der er godkendt til arbejde med smittefarlige materialer
- Pose, der kan forsegles, til DBS-kort
- Tørremiddelpakke til DBS-kort
- TFN-papirkort fra Ahlstrom-Munktel og/eller Whatman 903-kort
- Plastpose, der kan forsegles, til bortskaffelse af mikrotiterplade
- RNase-frit vand (Eppendorf eller tilsvarende)^b
- 1,7-ml-mikrocentrifugerør med molekylærbiologisk renhed (Dot Scientific, Inc. eller tilsvarende)^b
- Podepinde med vatspids (Puritan eller tilsvarende)^b

^b Bemærk: Disse 3 ting anvendes i proceduren til Kontrol af laboratoriet for kontaminering. Se afsnittet **PROCEDURER FOR KVALITETSKONTROL** i brugsanvisningen til Abbott RealTime HCV-analysen (bestillingsnr. 4J86).

Proceduremæssige forholdsregler

- Denne brugsanvisning skal læses nøje inden prøvebehandling.
- Amplifikationsreagenser og intern kontrol kan bruges op til 2 gange som beskrevet i denne brugsanvisning. Hætteglassene med Abbott RealTime HCV-kalibratoren, negativ kontrol samt lav og høj positiv kontrol er kun beregnet til engangsbrug og skal bortskaffes efter brug.
- Anvend kun pipettespidser med aerosolbarriere eller engangspipetter 1 gang ved pipettering af prøver eller IC. Undgå berøring mellem pipettekanalen og indersiden af prøverør eller -beholderen for at undgå kontaminering af pipettekanalen under afpipettering. Det anbefales at bruge lange pipettespidser med aerosolbarriere.
- Procedurer til kontrol af forekomst af amplifikationsprodukt kan findes i afsnittet **PROCEDURER FOR KVALITETSKONTROL**.

- Rengør og desinficer spildte prøver med et desinfektionsmiddel med effekt på tuberkelbakterier, såsom 1,0% natriumhypoklorit eller et andet egnet desinfektionsmiddel, for at nedsætte risikoen for nukleinsyrekontaminering.
 - Abbott RealTime HCV-kalibratoren og -kontroller skal klargøres sammen med de prøver, der skal testes. Anvendelse af Abbott RealTime HCV-kalibratoren og -kontroller er af afgørende betydning for Abbott RealTime HCV-analysens ydeevne. Se afsnittet **PROCEDURER FOR KVALITETSKONTROL**.
 - Abbott m2000sp-protokollen til tilsætning af masterblanding skal startes inden for 1 time efter afslutning af prøveklargøring
 - Hvis Abbott m2000sp-protokollen til tilsætning af masterblanding afbrydes, skal de amplifikationsreagenser, der blev anvendt for anden gang, bortskaffes. Nye reagenspakker, der anvendes for første gang, kan gemmes og opbevares til senere brug som beskrevet i denne manual.
 - Abbott m2000rt-protokollen skal startes inden for 50 minutter efter start af protokollen til tilsætning af masterblanding. Hvis der ikke startes en kørsel på Abbott m2000rt-instrumentet inden for 50 minutter, eller hvis kørslen afbrydes eller stoppes, skal den klare Abbott-mikrotiterplade forsegles i en plastikpose med genluk og bortskaffes som beskrevet i brugermanualen til Abbott m2000rt sammen med de handsker, der blev anvendt ved håndtering af pladen.
- VIGTIGT: Amplifikationsreagenser, der skal genanvendes, skal opbevares ved -10 °C eller koldere inden for 50 minutter efter start af protokollen til tilsætning af masterblanding.**

ANALYSEPROTOKOL: DBS-PRØVER VED BRUG AF ABBOTT m2000sp- OG ABBOTT m2000rt-INSTRUMENTERNE

For en nærmere beskrivelse af kørsel af en protokol på Abbott m2000sp-instrumentet og Abbott m2000rt-instrumentet henvises til kapitlet Brugsvejledning i brugermanualerne til Abbott m2000sp og Abbott m2000rt. DBS-protokollen kræver Abbott m2000sp-software-version 6.0 eller nyere. Følg brugermanualen til Abbott m2000sp (bestillingsnr. 09K20 version 6 eller nyere).

Der kan i alt behandles 96 prøver i hver kørsel. Der medtages en HCV-negativ kontrol, en lav positiv kontrol og en høj positiv kontrol til Abbott RealTime i hver kørsel, så der kan behandles maksimalt 93 DBS-prøver pr. kørsel, når kalibratorerne ikke er inkluderet. Kalibratoren og kontroller skal behandles direkte som flydende prøver; trin 1 til og med trin 5 gælder kun for DBS. Plasma- eller serumprøver må ikke behandles i kørsler, hvor DBS-protokollen anvendes. For hver DBS-prøve bør der anvendes et enkelt rør med Abbott-masterblanding til hele prøvebehandlingsproceduren. Sørg for at mærke DBS-prøver under hele behandlingen.

1. Fyld Abbott-masterblandingsrøret med 1,3 ml mDBS-buffer fra Abbott mSample Preparation System DBS Buffer Kit (bestillingsnr. 09N02-001).

BEMÆRK: Brug ikke mLysis Buffer eller andre reagenser til dette trin

2. Hold det perforerede DBS-papirkort over røret med Abbott-masterblanding.
3. Tryk DBS-cirklen ud af kortet med en ren pipettespids. Beregn 1 DBS-cirkel pr. Abbott-masterblandingsrør. Hver DBS bør have en diameter på ca. 12 mm.

BEMÆRK: BRUG EN NY PIPETTESPID TIL HVER DBS-PRØVE FOR AT FORHINDRE KRYDSKONTAMINERING.

Hvis der benyttes DBS-kort, der ikke er perforerede, kan der i stedet udkæres 1 hel DBS (cirka 12 millimeter i diameter) for hver prøve, som overføres til et Abbott-masterblandingsrør.

BEMÆRK: Undgå direkte kontakt mellem skæreoeverfladen og DBS-prøver. Om nødvendigt dekontamineres det værktøj, der bruges til at skære DBS, mellem hver enkelt prøve i henhold til god laboratorieskik.

4. Sørg for, at DBS-cirklen er helt nedsænket i mDBS Buffer, ved at banke let på røret eller bruge pipettespiden til at skubbe DBS'en ned i bufferen.

BEMÆRK: Hvis der benyttes en pipettespids til at skubbe DBS'en ned i bufferen, skal det sikres, at pipettespiden ikke forårsager volumetab af DBS-buffer, fordi der er væske i spidsen, og/eller fordi filtret i spidsen absorberer buffer.

5. Prøverørene rystes eller hvirvles manuelt. Undlad at vortexe prøverne. Inkuber dem i 30 minutter ($\pm$ 2 minutter) ved omgivelses-temperatur.
6. I mellemtiden optøs analysekontroller og intern kontrol (IC) ved 15 °C til 30 °C eller ved 2 °C til 8 °C. Optø kun kalibratorer ved 15 °C til 30 °C eller ved 2 °C til 8 °C i tilfælde af en kalibreringskørsel.

BEMÆRK: Når analysekontrollerne, IC og kalibratorerne er tørt op, kan de opbevares ved 2 °C til 8 °C i op til 24 timer før brug.

7. Vortex hver analysekalibrator og hver kontrol 3 gange i 2 til 3 sekunder før brug. Sørg for, at indholdet af hvert hætteglas er i bunden ved at banke dem let mod bænken for at bringe væsken ned i bunden af hætteglasset. Sørg for, at der ikke dannes bobler eller skum. Fjern dem i givet fald med en ny, steril pipettespids til hvert hætteglas.
8. Optø amplifikationsreagenser ved 15 °C til 30 °C eller ved 2 °C til 8 °C, og opbevar dem ved 2 °C til 8 °C, indtil de skal bruges til amplifikationsmasterblandingsproceduren.
9. Vælg nye og/eller delvise amplifikationsreagenspakker, der skal bruges i kørslen. Der henvises til afsnittet Brugsvejledning i brugermanualen til Abbott m2000sp (bestillingsnr. 09K20 version 6 eller nyere) for instruktioner vedrørende lagerstyring af amplifikationsreagenspakker. Amplifikationsreagenspakker skal have samme lotnummer.
Optø nye amplifikationsreagenser ved 15 °C til 30 °C eller ved 2 °C til 8 °C, og opbevar dem ved 2 °C til 8 °C, indtil de skal bruges til amplifikationsmasterblandingsproceduren.

BEMÆRK: Når de er tørt op, kan de nye amplifikationsreagenser opbevares ved 2 °C til 8 °C i op til 24 timer, hvis de ikke anvendes med det samme. Delvise amplifikationsreagenspakker, der anvendes for anden gang, bør IKKE opbevares ved 2 °C til 8 °C før brug. De bør opbevares ved -10 °C eller koldere, indtil de skal anvendes til tilsætning af masterblanding. Når de tages ud af fryseren, bør den samlede eksponering for stuetemperatur ikke overstige 25 minutter, herunder tilfælde, hvor pakker tages ud, men ikke anvendes. Hvis de 25 minutter overstiges, skal de delvise amplifikationsreagenspakker bortskaffes.

Følgende tabel viser, hvor mange prøveklargøringsreagenser og hætteglas med intern kontrol, der skal anvendes, baseret på antallet af reaktioner.

Krav til prøveklargøringsreagenser og intern kontrol				
Reagens	1 til 24 reaktioner	25 til 48 reaktioner	49 til 72 reaktioner	73 til 96 reaktioner
mMicroparticles	1 flaske	2 flasker	2 flasker	2 flasker
mLysis	1 flaske	2 flasker	3 flasker	4 flasker
mWash 1	1 flaske	2 flasker	3 flasker	4 flasker
mWash 2	1 flaske	2 flasker	3 flasker	4 flasker
mElution Buffer	1 flaske	2 flasker	3 flasker	4 flasker
Intern kontrol ^a	1 nyt hætteglas eller 1 delvist hætteglas	1 nyt hætteglas eller 2 delvise hætteglas	2 nye hætteglas eller 3 delvise hætteglas	2 nye hætteglas eller 4 delvise hætteglas

^a Der kan anvendes en kombination af nye og delvise hætteglas med intern kontrol.

10. Vend forsigtigt flaskerne med Abbott mSample Preparation for at sikre en homogen opløsning. Hvis der observeres krystaller i nogen af reagensflaskerne efter åbning, skal reagenset henstå ved stuetemperatur, indtil krystallerne forsvinder. Reagenserne må ikke anvendes, før krystallerne er opløst.
11. Vortex hvert hætteglas med IC 3 gange i 2 til 3 sekunder inden brug.
12. Brug en kalibreret præcisionspipette, DER KUN ER BEREGNET TIL INTERN KONTROL, til at tilsætte 500 µl IC til hver flaske med mLysis Buffer. Bland ved forsigtigt at vende beholderen 5 til 10 gange for at minimere skumdannelse. Delvise hætteglas med IC kan påsættes hætte igen og opbevares ved -10 °C eller koldere med henblik på genanvendelse.
13. Placer de lave og høje positive kontroller, den negative kontrol og kalibratorerne, hvis det er relevant, i Abbott m2000sp-prøverackene.
14. Når inkubationen er afsluttet, rystes eller hvirvles DBS-prøverørene manuelt og sættes derefter i m2000sp-prøverack.

BEMÆRK: Sørg for, at Abbott m2000sp-prøverack er kalibreret specifikt til Abbott RealTime HCV-proceduren for DBS.

15. Prøverackene isættes forsigtigt for at undgå sprøjt. Hvis der er stregkoder på rørenes etiketter, skal de vende i korrekt retning i forhold til scanneren. Sørg for, at hvert rør sidder rigtigt i prøveracket, så bunden af røret rører den indvendige bund af racket.
16. Sæt fyldte prøverack på Abbott m2000sp i på hinanden følgende prøverackpositioner med det første rack længst til højre på arbejdsbordet og eventuelle ekstra rack til venstre for det første rack.
17. Anbring 5-ml-RV-cellerne i 1-ml-undersystemsprøvestativet på Abbott m2000sp.
18. Anbring Abbott mSample Preparation System-reagenser og Abbott-mikrotiterpladen med dybe brønde på Abbott m2000sp-arbejdsbordet som beskrevet i afsnittet Brugsvejledning i brugermanualen til Abbott m2000sp.
19. Vælg applikationsfilen HCV RNA DBS på skærbilledet Protocol. Start prøveekstraktionsprotokollen som beskrevet i afsnittet Brugsvejledning i brugermanualen til Abbott m2000sp.
20. Angiv lotspecifikke værdier for kalibratorer (nødvendigt, hvis der ikke er gemt en kalibreringskurve på Abbott m2000rt) og kontroller i felterne Sample Extraction: Worktable Setup, Calibrator og Control. De lotspecifikke værdier er angivet på hver oversigt til Abbott RealTime HCV-kalibratorer og -kontroller.
21. Abbott m2000sp-protokollen til tilsætning af masterblanding (trin 28) skal startes inden for 1 time, efter prøveklargøringen er afsluttet.

BEMÆRK: Skift handsker før håndtering af amplifikationsreagenserne.

22. Placer amplifikationsreagenserne og røret med masterblanding (om nødvendigt) på Abbott m2000sp-arbejdsbordet, når prøveklargøringen er afsluttet. Følgende tabel viser, hvor mange amplifikationsreagenspakker der skal anvendes, baseret på antallet af reaktioner. Hvis der kun anvendes 1 amplifikationsreagenspakke, er der ikke behov for et rør med masterblanding.

Krav til amplifikationsreagenspakke ^a			
1 til 24 reaktioner	25 til 48 reaktioner	49 til 72 reaktioner	73 til 96 reaktioner
1 hvis ny; op til 4 med delvise pakker	2 hvis ny; op til 4 med delvise pakker	3 hvis ny; op til 4 med delvise pakker	4 nye eller delvise pakker

^a Se brugermanualen til Abbott m2000sp (bestillingsnr. 09K20 version 6 eller nyere) for instruktioner om lagerstyring med henblik på at bestemme det maksimale antal reaktioner, der kan testes med de valgte delvise pakker.

- Delvise amplifikationsreagenspakker kan kun bruges på det samme Abbott m2000sp-instrument som det, der blev anvendt ved den første klargøring af reagenspakken. Hvis der benyttes et andet instrument, når en amplifikationsreagenspakke anvendes for anden gang, vil der opstå en fejl, som kan forsinke kørslen.
 - Delvise og nye amplifikationsreagenspakker kan bruges sammen.
- VIGTIGT:** Delvise amplifikationsreagenspakker skal opbevares ved -10 °C eller koldere indtil umiddelbart før genanvendelsen. Kontrollér, at masterblandingen er optøet, før der anbringes delvise pakker på Abbott m2000sp-arbejdsbordet. Når delvise amplifikationsreagenspakker fjernes fra opbevaring ved -10 °C eller koldere og anvendes for anden gang, skal de anvendes inden for 25 minutter eller bortskaffes. Dette gælder for den samlede eksponering for stuetemperatur, herunder tilfælde, hvor pakker fjernes fra fryseren, men ikke anvendes.
23. Sørg for, at indholdet af nye amplifikationsreagenspakker er i bunden af hætteglassene, før amplifikationsreagenserne åbnes, ved at banke dem mod bordet i en opret position 5 til 10 gange.
 - Undlad at banke delvise amplifikationsreagenspakker, der bruges anden gang. Banken kan føre til tab af masterblanding, idet denne kan sætte sig under hættten.
 24. Tag hættterne af. Hvis en ny amplifikationsreagenspakke skal opbevares, så den kan genanvendes, skal hætteglassene lukkes, før de kan opbevares. Hvis der er planer om at genanvende de oprindelige hættter til hætteglassene med reagens, skal de oprindelige hættter gemmes. Hvis der er planer om at anvende nye hættter til hætteglassene med reagens, kan de oprindelige hættter bortskaffes.
- Hvis uracil-N-glykosylase (UNG) anvendes til kontamineringskontrol, skal nedenstående instruktioner følges.**
25. Anvend en PIPETTE, DER KUN ER BEREGNET TIL REAGENSER, og tilsæt den angivne mængde af 1 U/µl UNG (bestillingsnr.

6L87-02) til hætteglasset med reagens i placering 3 i de nye og delvise amplifikationsreagenspakker. Bland alle delvise pakker manuelt ved forsigtigt at pipettere op og ned. Bland ikke nye pakker.

- Anvend tabellen nedenfor for at fastslå den mængde UNG, der skal tilsættes til hætteglasset med reagens i placering 3 i de nye og delvise amplifikationsreagenspakker. Hætteglasset med reagens i placering 3 i en ny reagenspakke indeholder termostabil rTth-polymeraseenzym. Hætteglasset med reagens i placering 3 i en delvis reagenspakke indeholder masterblanding.

Mængden af UNG, der skal tilsættes til hætteglasset med reagens i placering 3 i hver amplifikationsreagenspakke	
Resterende test i pakken	Tilsæt denne mængde UNG (µl)
1	5
2	6
3	7
4	8
5	9
6	10
7	11
8	12
9	13
10	13
11	14
12	15
13	16
14	17
15	18
16	19
17	20
18	21
19	22
20	23
21	24
22	25
23	26
24 (ny pakke)	27

BEMÆRK: Mængden af UNG, der tilsættes til hætteglasset med reagens i placering 3, afhænger af antallet af test, der er tilbage i reagenspakken, og ikke af antallet prøver, der køres. Se brugermanualen til Abbott *m2000sp* for instruktioner om lagerstyring af amplifikationsreagenspakker, og hvordan antallet af resterende antal test i en reagenspakke fastslås.

- Delvise amplifikationspakker placeres til venstre for nye amplifikationsreagenspakker på Abbott *m2000sp*-arbejdsbordet.
- Sørg for, at amplifikationsreagenspakkerne sidder korrekt i instrumentet.
- Vælg den relevante mikrotiterplade, som passer til den tilsvarende prøveklargøringsekstraktion. Start Abbott *m2000sp*-protokollen til tilsætning af masterblanding. Følg anvisningerne i afsnittet Brugsvejledning i brugermanualen til Abbott *m2000sp*.

BEMÆRK: Brugeren bør ikke manuelt fylde eventuelle tomme/ikke-fyldte brønde i den klare Abbott-mikrotiterplade.

- Når prøveekstraktionen er afsluttet, fylder Abbott *m2000sp* automatisk eventuelle tomme brønde på den klare Abbott-mikrotiterplade med *mElution Buffer*, hvis der indgår mere end 48 prøver i en kørsel. Udfyldning af pladen udføres ikke for kørsler med 48 prøver eller derunder.
- Hvis der modtages en besked fra instrumentet, bør reagensholder 2 forblive, hvor den er, og mindst indeholde reagensbeholderen til *mElution Buffer* (reagensholder 2, placering 6). Hvis reagensbeholderen er blevet fjernet, skal der anbringes en ny reagensbeholder med *mElution Buffer*-etiket i reagensholder 2, placering 6. Der hældes systemvæske i reagensbeholderen, som

bruges til at fylde tomme brønde. Når denne proces er fuldført, fortsætter systemet med at tilsætte masterblanding.

BEMÆRK: Instruktioner om automatisk fyldning af pladen kan findes i afsnittet om prøveekstraktion i lukket tilstand i kapitel 5, Brugsvejledning, i brugermanualen til Abbott *m2000sp* (bestillingsnr. 09K20 version 6 eller nyere).

- Abbott *m2000rt*-protokollen (trin 33) skal startes inden for 50 minutter efter start af protokollen til tilsætning af masterblanding (trin 28).

BEMÆRK: Hvis kørslen afbrydes efter trin 28, skal der uanset årsagen til afbrydelsen benyttes en ny klar Abbott-mikrotiterplade, hvis Abbott *m2000sp* Master Mix Addition-protokollen (trin 28) skal gentages.

- Tænd og start Abbott *m2000rt*-instrumentet i amplifikationsområdet.

BEMÆRK: Abbott *m2000rt* skal bruge 15 minutter til opvarmning.

BEMÆRK: Tag handskerne af, før der vendes tilbage til prøveklargøringsområdet.

- Når Abbott *m2000sp*-instrumentet har afsluttet tilsætningen af prøver og masterblanding, forsegles den klare Abbott-mikrotiterplade som beskrevet i kapitlet Brugsvejledning i brugermanualen til Abbott *m2000sp*.

- Anbring den forseglede klare mikrotiterplade i den stænkfri Abbott-pladeholder for overførsel til Abbott *m2000rt*-instrumentet.

Hvis uracil-N-glykosylase (UNG) anvendes, skal nedenstående instruktioner følges:

- Anbring den forseglede klare mikrotiterplade i den stænkfri Abbott-pladeholder, og inkuber ved stuetemperatur (15 til 30 °C) i 10 minutter. Efter inkubation ved stuetemperatur skal den klare Abbott-mikrotiterplade placeres i den stænkfri Abbott-pladeholder for overførsel til Abbott *m2000rt*-instrumentet.

- Anbring den klare Abbott-mikrotiterplade i Abbott *m2000rt*-instrumentet. Vælg applikationsfilen HCV RNA DBS på skærmbilledet Protocol. Start protokollen som beskrevet i afsnittet Brugsvejledning i brugermanualen til Abbott *m2000rt*.

BEMÆRK: Det anbefales at overføre testbestillinger ved hjælp af en cd-rom eller en netværksforbindelse med eksport- og importfunktionerne i *m2000sp*- og *m2000rt*-softwaren. Hvis Abbott *m2000rt*-testbestillingen oprettes manuelt, skal der angives prøver-id'er i de tilsvarende placeringer på PCR-bakken i henhold til skemaet "Wells for Selected Plate", som findes på Abbott *m2000sp*-skærmbilledet "PCR Plate Results". Se afsnit 5 i brugermanualen til Abbott *m2000sp*.

- Hvis en klargjort delvis amplifikationsreagenspakke skal genanvendes, skal de 3 hætteglas med reagens lukkes med gemte eller nye hætter (bestillingsnr. 3N20-01), og derefter skal reagenserne straks opbevares ved -10 °C eller koldere i oprejt stilling og beskyttet mod lys. Bortskaf amplifikationsreagenspakker, der er opbrugt eller har været brugt to gange.

VIGTIGT: Amplifikationsreagenser, der skal genanvendes, skal opbevares ved -10 °C eller koldere inden for 50 minutter efter start af protokollen til tilsætning af masterblanding.

EFTERBEHANDLINGSPROCEDURER

- Fjern Abbott-mikrotiterpladen med dybe brønde fra arbejdsbordet, og bortskaf den i henhold til instruktionerne i brugermanualen til Abbott *m2000sp*.
- Anbring den klare Abbott-mikrotiterplade i en plastikpose med genluk, og bortskaf den sammen med de handsker, der blev anvendt til håndtering af pladen, i henhold til brugermanualen til Abbott *m2000rt*.
- Rengør den stænkfri Abbott-pladeholder før næste anvendelse som anvist i brugermanualen til Abbott *m2000rt*.

PROCEDURER FOR KVALITETSKONTROL

Optisk kalibrering af Abbott *m2000rt*

Se brugsanvisningen til Abbott RealTime HCV-analysen (bestillingsnr. 4J86).

Analysekalibrering

Se brugsanvisningen til Abbott RealTime HCV-analysen (bestillingsnr. 4J86).

Til DBS-test på Abbott *m2000sp* og Abbott *m2000rt*: Når en kalibrering af Abbott RealTime HCV er accepteret og gemt, kan den anvendes i 6 måneder. I denne periode kan alle efterfølgende prøver testes uden yderligere kalibrering, medmindre:

- Der anvendes et Abbott RealTime HCV-amplifikationsreagenssæt med et nyt lotnummer.
- Der anvendes et Abbott mSample Preparation System (4 x 24 Preps) med et nyt lotnummer.
- Der er installeret en ny Abbott RealTime HCV RNA DBS-applikationsfil.

Inhibitionspåvisning

Se brugsanvisningen til Abbott RealTime HCV-analysen (bestillingsnr. 4J86).

Negative og positive kontroller

Se brugsanvisningen til Abbott RealTime HCV-analysen (bestillingsnr. 4J86).

Kontrol af laboratoriet for kontaminering

Se brugsanvisningen til Abbott RealTime HCV-analysen (bestillingsnr. 4J86).

RESULTATER FOR DBS-PRØVER

Det resultat for DBS-prøvekoncentration, der afgives efter kørsel af DBS-protokollen på Abbott m2000rt, repræsenterer koncentrationen af HCV-virus i plasmaet fra den fuldblodsprøve, som DBS-prøven stammer fra. Abbott m2000rt-instrumentet afgiver automatisk resultaterne på Abbott m2000rt-arbejdsstationen. Analyseresultaterne kan afgives i internationale enheder IU/ml eller Log IU/ml.

Fortolkning af resultater

Resultat	Fortolkning
Not Detected	Mål ikke påvist
<2.66 Log IU/ml ^a	Påvist
2.66 til 8.00 Log IU/ml	
>8.00 Log IU/ml	>ULQ ^b

^a 462 IU/ml

^b ULQ = øvre kvantificeringsgrænse

PROCEDUREBEGRÆNSNINGER

- **TIL IN VITRO-DIAGNOSTISK BRUG**
- For at opnå optimal ydeevne med denne analyse kræves korrekt prøvetagning, opbevaring og transport til analysestedet (se afsnittet **PRØVETAGNING, OPBEVARING OG TRANSPORT TIL ANALYSESTEDET** i denne brugsanvisning).
- Fuldblodsprøver, der er indsamlet i EDTA-rør, kan anvendes til at generere DBS, som testes med Abbott RealTime HCV-analysen til DBS. Brug af andre antikoagulanter er ikke blevet valideret med Abbott RealTime HCV-analysen til DBS.
- Brug af Abbott RealTime HCV-analysen til DBS er begrænset til personale, der er uddannet i procedurerne for klargøring og forbehandling af DBS, en molekylærdiagnostisk analyse og Abbott m2000-systemet.
- Instrumenterne og analyseprocedurerne reducerer risikoen for kontaminering med amplifikationsproduktet. Nukleinsyre-kontaminering fra kalibratorer, positive kontroller eller prøver skal dog minimeres ved at overholde god laboratorieskik og omhyggeligt følge procedurerne i denne brugsanvisning.
- Som ved enhver diagnostisk test skal resultater fra Abbott RealTime HCV-analysen til DBS fortolkes i sammenhæng med andre kliniske og laboratoriemæssige resultater. En prøve med resultatet "Not Detected" kan ikke formodes at være negativ for HCV-RNA.
- Forkert indsamling, tørring, opbevaring og håndtering af DBS-kort kan føre til unøjagtige testresultater.
- Der kan benyttes TFN-kort fra Ahlstrom-Munktel og Whatman 903 DBS-kort. Brug af andre kort er ikke blevet valideret med Abbott RealTime HCV-analysen.

YDEEVNE FOR DBS-PRØVER

Detektionsgrænse (LoD)

LoD for Abbott RealTime HCV-analysen er 462 IU/ml med DBS-prøvetypen. LoD blev bestemt ved at teste DBS-prøver, der var klargjort med en fortyndingsserie af WHO's internationale standard for hepatitis C virus-RNA fortyndet i HCV-negativt fuldblod. Hver HCV-RNA-koncentration blev testet med 4 lot amplifikationsreagenser over 3 dage. Resultaterne, der repræsenterer for ydeevnen i forbindelse med analytisk sensitivitet i Abbott RealTime HCV-analysen til DBS, er opsummeret i **tabel 1**.

Tabel 1. Detektionsgrænse (LoD) for Abbott RealTime HCV til DBS

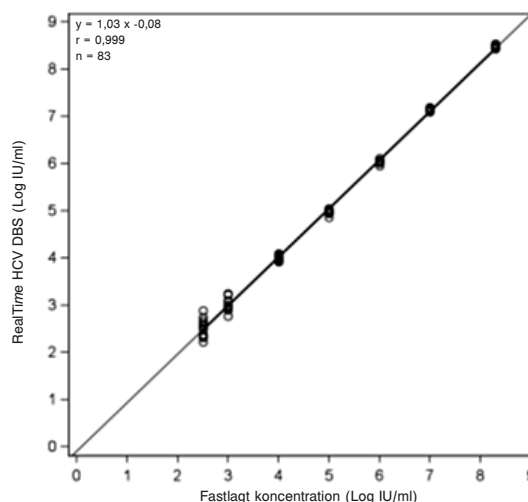
HCV-RNA (IU/ml)	Antal testet	Antal påvist	Procent påvist
500	84	83	99
400	84	80	95
350	84	75	89
300	84	73	87
150	84	54	64
50	84	26	31

Probitanalyse af dataene fastslog, at den koncentration af HCV-RNA, der blev påvist fra tørrede blodpletter med 95% sandsynlighed, var 462 IU/ml (95% CI 381 til 593 IU/ml).

Lineært område

Den øvre kvantificeringsgrænse (ULQ) for Abbott RealTime HCV-analysen er 100 millioner IU/ml, og den nedre kvantificeringsgrænse svarer til LoD (462 IU/ml) for specifikationen for DBS-prøver. Et DBS-panel med 7 prøver blev klargjort med HCV Armored RNA, der var fortyndet til koncentrationer på mellem 200 millioner IU/ml og 316 IU/ml i HCV-negativt fuldblod. Resultaterne, der er repræsentative for Abbott RealTime HCV-analysens linearitet for DBS, er vist i **figur 1**.

Figur 1. Linearitet i Abbott RealTime HCV-analysen til DBS



Abbott RealTime HCV-analysen til DBS er lineær i hele området af testede HCV-RNA-koncentrationer (316 til 200 millioner IU/ml, 2,5 til 8,3 Log IU/ml).

Specifцитet

Målspecificiteten for Abbott RealTime HCV-analysen til DBS er større end eller lig med 99,5%. Specificiteten blev bestemt ved at analysere 119 HCV-seronegative prøver med 2 lot amplifikationsreagenser. Den samlede specificitet var 100% (119/119).

Præcision

Præcisionen blev evalueret ved at teste et DBS-panel med 6 prøver, som var fastlagt til at dække koncentrationsområdet af HCV-RNA fra 316 IU/ml til 200 millioner IU/ml. Panelprøver med koncentrationer på under 5 Log IU/ml (100.000 IU/ml) blev klargjort med en HCV-positiv klinisk prøve, der var fortyndet i HCV-negativt fuldblod, mens panelprøver med koncentrationer på over 5 Log IU/ml (100.000 IU/ml) blev klargjort med HCV Armored RNA, der var fortyndet i HCV-negativt fuldblod. Hver panelprøve blev testet i 5 replikater én gang om dagen i 5 dage på 3 par Abbott m2000sp/rt med 3 lot af amplifikationsreagens. De intraserielle og interserielle standardafvigelser (SD) og standardafvigelserne mellem analyser (intraserielle og interserielle) blev fastlagt. Abbott RealTime HCV-analysen til DBS er udviklet til at opnå en standardafvigelse (SD) mellem analyser på mindre end eller lig med 0,25 Log IU/ml HCV-RNA for prøver, der indeholder HCV-koncentrationer på mellem 10.000 og 100 millioner IU/ml. Resultaterne, der er repræsentative for præcisionen i Abbott RealTime HCV-analysen til DBS, er opsummeret i **tabel 2**.

Tabel 2. Præcision i Abbott RealTime HCV-analyse til DBS

Panelprøve	N	Middelkoncentration (IU/ml)	Middelkoncentration (Log IU/ml)	SD for intraseriel komponent ^{a,e}	SD for interseriel komponent ^a	SD mellem analyser ^{a,b}	SD for komponenten Lot til lot/ Interinstrument ^a	
								Total ^{c,e}
1	63 ^d	420	2,62	0,26	0,07	0,27	0,00	0,27
2	75	1.435	3,16	0,23	0,00	0,23	0,09	0,25
3	75	13.211	4,12	0,06	0,04	0,07	0,05	0,09
4	75	395.427	5,60	0,04	0,03	0,05	0,02	0,05
5	75	14.008.770	7,15	0,12	0,04	0,13	0,05	0,14
6	75	316.713.566	8,50	0,04	0,03	0,05	0,05	0,07

^a Standardafvigelse (SD) angives i Log IU/ml.

^b Mellem analyser-dataene omfatter de inter- og intraserielle komponenter.

^c Total omfatter komponenterne Intraseriel, Interseriel og Lot til Lot/Interinstrument.

^d Middelkoncentrationen for panelprøve 1 er under LoD. Præcisionsestimaterne er baseret på de replikater, der er kvantificeret.

^e Intraseriel SD kaldes også for repeterbarhed. Total SD kaldes også for reproducerbarhed.

Repeterbarhed og reproducerbarhed var henholdsvis 0,26 Log IU/ml og 0,27 Log IU/ml for panelprøve 1 (tæt på LLoQ) og henholdsvis 0,23 Log IU/ml og 0,25 Log IU/ml for panelprøve 2 (tæt på LLoQ). Repeterbarhed og reproducerbarhed var henholdsvis 0,12 Log IU/ml og 0,14 Log IU/ml for panelprøve 5 (tæt på ULQ) og henholdsvis 0,04 Log IU/ml og 0,07 Log IU/ml for panelprøve 6 (tæt på ULQ).

Korrelation

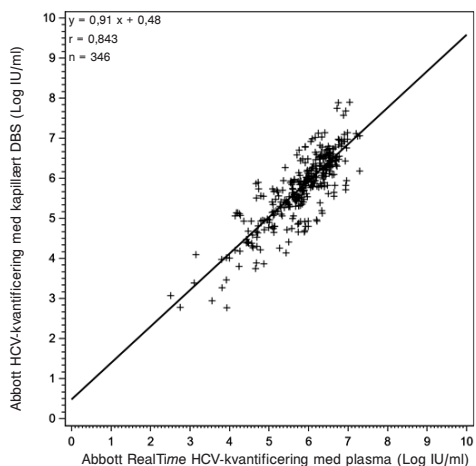
Kvantificering af HCV-RNA blev sammenlignet for Abbott RealTime HCV-analysen ved brug af tørrede blodpletter og den CE-mærkede sammenligningsanalyse, Abbott RealTime HCV, ved brug af humant plasma. Plasma- og DBS-prøver fra i alt 346 forsøgspersoner (indsamlet og testet i Georgien, Cameroun og Grækenland) indgik i analysen. Både DBS fremstillet af venøst blod og DBS fremstillet af kapillærblod (fingerprik) blev testet med Abbott RealTime HCV-analysen til DBS. De kvantitative resultater fra de prøver, der havde værdier inden for analysernes dynamiske områder, blev analyseret med mindste kvadraters-regressionsmetode og Bland-Altman-biasmetoden (kapillært DBS vs. plasma N=346, venøst DBS vs. plasma N=346 og kapillært DBS vs. venøst DBS N=345). For korrelationen mellem kapillært DBS og plasma var korrelationskoefficienten 0,843, hældningen var 0,91 (95% CI 0,85 til 0,97), og skæringen var 0,48 Log IU/ml (95% CI 0,12 til 0,84) (**figur 2**). For korrelationen mellem venøst DBS og plasma var korrelationskoefficienten 0,840, hældningen var 0,94 (95% CI 0,88 til 1,00), og skæringen var 0,31 Log IU/ml (95% CI -0,07 til 0,69) (**figur 3**). For korrelationen mellem kapillært DBS og venøst DBS var korrelationskoefficienten 0,943, hældningen var 0,91 (95% CI 0,87 til 0,94), og skæringen var 0,53 Log IU/ml (95% CI 0,33 til 0,72) (**figur 4**). Derudover vises Bland-Altman-plot for de samme sammenligninger i **figur 5**, **figur 6** og **figur 7**. Forskellen i middelbias mellem kapillært DBS og plasma var -0,05 Log IU/ml. Forskellen i middelbias mellem venøst DBS og plasma var -0,04 Log IU/ml. Forskellen i middelbias mellem kapillært DBS og venøst DBS var -0,02 Log IU/ml.

Den forventede bias mellem kapillært DBS og plasma blev evalueret ved de fastlagte niveauer for LLoQ og ULQ. Derudover blev den forventede bias mellem venøst DBS og plasma evalueret ved de fastlagte niveauer for LLoQ og ULQ. Se **tabel 3** for en oversigt over den forventede bias.

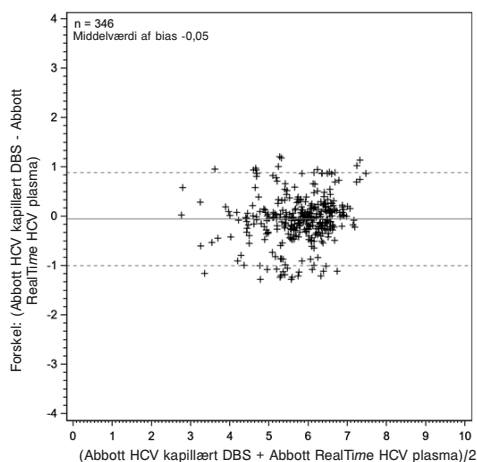
Tabel 3. Forventet bias mellem DBS (kapillært eller venøst) og plasma ved LLoQ og ULQ

Sammenligning	Niveau	Fastlagt niveau for virusmængde (Log IU/ml)	Forventet bias (Log IU/ml)
Kapillært DBS vs. plasma	LLoQ	2,66	0,24
	ULoQ	8,00	-0,26
Venøst DBS vs. plasma	LLoQ	2,66	0,15
	ULoQ	8,00	-0,17

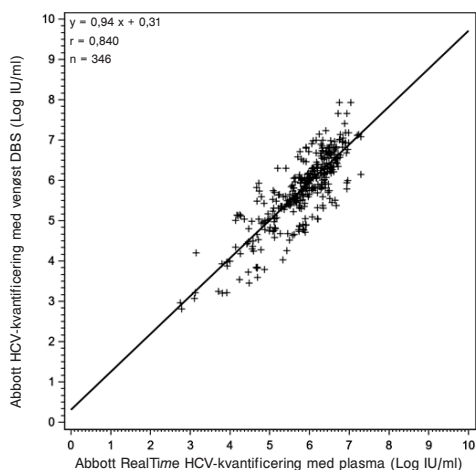
Figur 2. Kapillært DBS og plasma



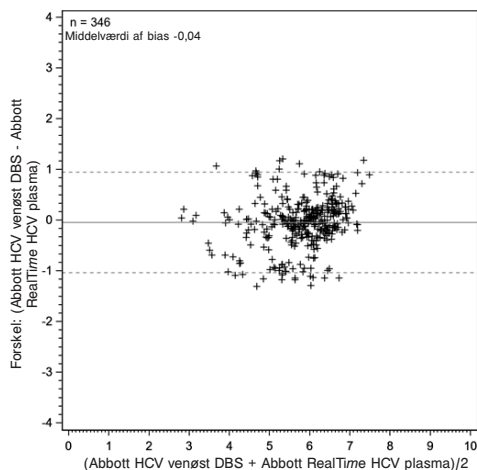
Figur 5. Kapillært DBS vs. plasma



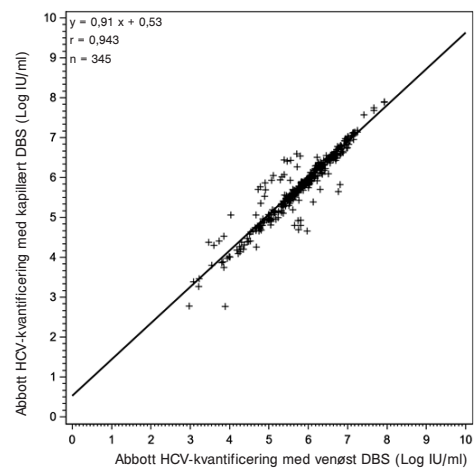
Figur 3. Venøst DBS og plasma



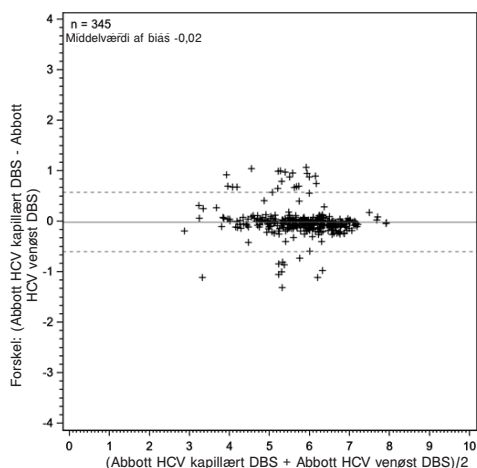
Figur 6. Venøst DBS vs. plasma



Figur 4. Kapillært DBS og venøst DBS



Figur 7. Kapillært DBS vs. venøst DBS



BIBLIOGRAFI

1. Gower E, Estes C, Blach S, Razavi-Shearer K, Razavi H. Global epidemiology and genotype distribution of the hepatitis C virus infection. *J Hepatol.* 2014;61(1 Suppl):S45-S57. doi:10.1016/j.jhep.2014.07.027
2. Guidelines for the screening, care and treatment of persons with chronic hepatitis C infection. World Health Organization (WHO); updated April 2016. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/205035>
3. AASLD/IDSA HCV guidance panel. *Recommendations for testing, managing, and treating hepatitis C.* AASLD/IDSA; updated October 24, 2022. <https://www.hcvguidelines.org/>
4. European Association for the Study of the Liver. EASL Recommendations on Treatment of Hepatitis C 2018. *J Hepatol.* 2018;69(2):461-511. doi:10.1016/j.jhep.2018.03.026
5. Miller MH, Agarwal K, Austin A, et al. Review article: 2014 UK consensus guidelines - hepatitis C management and direct-acting anti-viral therapy. *Aliment Pharmacol Ther.* 2014;39(12):1363-1375. doi:10.1111/apt.12764
6. Davis GL, Esteban-Mur R, Rustgi V, et al. Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin for the treatment of relapse of chronic hepatitis C. International Hepatitis Interventional Therapy Group. *N Engl J Med.* 1998;339(21):1493-1499. doi:10.1056/NEJM199811193392102
7. Manns MP, McHutchison JG, Gordon SC, et al. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial. *Lancet.* 2001;358(9286):958-965. doi:10.1016/s0140-6736(01)06102-5
8. Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR, et al. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med.* 2002;347(13):975-982. doi:10.1056/NEJMoa020047
9. Hadziyannis SJ, Sette H Jr, Morgan TR, et al. Peginterferon-alpha2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose. *Ann Intern Med.* 2004;140(5):346-355. doi:10.7326/0003-4819-140-5-200403020-00010
10. Orlent H, Deltenre P, Francque S, et al. Update of the Belgian Association for the Study of the Liver guidelines for the treatment of chronic hepatitis C genotype 1 with protease inhibitors. *Acta Gastroenterol Belg.* 2012;75(2):245-259.
11. Halfon P, Bourlière M, Pénaranda G, Khiri H, Ouzan D. Real-time PCR assays for hepatitis C virus (HCV) RNA quantitation are adequate for clinical management of patients with chronic HCV infection. *J Clin Microbiol.* 2006;44(7):2507-2511. doi:10.1128/JCM.00163-06
12. Kowdley KV, Nelson DR, Lalezari JP, et al. On-treatment HCV RNA as a predictor of sustained virological response in HCV genotype 3-infected patients treated with daclatasvir and sofosbuvir. *Liver Int.* 2016;36(11):1611-1618. doi:10.1111/liv.13165
13. Yoshida EM, Sulkowski MS, Gane EJ, et al. Concordance of sustained virological response 4, 12, and 24 weeks post-treatment with sofosbuvir-containing regimens for hepatitis C virus. *Hepatology.* 2015;61(1):41-45. doi:10.1002/hep.27366
14. WHO Guidelines on Hepatitis B and C Testing. World Health Organization (WHO); 2017. <https://www.who.int/publications/i/item/9789241549981>
15. Saldanha J, Heath A, Aberham C, et al. World Health Organization collaborative study to establish a replacement WHO international standard for hepatitis C virus RNA nucleic acid amplification technology assays. *Vox Sang.* 2005;88(3):202-204. doi:10.1111/j.1423-0410.2005.00606.x

TEKNISK ASSISTANCE

Ring til Abbotts kundeservice på telefon 39770000, eller besøg Abbotts websted på www.molecular.abbott for teknisk hjælp.

ERKLÆRING OM SAMMENFATNING AF SIKKERHED OG YDEEVNE

En sammenfatning af sikkerhed og ydeevne (SSP) for denne enhed er tilgængelig på <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>. Dette er placeringen af SSP efter lanceringen af den europæiske database for medicinsk udstyr. Søg efter udstyret ved hjælp af det UDI-DI, der er angivet på enhedens ydre emballage.

Abbott RealTime HCV importeres til den Europæiske Union af Abbott Diagnostics GmbH på adressen Max-Planck-Ring 2, 65205 Wiesbaden, Germany



Abbott Molecular Inc.
1300 East Touhy Avenue
Des Plaines, IL 60018 USA



Abbott GmbH
Max-Planck-Ring 2
65205 Wiesbaden, Germany



© 2020, 2024 Abbott. Alle rettigheder forbeholdes.

51-608440/R3

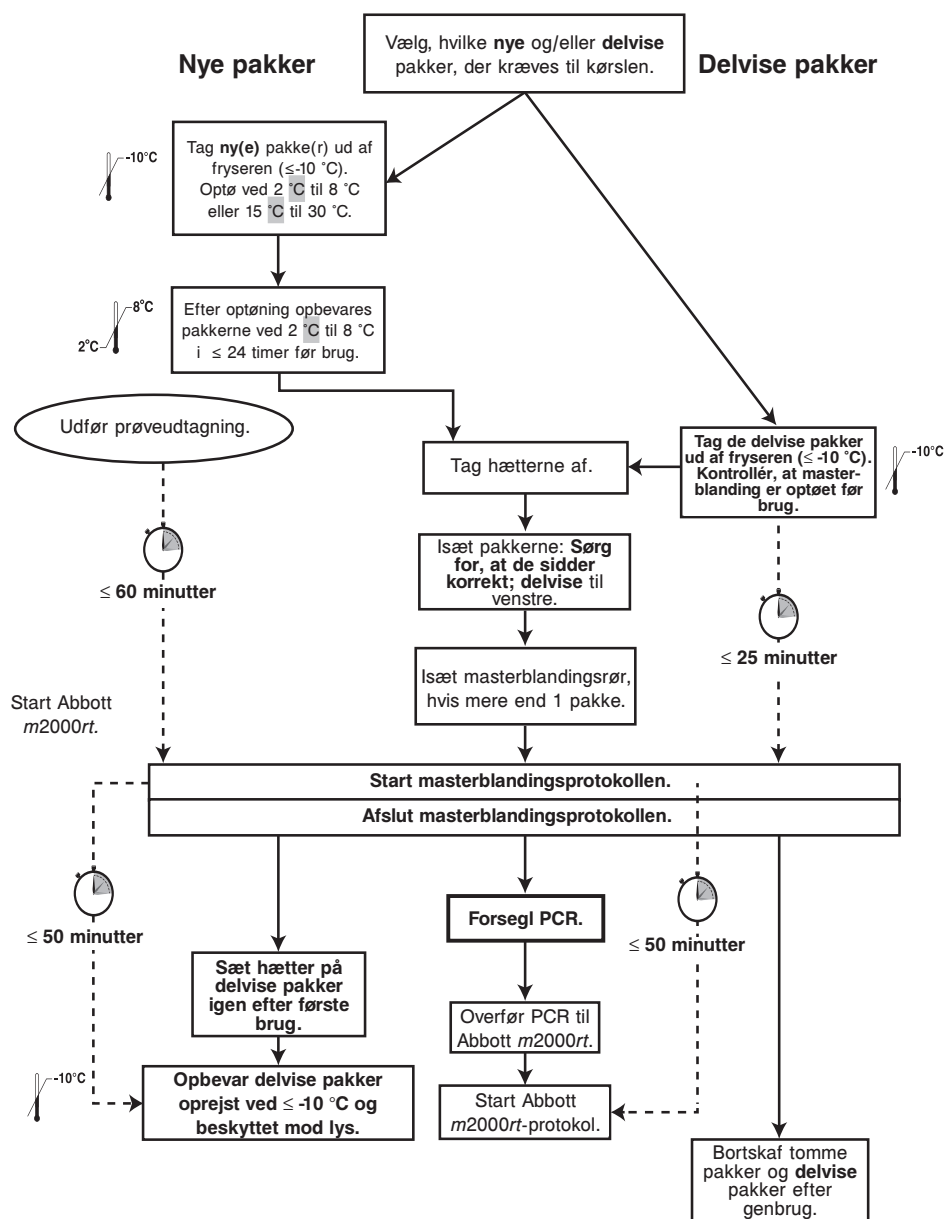
August 2024

APPENDIKS 1. OVERSIGT OVER FUNKTIONEN TIL FORLÆNGET ANVENDELSE AF ABBOTT REALTIME HCV-AMPLIFIKATIONSREAGENSET

Funktionen til forlænget anvendelse af amplifikationsreagenset gør det muligt at anvende en amplifikationsreagenspakke og en intern kontrol (IC) 2 gange i alt. Amplifikationsreagenspakker, der endnu ikke er blevet anvendt til at klargøre masterblandingen, kaldes **nye** amplifikationsreagenspakker. De amplifikationsreagenspakker, der er blevet anvendt én gang og indeholder klargjort masterblanding, kaldes **delvise** amplifikationsreagenspakker. Se instruktionerne i denne manual for yderligere oplysninger.

Opbevaringsbetingelser (amplifikationsreagenspakke og hætteglas med intern kontrol)		
Pakketype	Opbevaringstemperatur	Opbevaringstid
Nye pakker	-10 °C eller koldere	Indtil datoen på etiketten
Ny IC	-10 °C eller koldere	Indtil datoen på etiketten
Delvise pakker	-10 °C eller koldere (beskyttet mod lys)	Op til 14 dage efter brug første gang
Delvis IC	-10 °C eller koldere	Op til 14 dage efter brug første gang

- Hvis UNG anvendes til kontamineringskontrolproceduren, henvises der til analyseprotokollens trin 25 og 32 for specifikke instruktioner.



- Amplifikationsreagenspakker med mulighed for forlænget anvendelse skal have et 6-cifret serienummer angivet oven over stregkoden.
- Delvise** amplifikationsreagenspakker må kun genanvendes på det instrument, hvor de blev brugt første gang. Hvis de anvendes på et andet instrument, vil der opstå en procesfejl, hvilket kan forsinke kørslen.
- Delvise** og **nye** amplifikationsreagenspakker kan anvendes sammen. Alle amplifikationsreagenspakker, der anvendes til en kørsel på instrumentet, skal have det samme lotnummer.

Abbott RealTime HCV

Doplněk k zaschlé kapce krve (DBS - Dried Blood Spot)

CS

GTIN

REF

04J86-010

IVD

REF 04J86-010

51-608440/R3

51-608440/R3

POZNÁMKA: Změny zvýrazněny

Používané symboly	
	Globální číslo obchodní položky
	Katalogové číslo
	Diagnostické zdravotnické prostředky <i>in vitro</i>
	Maximální povolená doba
	Horní teplotní limit
	Teplotní limit
	Zplnomocněný zástupce v zemích Evropského společenství/Evropské unie
	Výrobce

ZÁKAZNICKÝ SERVIS:

KONTAKTUJTE ZÁSTUPCE SPOLEČNOSTI ABBOTT.

Před použitím si pozorně přečtěte tento příbalový leták. Postupujte přesně podle pokynů, které jsou v něm uvedeny. Při nedodržení pokynů v tomto příbalovém letáku nelze zaručit spolehlivost výsledků metody.

Tento příbalový leták (IFU) doplňuje informace uvedené v příbalovém letáku metody Abbott RealTime HCV (katalogové č. 4J86), konkrétně pro typ vzorku zaschlé kapky krve (DBS).

UPOZORNĚNÍ PRO UŽIVATELE

Vyskytne-li se v souvislosti s tímto prostředkem závažný incident, je nutné jej nahlásit výrobci a příslušnému orgánu členského státu, v němž má sídlo uživatel a/nebo pacient. Chcete-li podat výrobci zprávu, kontaktní informace naleznete v oddílu o zákaznické podpoře nebo technické podpoře v tomto návodu.

NÁZEV

Abbott RealTime HCV

URČENO K POUŽITÍ PRO DBS

Metoda Abbott RealTime HCV je *in vitro* polymerázová řetězová reakce s reverzní transkripcí (RT-PCR - Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction) ke kvantitativnímu stanovení RNA viru hepatitidy C (HCV RNA) v plné krvi nanesené na karty jako zaschlé kapky krve (DBS) (tj. získané venepunkcí nebo z kapilární krve) od jedinců infikovaných HCV. Metoda Abbott RealTime HCV je určena jako pomocný test při léčbě pacientů infikovaných HCV podstupujících antivirovou terapii. Metoda Abbott RealTime HCV není určena ke screeningu dárců krve, plazmy, séra nebo tkání na HCV, ani jako diagnostický test pro potvrzení přítomnosti infekce HCV.

UŽIVATEL

Cíloví uživatelé metody Abbott RealTime HCV jsou laboratorní profesionálové.

SHRNUTÍ A VYSVĚTLENÍ PRINCIPU TESTU

Virus hepatitidy C (HCV) je jednou z hlavních příčin onemocnění jater. Odhaduje se, že hepatitidou C je chronicky infikováno přibližně 1,1 % populace¹ a na jaterní onemocnění související s hepatitidou C každoročně zemře přibližně 700 000 lidí.² HCV je pozitivní-řetězový RNA virus a přenáší se primárně intravenózním užíváním drog a krevními produkty. Přibližně u 55 až 85 % jedinců infikovaných HCV se rozvine

chronická hepatitida, u 30 % chronicky infikovaných jedinců se vyvine cirhóza.¹ U pacientů s cirhózou je incidence hepatocelulárního karcinomu 2 až 4 % za rok.¹

Ukázalo se, že kvantitativní měření hladiny HCV RNA v periferní krvi je základním parametrem při různých anti-HCV terapiích.⁶⁻¹³ S příchodem přímo působících antivirových režimů se léčba infekce HCV dramaticky zdokonalila. Cílem léčby anti-HCV je dosáhnout trvalé virologické odpovědi (SVR), která je prezentována jako trvalá absence detekovatelné HCV RNA.²⁻⁵ Měření virové nálože HCV bylo použito k individualizaci trvání léčby a léčby řízené odpovědí nebo k určení a predikci trvalé nebo netrvalé virologické odpovědi na antivirovou terapii.²⁻⁵

Většina celosvětové zátěže HCV je v zemích s nízkými a středními příjmy (LMIC).¹⁴ Identifikace pacientů s aktivní infekcí HCV je v těchto oblastech s omezenými zdroji velmi limitovaná. Jako alternativu séra nebo plazmy lze pro vyšetření na HCV RNA použít plnou krev odebranou jako zaschlou kapku krve (DBS). DBS představuje schůdnou možnost, která eliminuje mnoho logistických a technických omezení spojených s odběrem, zpracováním, skladováním a přepravou séra nebo plazmy. Pokyny Světové zdravotnické organizace (WHO) pro testování hepatitidy C zahrnují doporučení použít DBS při virologických testech na HCV v oblastech s omezenými zdroji.¹⁴

Metoda Abbott RealTime HCV pro DBS využívá pro kvantifikaci HCV RNA v DBS technologii polymerázové řetězové reakce s reverzní transkripcí (RT-PCR) v kombinaci s homogenní real-time fluorescenční detekcí. Výběr konzervované oblasti genomu HCV umožňuje detekci genotypů 1 až 6. Tato metoda je standardizována vzhledem k mezinárodnímu standardu WHO pro RNA viru hepatitidy C (2nd WHO International Standard for Hepatitis C Virus RNA, [NIBSC kód 96/798])¹⁵ a výsledky jsou vydávány v mezinárodních jednotkách/ml (IU/ml) nebo v jeho logaritmickém ekvivalentu 10.

BIOLOGICKÉ PRINCIPY VYŠETŘOVACÍHO POSTUPU

Metoda Abbott RealTime HCV pro DBS vyžaduje 3 sady reagentů:

- Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit
- Abbott RealTime HCV Control Kit
- Abbott RealTime HCV Calibrator Kit

Metoda Abbott RealTime HCV pro DBS využívá ke generování produktu amplifikace z RNA genomu HCV v lidských vzorcích DBS techniku RT-PCR.

Kroky metody Abbott RealTime HCV pro DBS sestávají z předanalytické přípravy DBS, přípravy vzorku, sestavení RT-PCR, amplifikace, detekce a vydávání výsledků. Před vložením vzorku do systému Abbott m2000sp se provádí předanalytická příprava DBS pomocí sady Abbott mSample Preparation System DBS Buffer Kit. Po provedení předanalytické přípravy DBS se všechny následující kroky provedou na systémech Abbott m2000sp a Abbott m2000rt automaticky.

Další podrobnosti o přípravě vzorku, sestavení RT-PCR, amplifikaci a detekci jsou uvedeny v příbalovém letáku metody Abbott RealTime HCV (katalogové č. 4J86).

PRODLOUŽENÉ POUŽITÍ REAGENCIÍ PRO AMPLIFIKACI

Volitelná funkce prodlouženého použití reagentů pro amplifikaci umožňuje použít reagenční soupravy pro amplifikaci a IC celkem 2x. Reagenční soupravy pro amplifikaci obsahující připravený master mix lze skladovat při -10 °C nebo nižší, uzavřené víčky a chráněné před světlem po dobu až 14 dní pro druhé použití. Interní kontrolu (IC - Internal Control) lze použít podruhé během 14 dní, pokud je lahvička uzavřena víčkem a skladována při -10 °C nebo nižší. Druhé použití by nemělo překročit datum expirace reagentů.

Přehled této možnosti je uveden v Příloze 1 tohoto příbalového letáku. V tomto příbalovém letáku jsou reagenční soupravy pro amplifikaci a IC, které dosud nebyly použity, označeny jako nové reagenční soupravy pro amplifikaci a IC (tj. pro první použití). Reagenční soupravy pro amplifikaci, které byly jednou použity a obsahují připravený master mix, jsou označeny jako částečně spotřebované reagenční soupravy pro amplifikaci. Lahvičky s IC, které byly použity jednou, budou označovány jako částečně spotřebované lahvičky s IC.

PREVENCE KONTAMINACE NUKLEOVÉ KYSELINY

Viz příbalový leták metody Abbott RealTime HCV (katalogové č. 4J86).

REAGENCIE

Viz příbalový leták metody Abbott RealTime HCV (katalogové č. 4J86).

VAROVÁNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

IVD

Pro diagnostické účely *in vitro*

Metoda Abbott RealTime HCV pro DBS není určena ke screeningu dárců krve, plazmy, séra nebo tkání na HCV, ani jako diagnostický test pro potvrzení přítomnosti infekce HCV.

BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

Viz příbalový leták metody Abbott RealTime HCV (katalogové č. 4J86).

Metodu Abbott RealTime HCV pro DBS lze použít pouze na přístrojích Abbott m2000sp a Abbott m2000rt.

SPECIÁLNÍ BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

Bezpečnostní opatření při manipulaci se vzorky DBS

Metoda Abbott RealTime HCV pro DBS je určena pouze pro použití se vzorky plné krve nebo DBS, které byly odebrány a skladovány podle pokynů v oddílu **ODBĚR, SKLADOVÁNÍ A PŘEPRAVA VZORKŮ NA MÍSTO TESTU**.

Viz příbalový leták metody Abbott RealTime HCV (katalogové č. 4J86).

Bezpečnostní opatření při manipulaci specifická pro DBS:

- Zajistěte, aby karty DBS byly před uložením do sáčku s desikanty zcela vysušeny. Nesprávně nanesené kapky, sušení, skladování a manipulace s DBS mohou vést k nesprávným výsledkům testů.
- Aby při odběru kapky z perforované karty DBS nedošlo ke kontaminaci v důsledku přenosu, použijte pro každý vzorek DBS novou pipetovací špičku. Pokud se používá neperforovaná karta DBS, zajistěte, aby nástroj použitý k vyjmutí kapky byl před a po kontaktu se vzorkem DBS dekontaminován.

Pracovní oblasti

Při použití Abbott m2000sp a Abbott m2000rt jsou doporučeny pouze dvě vyhrazené oblasti, oblast pro přípravu vzorků a oblast pro amplifikaci.

Viz příbalový leták metody Abbott RealTime HCV (katalogové č. 4J86).

Kontaminace aerosolem

Viz příbalový leták metody Abbott RealTime HCV (katalogové č. 4J86).

Kontaminace a inhibice

Viz příbalový leták metody Abbott RealTime HCV (katalogové č. 4J86).

Kontaminace z externího produktu amplifikace obsahujícího dU

Laboratoře, ve kterých se používají nebo používaly metody amplifikace HCV zahrnující zpracování produktu amplifikace po PCR, mohou být kontaminovány produktem amplifikace obsahujícím dU. Taková kontaminace může způsobit nesprávné výsledky vyšetření metodou Abbott RealTime HCV pro DBS. Viz oddíl **Monitorování laboratoře na přítomnost kontaminace** v příbalovém letáku metody Abbott RealTime HCV (katalogové č. 4J86). Jestliže je dekontaminace laboratoře neúspěšná a negativní kontroly jsou trvale reaktivní nebo pokud je pravděpodobná kontaminace produktem amplifikace HCV obsahujícím dU, doporučuje se, aby laboratoře používaly postup kontroly kontaminace pomocí uracil-N-glykosylázy (UNG).

PODMÍNKY SKLADOVÁNÍ

Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit (katalogové č. 4J86-90)



- Nepoužívaná balení **nové a částečně spotřebované** reagenční soupravy pro amplifikaci Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Pack a lahvičky s interní kontrolou (IC) skladujte při -10°C nebo nižší. Zamezte přímému kontaktu používané reagenční soupravy pro amplifikaci Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Pack se vzorky, kalibrátory a kontrolami.
- Po prvním použití skladujte **částečně spotřebované** reagenční soupravy pro amplifikaci a IC při -10°C nebo nižší, uzavřené víčky, ve svislé poloze a chráněné před světlem. Takto skladované **částečně spotřebované** reagenční soupravy pro amplifikaci s připraveným master mixem lze použít podruhé do 14 dní od prvního použití. IC lze také použít podruhé během 14 dní od rozmrazení, pokud je skladována při -10°C nebo nižší, uzavřená víčkem. Po druhém použití částečně spotřebované reagenční soupravy pro amplifikaci a IC zlikvidujte. Druhé použití by nemělo překročit datum expirace reagentie.

Abbott RealTime HCV Control Kit (katalogové č. 4J86-80)



- Negativní a pozitivní kontroly Abbott RealTime HCV Negative and Positive Controls skladujte při -10°C nebo nižší.

Abbott RealTime HCV Calibrator Kit (katalogové č. 4J86-70)



- Kalibrátor A a kalibrátor B Abbott RealTime HCV skladujte při -10°C nebo nižší.

PŘEPRAVNÍ PODMÍNKY

Viz příbalový leták metody Abbott RealTime HCV (katalogové č. 4J86).

ZNÁMKY NESTABILITY NEBO ZHORŠENÍ KVALITY REAGENCIÍ

Viz příbalový leták metody Abbott RealTime HCV (katalogové č. 4J86).

ZPŮSOB PRÁCE S PŘÍSTROJEM

Před zahájením vyšetření musí být do přístrojů Abbott m2000sp a Abbott m2000rt nainstalován aplikační soubor Abbott RealTime HCV for DBS z Abbott RealTime HCV m2000 ROW System Combined Application CD-ROM (katalogové č. 01L69-040 nebo vyšší). Podrobné informace o instalaci aplikačního souboru jsou uvedeny v uživatelských příručkách přístrojů Abbott m2000sp a Abbott m2000rt, kapitola Provozní pokyny.

ODBĚR, SKLADOVÁNÍ A PŘEPRAVA VZORKŮ NA MÍSTO TESTU

Odběr a skladování vzorků

- K přípravě DBS použijte plnou krev odebranou do EDTA nebo píchnutím do prstu. Plnou krev odebranou do EDTA je třeba během skladování a přepravy udržovat při kontrolovaných teplotních podmínkách (2°C až 8°C po dobu až 48 hodin nebo při teplotě okolí nepřesahující 30°C po dobu až 24 hodin).
- Plnou krev odebranou do EDTA ve zkumavce je nutno před aplikací na karty důkladně promíchat opatrným převrácením zkumavky. Při aplikaci krve vytvořte na papírových kartách Ahlstrom-Munktel TFN nebo Whatman 903 kapky o velikosti 12 milimetrů a ujistěte se, že jste pokryli celý kruh. Pro zajištění plného pokrytí se doporučuje použít nejméně 70 μl krve (přibližně 3 až 5 kapek krve) na každý kruh.
- Kartu nechte sušit na vzduchu při teplotě okolí minimálně 3 hodiny. Každou kartu vložte do uzavíratelného sáčku se sáčky s desikantem (alespoň 2 až 3 sáčky s desikantem).
- Karty s DBS vzorky lze před zpracováním metody skladovat za podmínek uvedených v tabulce níže.

Skladování karet s DBS vzorky	
Stav	Maximální doba skladování
2°C až 30°C při přirozené vlhkosti	18 týdnů
$\leq 37^{\circ}\text{C}$ při přirozené vlhkosti	12 týdnů
$\leq 45^{\circ}\text{C}$ při přirozené vlhkosti	8 týdnů
$\leq 38^{\circ}\text{C}$ při vysoké vlhkosti ($\leq 85\%$)	4 týdny
-25°C až -15°C při přirozené vlhkosti	18 týdnů
-70°C nebo nižší při přirozené vlhkosti	18 týdnů

Přeprava vzorků

Vzorky přepravujte v souladu s doporučenou teplotou a dobou skladování uvedenou výše v oddílu **Odběr a skladování vzorků**. Pro vnitrostátní a mezinárodní zásilky musí být vzorky zabaleny a označeny v souladu s příslušnými předpisy pro přepravu klinických, diagnostických nebo biologických vzorků.

PROVEDENÍ METODY ABBOTT REALTIME HCV PRO DBS

Požadované materiály, které nejsou součástí dodávky

- Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit (katalogové č. 4J86-90)
- Abbott RealTime HCV Calibrator Kit (katalogové č. 4J86-70)
- Abbott RealTime HCV Control Kit (katalogové č. 4J86-80)

Pro oblast pro přípravu vzorků pro přístroj Abbott m2000sp

- Abbott mSample Preparation System DBS Buffer Kit (katalogové č. 09N02-001)
- Přístroj Abbott m2000sp (katalogové č. 09K14-01, 09K14-02)
- Abbott mSample Preparation System (4 × 24 příprav) (katalogové č. 04J70-24)
- Kalibrované přesné pipety k dávkování objemu 20 až 1 000 µl (při použití UNG mohou být požadovány kalibrované přesné pipety k dávkování objemu < 20 µl).
- Pipetovací špičky s ochrannou bariérou proti aerosolům pro 20 až 1 000 µl pipety (při použití UNG mohou být požadovány pipetovací špičky s ochrannou bariérou proti aerosolům k dávkování objemu < 20 µl.)
- Vortex
- Zkumavka na master mix (katalogové č. 04J71-80)
- Abbott 96-Deep-Well Plate (katalogové č. 04J71-30)
- 5 ml reakční nádobky (katalogové č. 04J71-20)
- 200 ml nádobky na reagencie (katalogové č. 04J71-60)
- Abbott 96-Well Optical Reaction Plate (katalogové č. 04J71-70)
- Abbott Optical Adhesive Covers (katalogové č. 04J71-75)
- Abbott Adhesive Cover Applicators (katalogové č. 9K32-01)
- Abbott Splash-Free Support Base (katalogové č. 9K31-01)
- Abbott RealTime HCV m2000 ROW System Combined Application CD-ROM (katalogové č. 01L69-040 nebo vyšší)
- m2000 System 13mm DBS-PoS Set (katalogové č. 09N03-001)
- 15 mm víčka na 1,4 ml mikrozkušavky (katalogové č. 03N20-01) volitelné
- Uracil N-glykosyláza (UNG)^a (katalogové č. 6L87-02)

^aV případě potřeby, dle oddílu **Kontaminace z externího produktu** amplifikace obsahujícího dU v tomto příbalovém letáku.

Pro přístroj Abbott m2000rt pro oblast pro amplifikaci

- Přístroj Abbott m2000rt (katalogové č. 9K15-01)
- Abbott RealTime HCV m2000 ROW System Combined Application CD-ROM (katalogové č. 01L69-040 nebo vyšší)
- Abbott m2000rt Optical Calibration Kit (katalogové č. 04J71-93)

Další materiály

- Laminární box schválený pro práci s infekčními materiály
- Uzavíratelný sáček pro kartu DBS
- Sada s desikantem pro kartu DBS
- Papírová karta Ahlstrom-Munktel TFN a/nebo Whatman 903
- Uzavíratelný plastový sáček pro likvidaci reakční destičky s 96 jamkami
- Voda bez RNáz (Eppendorf nebo ekvivalentní)^b
- 1,7 ml centrifugační mikrozkušavky pro molekulární biologii (Dot Scientific, Inc. nebo ekvivalentní)^b
- Tyčinky s vatovým tampónem (Puritan nebo ekvivalentní)^b

^bPoznámka: Tyto 3 položky se používají v postupu pro monitorování laboratoře na přítomnost kontaminace. Viz oddíl **POSTUPY KONTROLY KVALITY** v příbalovém letáku metody Abbott RealTime HCV (katalogové č. 4J86).

Bezpečnostní opatření při provádění metody

- Před zpracováním vzorků si pozorně přečtěte pokyny v tomto příbalovém letáku.
- Reagencie pro amplifikaci a interní kontrola mohou být použity až 2x, jak je popsáno v tomto příbalovém letáku. Kalibrátory Abbott RealTime HCV Calibrators, lahvičky s negativní kontrolou, s nízkou pozitivní kontrolou a s vysokou pozitivní kontrolou jsou určeny pouze na jednorázové použití a poté se musí zlikvidovat.

- Při pipetování vzorků nebo IC používejte pipetovací špičky s ochrannou bariérou proti aerosolům nebo jednorázové pipety pouze jednou. Při pipetování dbejte, aby se tělo (válec) pipety nedotklo vnitřku zkumavky nebo nádobky se vzorkem, aby nedošlo ke kontaminaci. Doporučuje se používat prodloužené pipetovací špičky s ochrannou bariérou proti aerosolům.
- Postupy monitorování na přítomnost produktu amplifikace jsou uvedeny v oddílu **POSTUPY KONTROLY KVALITY**.
- Pro snížení rizika kontaminace nukleové kyseliny vyčistěte rozlité vzorky a místo vydesinfikujte tuberkulocidním desinfekčním prostředkem, např. 1,0% chlornanem sodným nebo jiným vhodným desinfekčním prostředkem.
- Kalibrátory a kontroly Abbott RealTime HCV se musí připravovat spolu s testovanými vzorky. Použití kontrol a kalibrátorů Abbott RealTime HCV je integrální součástí funkčnosti metody Abbott RealTime HCV. Viz oddíl **POSTUPY KONTROLY KVALITY**.
- Protokol přidávání master mixu na přístroji Abbott m2000sp se musí spustit do 1 hodiny od dokončení přípravy vzorku.
- Při ukončení protokolu přidávání master mixu na přístroji Abbott m2000sp zlikvidujte reagencie pro amplifikaci, které byly použity podruhé. Nevyužitou část nových reagenčních souprav použitých poprvé lze uskladnit pro pozdější použití podle pokynů v tomto návodu.
- Protokol Abbott m2000rt se musí spustit do 50 minut od spuštění protokolu přidávání master mixu. Jestliže není série vyšetření na přístroji Abbott m2000rt zahájena do 50 minut nebo je přerušena či ukončena, vložte optickou reakční destičku Abbott s 96 jamkami do uzavíratelného plastového sáčku a spolu s ochrannými rukavicemi použitými k manipulaci s destičkou ji zlikvidujte podle pokynů uvedených v Uživatelské příručce přístroje Abbott m2000rt.

DŮLEŽITÉ UPOZORNĚNÍ: Reagencie pro amplifikaci, které budou použity podruhé, musí být uskladněny při –10 °C nebo nižší do 50 minut od zahájení protokolu přidávání master mixu.

PROTOKOL METODY: VZORKY DBS ZA POUŽITÍ PŘÍSTROJŮ ABBOTT m2000sp A ABBOTT m2000rt

Podrobný popis zpracování na přístroji Abbott m2000sp a Abbott m2000rt je uveden v uživatelských příručkách přístrojů Abbott m2000sp a Abbott m2000rt, kapitola Provozní pokyny. Protokol DBS vyžaduje software Abbott m2000sp verze 6.0 nebo vyšší. Postupujte podle uživatelské příručky Abbott m2000sp (katalogové č. 09K20 verze 6 nebo vyšší).

Během jedné série vyšetření lze zpracovat celkem 96 vzorků. Do každé série vyšetření jsou zařazeny negativní kontrola, nízká pozitivní kontrola a vysoká pozitivní kontrola Abbott RealTime HCV, takže během jedné série lze zpracovat maximálně 93 DBS vzorků na sérii, pokud nejsou zahrnuty kalibrátory. Kalibrátory a kontroly zpracovávají přímo jako kapalně vzorky; kroky 1 až 5 jsou pouze pro DBS. Nezpracovávají vzorky plazmy nebo séra v žádné sérii, kde se používá protokol DBS. Pro jednotlivé vzorky DBS by se měla v rámci celého zpracování vzorku použít jedna zkumavka na master mix Abbott Master Mix Tube. Zajistěte, aby vzorky DBS byly během zpracování označeny štítkem.

- Naplňte zkumavku Abbott Master Mix Tube 1,3 ml pufru mDBS ze sady Abbott mSample Preparation system DBS Buffer Kit (katalogové č. 09N02-001).

POZNÁMKA: V tomto kroku nepoužívejte pufr mLysis Buffer ani žádné jiné reagencie.

- Podržte perforovanou papírovou kartu DBS nad zkumavkou na mastex mix Abbott Master Mix Tube.
- Vytlačte kruh DBS z karty pomocí čisté pipetovací špičky, 1 kruh DBS na jednu zkumavku na master mix Abbott Master Mix Tube. Každý DBS by měl mít průměr přibližně 12 mm.

POZNÁMKA: PRO KAŽDÝ VZOREK DBS POUŽIJTE NOVOU PIPETOVACÍ ŠPIČKU, ABY SE PŘEDEŠLO VZÁJEMNÉ KONTAMINACI.

Alternativně z neperforovaného papíru DBS vyřízněte 1 celý DBS (o průměru přibližně 12 mm) pro každý vzorek a přeneste jej do zkumavky na master mix Abbott Master Mix Tube.

POZNÁMKA: Vyhnete se přímému kontaktu řezného povrchu se vzorky DBS. Dekontaminujte nástroj použitý k vyříznutí DBS mezi vzorky, je-li to nutné, v souladu s pravidly správné laboratorní praxe.

- Poklepáním na zkumavku nebo zatlačením DBS do pufru pomocí pipetovací špičky zajistěte, aby byl kruh DBS zcela ponořen v pufru mDBS Buffer.

POZNÁMKA: Pokud k zatlačení DBS do pufru používáte pipetovací špičku, zajistěte, aby nedošlo ke ztrátě objemu pufru DBS z důvodu zachycení kapaliny na špičce a/nebo absorpci pufru filtrem špičky.

- Manuálně protřepejte nebo zakružte zkumavkami se vzorky. Vzorky nemíchejte na vortexu. Inkubujte po dobu 30 minut (± 2 minuty) při teplotě okolí.
- Mezitím nechte rozmrazit kontroly metody a IC při 15 °C až 30 °C nebo při 2 °C až 8 °C. Kalibrátory nechte rozmrazit při 15 °C až 30 °C nebo při 2 °C až 8 °C pouze v případě, že provádíte kalibraci.

POZNÁMKA: Po rozmrazení lze kontroly metody, IC a kalibrátory před použitím skladovat při 2 °C až 8 °C až 24 hodin.

- Před použitím každý kalibrátor metody a každou kontrolu metody promíchejte 3x na vortexu po dobu 2 až 3 sekund. Po promíchání obsahu lahviček na vortexu poklepejte každou lahvičkou o desku stolu, aby se kapalina dostala na její dno. Zajistěte, aby se nevytvářely bubliny nebo pěna; pokud jsou přítomny, odstraňte je pomocí sterilní pipetovací špičky a pro každou lahvičku použijte novou špičku.
- Reagencie pro amplifikaci nechte rozmrazit při 15 °C až 30 °C nebo při 2 °C až 8 °C a skladujte je při 2 °C až 8 °C, dokud nejsou zapotřebí pro amplifikaci master mixu.
- Zvolte, zda pro sérii vyšetření použijete **nové** a/nebo **částečně spotřebované** reagenční soupravy pro amplifikaci. Pokyny týkající se správy zásob reagenčních souprav pro amplifikaci jsou uvedeny v Uživatelské příručce přístroje Abbott m2000sp (katalogové č. 09K20 verze 6 nebo vyšší), kapitola Provozní pokyny. Reagenční soupravy pro amplifikaci musí mít stejné číslo šarže. **Nové** reagenzie pro amplifikaci nechte rozmrazit při 15 °C až 30 °C nebo při 2 °C až 8 °C a skladujte je při 2 °C až 8 °C, dokud nejsou zapotřebí pro amplifikaci master mixu.

POZNÁMKA: Jestliže nejsou nové reagenzie pro amplifikaci použity ihned po rozmrazení, lze je skladovat při 2 °C až 8 °C až 24 hodin. Částečně spotřebované reagenční soupravy pro amplifikaci, které budou použity podruhé, NESKLADUJTE před použitím při 2 °C až 8 °C. Skladujte je při –10 °C nebo nižší, dokud je nebudete potřebovat pro přidávání master mixu. Jakmile je vyjmete z mrazicího zařízení, celková doba vystavení pokojové teplotě nesmí přesáhnout 25 minut, včetně doby, kdy jsou soupravy vyjmuty z místa uskladnění, ale nejsou ještě používány. Po uplynutí 25 minut částečně spotřebované reagenční soupravy pro amplifikaci zlikvidujte.

V následující tabulce je uveden počet potřebných lahviček reagenzií pro přípravu vzorků a lahviček s interní kontrolou podle počtu reakcí.

Požadavky týkající se reagenzií pro přípravu vzorků a interní kontroly				
Reagencie	1 až 24 reakcí	25 až 48 reakcí	49 až 72 reakcí	73 až 96 reakcí
mMicroparticles	1 lahvička	2 lahvičky	2 lahvičky	2 lahvičky
mLysis	1 lahvička	2 lahvičky	3 lahvičky	4 lahvičky
mWash 1	1 lahvička	2 lahvičky	3 lahvičky	4 lahvičky
mWash 2	1 lahvička	2 lahvičky	3 lahvičky	4 lahvičky
mElution Buffer	1 lahvička	2 lahvičky	3 lahvičky	4 lahvičky
Interní kontrola ^a	1 nová lahvička nebo 1 částečně spotřebovaná lahvička	1 nová lahvička nebo 2 částečně spotřebované lahvičky	2 nové lahvičky nebo 3 částečně spotřebované lahvičky	2 nové lahvičky nebo 4 částečně spotřebované lahvičky

^a Nové a částečně spotřebované lahvičky s interní kontrolou lze použít společně.

- Lahvičky soupravy s reagenziemi systému pro přípravu vzorků Abbott mSample Preparation opatrně převraťte, abyste zajistili homogenitu roztoku. Pokud se při otevření v některé lahvičce s reagenziemi vyskytnou krystaly, nechte reagenzie temperovat při pokojové teplotě, dokud krystaly nezmizí. Reagenzie nepoužívejte, dokud se krystaly nerozpustí.
- Před použitím lahvičky s IC promíchejte 3x na vortexu po dobu 2 až 3 sekund.
- Pomocí kalibrované přesné pipety **VYHRAZENÉ POUZE PRO INTERNÍ KONTROLU** přidejte 500 µl IC do každé lahvičky s pufrém mLysis Buffer. Nádobku 5 až 10x promíchejte opatrným převrácením, aby se minimalizovala tvorba pěny. Částečně spotřebované lahvičky s IC lze znovu uzavřít víčky a uskladnit při –10 °C nebo nižší pro druhé použití.
- Nízkou a vysokou pozitivní kontrolu, negativní kontrolu a kalibrátory podle potřeby vložte do stojánku na vzorky přístroje Abbott m2000sp.

- Po dokončení inkubace manuálně protřepejte nebo zakružte zkumavkami se vzorky DBS a poté je vložte do stojánku na vzorky přístroje Abbott m2000sp.

POZNÁMKA: Ujistěte se, že stojánky na vzorky přístroje Abbott m2000sp byly kalibrovány speciálně pro postup Abbott RealTime HCV pro DBS.

- Pečlivě naplňte stojánky na vzorky, aby nedošlo k rozstříku. Při použití musí být čárové kódy na štítcích zkumavek pro skenování natočeny vpravo. Ujistěte se, že je každá zkumavka bezpečně umístěna ve stojánku na vzorky tak, aby spodní část zkumavky byla usazena na dně stojánku.
- Do přístroje Abbott m2000sp vložte naplněné stojánky na vzorky na po sobě jdoucí pozice, přičemž první stojánek je na pracovní desce úplně vpravo a další stojánky se přidávají postupně nalevo od prvního stojánku.
- 5 ml reakční nádoby vložte do 1 ml nosiče subsystému Abbott m2000sp.
- Reagencie systému pro přípravu vzorků Abbott mSample Preparation System a destičku Abbott s 96 hlubokými jamkami vložte na pracovní desku přístroje Abbott m2000sp podle pokynů uvedených v Uživatelské příručce přístroje Abbott m2000sp, kapitola Provozní pokyny.
- Na obrazovce Protocol (Protokol) vyberte aplikační soubor HCV RNA DBS. Spusťte protokol extrakce vzorků podle pokynů uvedených v Uživatelské příručce přístroje Abbott m2000sp, kapitola Provozní pokyny.
- Zadejte hodnoty kalibrátorů (nutné, pokud v přístroji Abbott m2000rt nebyla uložena kalibrační křivka) a kontrol specifické pro danou šarži do polí Sample Extraction (Extrakce vzorků): Worktable Setup, Calibrator and Control (Nastavení pracovní desky, kalibrátor a kontrola). Hodnoty specifické pro danou šarži jsou uvedeny na kartě každé sady kalibrátorů a kontrol Abbott RealTime HCV.
- Protokol přidávání master mixu Abbott m2000sp (krok 28) se musí zahájit do 1 hodiny od dokončení přípravy vzorků.

POZNÁMKA: Před manipulací s reagenziemi pro amplifikaci použijte čisté ochranné rukavice.

- Po dokončení přípravy vzorků vložte reagenzie pro amplifikaci a zkumavky na master mix (podle potřeby) na pracovní desku přístroje Abbott m2000sp. V následující tabulce je uveden potřebný počet reagenčních souprav pro amplifikaci podle počtu reakcí. Pokud bude použita pouze 1 reagenční souprava pro amplifikaci, není požadována zkumavka na master mix.

Požadavky týkající se reagenční soupravy pro amplifikaci ^a			
1 až 24 reakcí	25 až 48 reakcí	49 až 72 reakcí	73 až 96 reakcí
1 nová ; max. 4 částečně spotřebované soupravy	2 nové ; max. 4 částečně spotřebované soupravy	3 nové ; max. 4 částečně spotřebované soupravy	4 nové nebo částečně spotřebované soupravy

^a Pokyny týkající se správy zásob pro určení maximálního počtu reakcí, které lze provést při výběru částečně spotřebovaných souprav, jsou uvedeny v Uživatelské příručce přístroje Abbott m2000sp (katalogové č. 09K20 verze 6 nebo vyšší).

- Částečně spotřebované reagenční soupravy pro amplifikaci lze použít pouze na stejném přístroji Abbott m2000sp, na kterém byla provedena první příprava reagenční soupravy. Druhé použití reagenční soupravy pro amplifikaci na jiném přístroji způsobí chybu, která může zpomalit analýzu.
- Částečně spotřebované a nové reagenční soupravy pro amplifikaci lze používat společně.

DŮLEŽITÉ UPOZORNĚNÍ: Částečně spotřebované reagenční soupravy pro amplifikaci skladujte při –10 °C nebo nižší až do okamžiku, kdy je použijete podruhé. Před umístěním částečně spotřebované soupravy na pracovní desku přístroje Abbott m2000sp ověřte, že je master mix rozmrazený. Jakmile jsou částečně spotřebované reagenční soupravy pro amplifikaci vyjmuty z –10 °C nebo nižší, musí být použity podruhé do 25 minut nebo zlikvidovány. Jedná se o celkovou dobu vystavení pokojové teplotě včetně doby, kdy jsou soupravy vyjmuty z místa uskladnění, ale nejsou ještě používány.

- Zajistěte, aby před otevřením byl obsah nových reagenčních souprav pro amplifikaci na dně lahviček, a to poklepáním lahvičkami ve svislé poloze o desku stolu 5 až 10x.

- Nepoklepávejte částečně spotřebovanými reagenčními soupravami pro amplifikaci, které se používají podruhé. Poklepání může vést k zachycení části objemu master mixu ve víčku.
24. Odstraňte víčka. Pokud budete nové reagenční soupravy pro amplifikaci skladovat pro druhé použití, bude třeba lahvičky před uskladněním znovu uzavřít víčky. Pokud chcete pro uzavření lahviček na reagentie znovu použít původní víčka, uschovejte je. Pokud chcete pro opětovné uzavření lahviček na reagentie použít nová víčka, můžete původní víčka zlikvidovat.

Pokud se ke kontrole kontaminace používá uracil N-glykosyláza (UNG), postupujte podle níže uvedených pokynů.

25. Používejte PIPETU VYHRAZENOU POUZE PRO REAGENCIÍ pro dávkování předepsaného objemu UNG o koncentraci 1 U/μl (katalogové č. 6L87-02) do lahvičky na reagentie na pozici 3 nové či částečně spotřebované reagenční soupravy pro amplifikaci. Všechny částečně spotřebované soupravy manuálně promíchejte opatrným nasátím a vypuštěním obsahu pipety. Nové sady nemíchejte.
- K určení objemu UNG, který se má nadávkovat do lahvičky na reagentie na pozici 3 nové či částečně spotřebované reagenční soupravy pro amplifikaci, použijte níže uvedenou tabulku. Lahvička na pozici 3 nové reagenční soupravy obsahuje termostabilní enzym rTth polymerázu. Lahvička na pozici 3 částečně spotřebované reagenční soupravy obsahuje master mix.

Objem UNG přidávaný do lahvičky na reagentie na pozici 3 každé reagenční soupravy pro amplifikaci	
Počet testů zbývajících v soupravě	Přidávaný objem UNG (μl)
1	5
2	6
3	7
4	8
5	9
6	10
7	11
8	12
9	13
10	13
11	14
12	15
13	16
14	17
15	18
16	19
17	20
18	21
19	22
20	23
21	24
22	25
23	26
24 (nová sada)	27

POZNÁMKA: Objem UNG přidávaný do lahvičky na reagentie na pozici 3 závisí na počtu testů, které zbývají v reagenční soupravě, a nikoli na počtu vzorků, které se mají vyšetřit. Pokyny týkající se správy zásob reagenčních souprav pro amplifikaci a určení počtu testů, které zbývají v reagenční soupravě, jsou uvedeny v Uživatelské příručce přístroje Abbott m2000sp.

26. Částečně spotřebované soupravy pro amplifikaci se na pracovní desku přístroje Abbott m2000sp vkládají nalevo od nových reagenčních souprav pro amplifikaci.
27. Ujistěte se, že reagenční soupravy pro amplifikaci jsou v přístroji pevně usazené.
28. Vyberte příslušnou destičku s hlubokými jamkami, která odpovídá příslušné extrakci vzorku. Spusťte protokol přidávání master mixu na přístroji Abbott m2000sp. Postupujte podle pokynů uvedených v Uživatelské příručce přístroje Abbott m2000sp, kapitola Provozní pokyny.

POZNÁMKA: Obsluha nesmí manuálně plnit žádné prázdné / nenaplněné jamky optické reakční destičky Abbott s 96 jamkami.

- Po dokončení extrakce vzorků přístroj Abbott m2000sp automaticky naplní všechny prázdné jamky optické reakční destičky Abbott s 96 jamkami puřrem mElution Buffer, pokud se v jedné sérii vyšetření zpracovává více než 48 vzorků. K naplnění destičky nedojde u sérii vyšetření, které zahrnují 48 nebo méně vzorků.

- Na výzvu přístroje ponechte na místě nosič reagentů č. 2 (Reagent Carrier 2) obsahující alespoň nádobku na reagentie pro puř mElution Buffer (Reagent Carrier 2, pozice 6). Pokud byla tato nádobka na reagentie vyjmuta, vložte do nosiče reagentů č. 2 (Reagent Carrier 2), pozice 6, novou nádobku na reagentie s označením mElution Buffer. Do této nádoby na reagentie bude systémem dodána kapalina, která se použije pro naplnění prázdných jamek. Po dokončení tohoto postupu bude systém pokračovat v přidávání master mixu.

POZNÁMKA: Systémový návod pro použití funkce automatického plnění destičky je uveden v Uživatelské příručce přístroje Abbott m2000sp (katalogové č. 09K20 verze 6 nebo vyšší), kapitola 5, Provozní pokyny, Extrakce vzorku - Uzavřený režim.

- Protokol Abbott m2000rt (krok 33) se musí spustit do 50 minut od zahájení protokolu přidávání master mixu (krok 28).

POZNÁMKA: Při ukončení procesu z jakéhokoli důvodu, ke kterému dojde po kroku 28, se musí použít nová optická reakční destička Abbott s 96 jamkami, pokud se bude na přístroji Abbott m2000sp opakovat protokol přidávání master mixu (krok 28).

29. Zapněte a spusťte přístroj Abbott m2000rt v oblasti pro amplifikaci.

POZNÁMKA: Zahřívání přístroje Abbott m2000rt trvá 15 minut.

POZNÁMKA: Před návratem do oblasti pro přípravu vzorků si sundejte ochranné rukavice.

30. Jakmile přístroj Abbott m2000sp dokončí přidávání vzorků a master mixu, uzavřete optickou reakční destičku Abbott s 96 jamkami podle pokynů uvedených v Uživatelské příručce přístroje Abbott m2000sp, kapitola Provozní pokyny.

31. Vložte uzavřenou optickou reakční destičku na odkládací podložku Abbott s ochranou proti rozstříku, abyste ji mohli přenést do přístroje Abbott m2000rt.

Pokud používáte uracil N-glykosylázu (UNG), postupujte podle následujících pokynů:

32. Přeneste uzavřenou optickou reakční destičku na odkládací podložku Abbott s ochranou proti rozstříku a inkubujte při pokojové teplotě (15 °C až 30 °C) po dobu 10 minut. Po inkubaci při pokojové teplotě přeneste optickou reakční destičku Abbott s 96 jamkami na odkládací podložku Abbott s ochranou proti rozstříku do přístroje Abbott m2000rt.
33. Optickou reakční destičku Abbott s 96 jamkami vložte do přístroje Abbott m2000rt. Na obrazovce Protocol (Protokol) vyberte příslušný aplikační soubor HCV RNA DBS. Spusťte protokol podle pokynů uvedených v Uživatelské příručce přístroje Abbott m2000rt, kapitola Provozní pokyny.

POZNÁMKA: Doporučuje se přenést objednávku testu pomocí CD-ROM nebo síťového disku pomocí funkcí pro export a import v softwaru přístroje m2000sp a m2000rt. Pokud vytváříte objednávku testů na přístroji Abbott m2000rt manuálně, zadávejte ID vzorků, která odpovídají pozicím PCR destičky, shodně se souřadnicemi „Wells for Selected Plate“ (Jamky zvolené destičky), které naleznete na obrazovce s detaily „PCR Plate Results“ (Výsledky destičky PCR) na přístroji Abbott m2000sp. Viz kapitola 5 Uživatelské příručky přístroje Abbott m2000sp.

34. Pokud bude připravená částečně spotřebovaná reagenční souprava pro amplifikaci použita podruhé, uzavřete 3 lahvičky na reagentie uschovanými nebo novými víčky (katalogové č. 3N20-01) a ihned reagentie uskladněte při -10 °C nebo nižší, ve svislé poloze a chráněné před světlem. Zlikvidujte veškeré reagenční soupravy pro amplifikaci, které jsou spotřebované nebo byly použity dvakrát.

DŮLEŽITÉ UPOZORNĚNÍ: Reagentie pro amplifikaci, které budou použity podruhé, musí být uskladněny při -10 °C nebo nižší do 50 minut od zahájení protokolu přidávání master mixu.

POSTUPY PO ZPRACOVÁNÍ

1. Vyjměte destičku Abbott s 96 hlubokými jamkami z pracovní plochy a zlikvidujte ji podle pokynů uvedených v Uživatelské příručce přístroje Abbott m2000sp.
2. Optickou reakční destičku Abbott s 96 jamkami vložte do uzavíratelného plastového sáčku a spolu s ochrannými rukavicemi použijte k manipulaci s destičkou ji zlikvidujte podle pokynů uvedených v Uživatelské příručce přístroje Abbott m2000rt.
3. Odkládací podložku Abbott s ochranou proti rozstříku před dalším použitím vyčistěte podle pokynů uvedených v Uživatelské příručce přístroje Abbott m2000rt.

POSTUPY KONTROLY KVALITY

Optická kalibrace přístroje Abbott m2000rt

Viz příbalový leták metody Abbott RealTime HCV (katalogové č. 4J86).

Kalibrace metody

Viz příbalový leták metody Abbott RealTime HCV (katalogové č. 4J86). Pro testování DBS za použití Abbott m2000sp a Abbott m2000rt: jakmile je kalibrace metody Abbott RealTime HCV akceptována a uložena, lze ji používat po dobu 6 měsíců. Během této doby lze všechny následující vzorky testovat bez další kalibrace až do okamžiku, kdy:

- Je použita nová šarže reagenční soupravy pro amplifikaci Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit.
- Je použita nová šarže systému pro přípravu vzorků Abbott mSample Preparation System (4 x 24 příprav).
- Byl nainstalován nový aplikační soubor Abbott RealTime HCV RNA DBS.

Detekce inhibice

Viz příbalový leták metody Abbott RealTime HCV (katalogové č. 4J86).

Negativní a pozitivní kontroly

Viz příbalový leták metody Abbott RealTime HCV (katalogové č. 4J86).

Monitorování laboratoře na přítomnost kontaminace

Viz příbalový leták metody Abbott RealTime HCV (katalogové č. 4J86).

VÝSLEDKY PRO VZORKY DBS

Vydaný výsledek koncentrace vzorku DBS z vyšetření za použití protokolu Abbott m2000rt DBS představuje koncentraci viru HCV v plazmě ze vzorku plné krve, ze kterého se vzorek DBS odebírá. Přístroj Abbott m2000rt automaticky vydává výsledky na pracovní stanici Abbott m2000rt. Výsledky metody lze vydat v mezinárodních jednotkách IU/ml nebo v log IU/ml.

Interpretace výsledků

Výsledek	Interpretace
Nedetekováno	Cíl nedetekován
< 2,66 log IU/ml ^a	Detekováno
2,66 až 8,00 log IU/ml	
> 8,00 log IU/ml	> ULQ ^b

^a 462 IU/ml

^b ULQ = horní mez stanovitelnosti

OMEZENÍ METODY

- **PRO DIAGNOSTICKÉ ÚČELY IN VITRO**
- Pro optimální funkčnost tohoto testu je požadován správný odběr, skladování a přeprava vzorků na místo testu (viz oddíl **ODBĚR, SKLADOVÁNÍ A PŘEPRAVA VZORKŮ NA MÍSTO TESTU** tohoto příbalového letáku).
- Pro metodu Abbott RealTime HCV pro DBS lze použít vzorky plné krve odebrané do zkumavek s EDTA. Použití jiných antikoagulantů nebylo pro metodu Abbott RealTime HCV pro DBS validováno.
- Metodu Abbott RealTime HCV pro DBS může používat jen personál, který byl náležitě vyškolen v postupech přípravy a předběžného zpracování DBS, pro práci s metodami molekulární diagnostiky a se systémem Abbott m2000.
- Přístroje a postupy metody snižují riziko kontaminace produktem amplifikace. Kontaminace nukleových kyselin z kalibrátorů, pozitivních kontrol nebo vzorků však musí být kontrolována v souladu s pravidly Správné laboratorní praxe a musí se důsledně dodržovat postupy uvedené v tomto příbalovém letáku.
- Jako u všech diagnostických testů musí být i výsledky získané metodou Abbott RealTime HCV pro DBS interpretovány v kombinaci s dalšími klinickými a laboratorními nálezy. Vzorek s výsledkem „Not Detected“ (Nedetekováno) nelze považovat za negativní na HCV RNA.
- Nevhodný odběr, sušení, skladování a manipulace s kartami DBS mohou vést k nesprávným výsledkům testu.
- Lze použít karty Ahlstrom-Munktel TFN a Whatman 903 DBS. Použití jiných karet nebylo pro metodu Abbott RealTime HCV validováno.

SPECIFICKÉ CHARAKTERISTIKY METODY PRO VZORKY DBS

Mez detekce (LoD - Limit of Detection)

Mez detekce LoD metody Abbott RealTime HCV je 462 IU/ml pro vzorek typu DBS. Mez detekce LoD byla stanovena testováním vzorků DBS připravených se sériemi ředění mezinárodního standardu WHO pro RNA viru hepatitidy C zředěného v plné krvi negativní na HCV. Testování každé koncentrace HCV RNA bylo provedeno se 4 šaržemi reagenčí

pro amplifikaci po dobu 3 dnů. Výsledky, reprezentativní pro analytickou senzitivitu metody Abbott RealTime HCV pro DBS, jsou shrnuty v **Tabulce 1**.

Tabulka 1. Mez detekce (LoD) metody Abbott RealTime HCV pro DBS

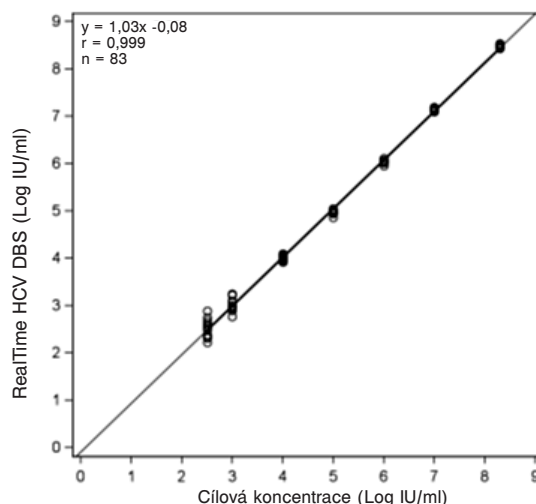
HCV RNA (IU/ml)	Počet testovaných vzorků	Počet detekovaných vzorků	Procentuální podíl detekovaných vzorků
500	84	83	99
400	84	80	95
350	84	75	89
300	84	73	87
150	84	54	64
50	84	26	31

Multivariační analýza dat určila, že koncentrace HCV RNA detekovaná u zaschlých kapek krve s 95% pravděpodobností byla 462 IU/ml (95% CI 381 až 593 IU/ml).

Lineární rozmezí

Horní mez stanovitelnosti (ULQ - Upper Limit of Quantitation) pro metodu Abbott RealTime HCV je 100 milionů IU/ml a dolní mez stanovitelnosti je ekvivalentní mezi detekce LoD (462 IU/ml) pro DBS. Byl testován panel DBS se 7 vzorky připravený zředěním RNA rezistentní k působení RNáz (Armored RNA) HCV na koncentrace v rozmezí od 200 milionů IU/ml do 316 IU/ml v plné krvi negativní na HCV. Výsledky, reprezentativní pro linearitu metody Abbott RealTime HCV pro DBS, jsou uvedeny na **Obrázku 1**.

Obrázek 1. Linearita metody Abbott RealTime HCV pro DBS



Ukázalo se, že metoda Abbott RealTime HCV pro DBS je lineární v rozsahu testovaných koncentrací HCV RNA (316 až 200 milionů IU/ml, 2,5 až 8,3 log IU/ml).

Specifita

Cílová specifita metody Abbott RealTime HCV pro DBS je vyšší nebo rovna 99,5%. Specifita byla stanovena analýzou 119 HCV séronegativních vzorků v rámci 2 šarží reagenčí pro amplifikaci. Celková specifita byla 100% (119/119).

Preciznost

Preciznost byla hodnocena testováním panelu DBS s 6 vzorky, který byl zaměřen na pokrytí rozmezí koncentrací HCV RNA od 316 IU/ml do 200 milionů IU/ml. Vzorky panelu s koncentracemi nižšími než 5 log IU/ml (100 000 IU/ml) byly připraveny s klinickým vzorkem pozitivním na HCV zředěným v plné krvi negativní na HCV, zatímco vzorky panelu s koncentracemi vyššími než 5 log IU/ml (100 000 IU/ml) byly připraveny ředěním RNA rezistentní k působení RNáz (Armored RNA) HCV v plné krvi negativní na HCV. Každý vzorek panelu byl testován v 5 opakováních jednou denně po dobu 5 dnů, na 3 párech přístrojů Abbott m2000sp/rt se 3 šaržemi reagenčí pro amplifikaci. Byly určeny směrodatné odchylky v rámci jedné série vyšetření, mezi sériemi vyšetření a při stanovení ve více testech (v rámci jedné série vyšetření a mezi sériemi vyšetření). Metoda Abbott RealTime HCV pro DBS byla navržena tak, aby bylo dosaženo směrodatné odchylky (SD) při stanovení ve více testech menší nebo rovné 0,25 log IU/ml HCV RNA u vzorků obsahujících koncentrace HCV od 10 000 do 100 milionů IU/ml. Výsledky, reprezentativní pro preciznost metody Abbott RealTime HCV pro DBS, jsou shrnuty v **Tabulce 2**.

Tabulka 2. Preciznost metody Abbott RealTime HCV pro DBS

Vzorek panelu	N	Střední hodnota koncentrace (IU/ml)	Střední hodnota koncentrace (log IU/ml)	Komponenta SD V rámci série vyšetření ^{a,e}	Komponenta SD			Celkem ^{c,e}
					Mezi sériemi vyšetření ^a	SD Ve více testech ^{a,b}	Komponenta SD Mezi šaržemi / přístroji ^a	
1	63 ^d	420	2,62	0,26	0,07	0,27	0,00	0,27
2	75	1 435	3,16	0,23	0,00	0,23	0,09	0,25
3	75	13 211	4,12	0,06	0,04	0,07	0,05	0,09
4	75	395 427	5,60	0,04	0,03	0,05	0,02	0,05
5	75	14 008 770	7,15	0,12	0,04	0,13	0,05	0,14
6	75	316 713 566	8,50	0,04	0,03	0,05	0,05	0,07

^a Směrodatné odchylky (SD) jsou v log IU/ml.

^b Stanovení ve více testech obsahuje komponenty v rámci série vyšetření a mezi sériemi vyšetření.

^c Celkem zahrnuje komponenty v rámci série, mezi sériemi a mezi šaržemi / přístroji.

^d Střední hodnota koncentrace vzorku panelu 1 je nižší než LLoQ. Odhady preciznosti jsou založeny na opakováních, které se kvantifikují.

^e SD v rámci série jsou také známy jako opakovatelnost. Celková SD je také známa jako reprodukovatelnost.

Opakovatelnost a reprodukovatelnost pro vzorek panelu 1 (v blízkosti LLoQ) byly 0,26 log IU/ml, respektive 0,27 log IU/ml, a pro vzorek panelu 2 (v blízkosti LLoQ) 0,23 log IU/ml, respektive 0,25 log IU/ml. Opakovatelnost a reprodukovatelnost pro vzorek panelu 5 (v blízkosti ULQ) byly 0,12 log IU/ml, respektive 0,14 log IU/ml, a pro vzorek panelu 6 (v blízkosti ULQ) 0,04 log IU/ml, respektive 0,07 log IU/ml.

Korelace

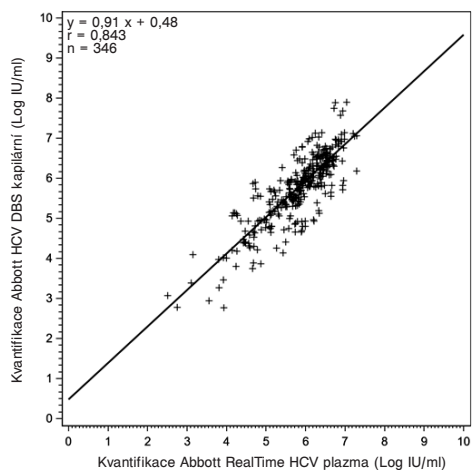
Kvantifikace HCV RNA byla porovnávána mezi metodou Abbott RealTime HCV pomocí zaschlých kapek krve a srovnávací metodou s CE značkou Abbott RealTime HCV za použití lidské plazmy. Do této analýzy byly zahrnuty vzorky plazmy a DBS od celkem 346 jedinců (odebraných a testovaných v Gruzii, Kamerunu a Řecku). DBS připravené z venózní krve i DBS připravené z kapilární krve (píchnutí do prstu) byly testovány metodou Abbott RealTime HCV pro DBS. Kvantitativní výsledky vzorků, které spadaly do dynamických rozmezí těchto metod, byly analyzovány metodou lineární regrese nejmenších čtverců a metodou odchylek Bland-Altman (kapilární DBS versus plazma N=346, venózní DBS versus plazma N=346 a kapilární DBS versus venózní DBS N=345). Pro korelaci mezi kapilární DBS a plazmou byl korelační koeficient 0,843, směrnice byla 0,91 (95% CI 0,85 až 0,97) a posun byl 0,48 log IU/ml (95% CI 0,12 až 0,84) (**Obrázek 2**). Pro korelaci mezi venózní DBS a plazmou byl korelační koeficient 0,840, směrnice byla 0,94 (95% CI 0,88 až 1,00) a posun byl 0,31 log IU/ml (95% CI -0,07 až 0,69) (**Obrázek 3**). Pro korelaci mezi kapilární DBS a venózní DBS byl korelační koeficient 0,943, směrnice byla 0,91 (95% CI 0,87 až 0,94) a posun byl 0,53 log IU/ml (95% CI 0,33 až 0,72) (**Obrázek 4**). Na **Obrázku 5**, **Obrázku 6** a **Obrázku 7** jsou znázorněny Bland-Altmanovy grafy pro stejná srovnání. Střední hodnota biasu mezi kapilární DBS a plazmou byla -0,05 log IU/ml. Střední hodnota biasu mezi venózní DBS a plazmou byla -0,04 log IU/ml. Střední hodnota biasu mezi kapilární DBS a venózní DBS byla -0,02 log IU/ml.

Předpokládaný bias mezi kapilární DBS a plazmou byl vyhodnocen na cílových hladinách LLoQ a ULQ. Dále byl vyhodnocen předpokládaný bias mezi venózní DBS a plazmou na cílových hladinách LLoQ a ULQ. Viz **Tabulka 3**, kde je uveden souhrn předpokládaných biasů.

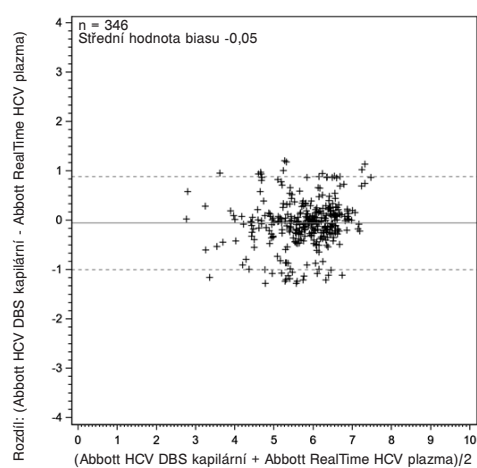
Tabulka 3. Předpokládaný bias mezi DBS (kapilární nebo venózní) a plazmou na LLoQ a ULQ

Porovnání	Hladina	Cílová hladina virové nálože (log IU/ml)	Předpokládaný bias (log IU/ml)
Kapilární DBS vs. plazma	LLoQ	2,66	0,24
	ULQ	8,00	-0,26
Venózní DBS vs. plazma	LLoQ	2,66	0,15
	ULQ	8,00	-0,17

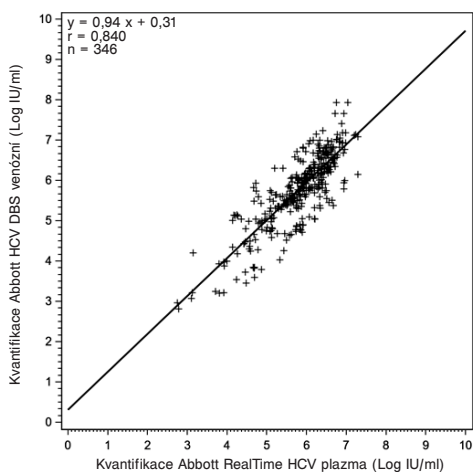
Obrázek 2. Kapilární DBS a plazma



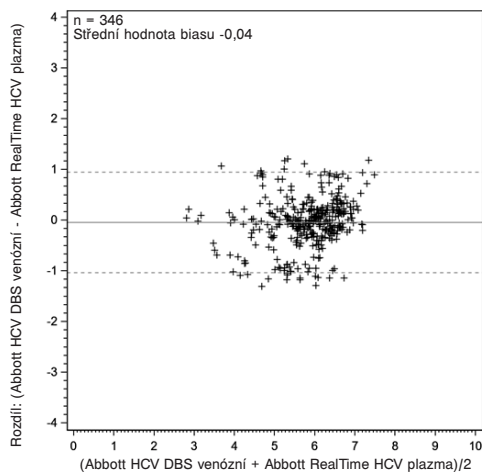
Obrázek 5. Kapilární DBS vs. plazma



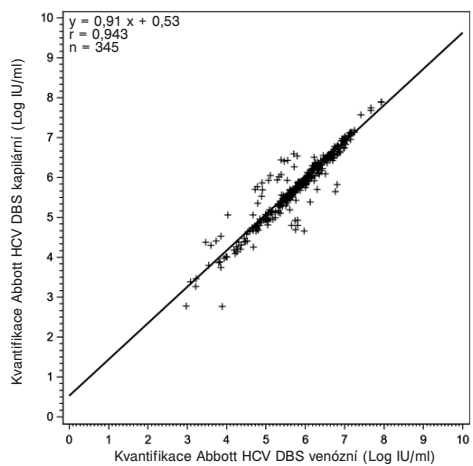
Obrázek 3. Venózní DBS a plazma



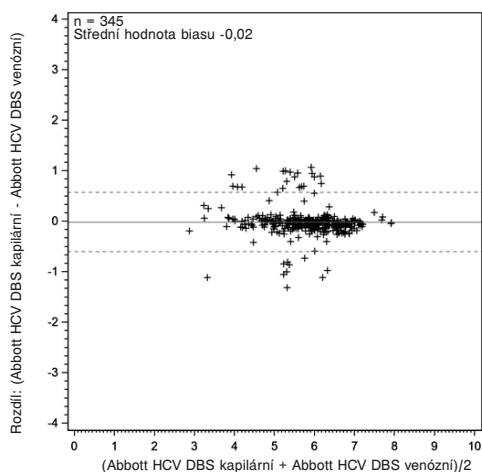
Obrázek 6. Venózní DBS vs. plazma



Obrázek 4. Kapilární DBS a venózní DBS



Obrázek 7. Kapilární DBS vs. venózní DBS



LITERATURA

1. Gower E, Estes C, Blach S, Razavi-Shearer K, Razavi H. Global epidemiology and genotype distribution of the hepatitis C virus infection. *J Hepatol.* 2014;61(1 Suppl):S45-S57. doi:10.1016/j.jhep.2014.07.027
2. Guidelines for the screening, care and treatment of persons with chronic hepatitis C infection. World Health Organization (WHO); updated April 2016. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/205035>
3. AASLD/IDSA HCV guidance panel. *Recommendations for testing, managing, and treating hepatitis C.* AASLD/IDSA; updated October 24, 2022. <https://www.hcvguidelines.org/>
4. European Association for the Study of the Liver. EASL Recommendations on Treatment of Hepatitis C 2018. *J Hepatol.* 2018;69(2):461-511. doi:10.1016/j.jhep.2018.03.026
5. Miller MH, Agarwal K, Austin A, et al. Review article: 2014 UK consensus guidelines - hepatitis C management and direct-acting anti-viral therapy. *Aliment Pharmacol Ther.* 2014;39(12):1363-1375. doi:10.1111/apt.12764
6. Davis GL, Esteban-Mur R, Rustgi V, et al. Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin for the treatment of relapse of chronic hepatitis C. International Hepatitis Interventional Therapy Group. *N Engl J Med.* 1998;339(21):1493-1499. doi:10.1056/NEJM199811193392102
7. Manns MP, McHutchison JG, Gordon SC, et al. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial. *Lancet.* 2001;358(9286):958-965. doi:10.1016/s0140-6736(01)06102-5
8. Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR, et al. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med.* 2002;347(13):975-982. doi:10.1056/NEJMoa020047
9. Hadziyannis SJ, Sette H Jr, Morgan TR, et al. Peginterferon-alpha2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose. *Ann Intern Med.* 2004;140(5):346-355. doi:10.7326/0003-4819-140-5-200403020-00010
10. Orlent H, Deltenre P, Francque S, et al. Update of the Belgian Association for the Study of the Liver guidelines for the treatment of chronic hepatitis C genotype 1 with protease inhibitors. *Acta Gastroenterol Belg.* 2012;75(2):245-259.
11. Halfon P, Bourlière M, Pénaranda G, Khiri H, Ouzan D. Real-time PCR assays for hepatitis C virus (HCV) RNA quantitation are adequate for clinical management of patients with chronic HCV infection. *J Clin Microbiol.* 2006;44(7):2507-2511. doi:10.1128/JCM.00163-06
12. Kowdley KV, Nelson DR, Lalezari JP, et al. On-treatment HCV RNA as a predictor of sustained virological response in HCV genotype 3-infected patients treated with daclatasvir and sofosbuvir. *Liver Int.* 2016;36(11):1611-1618. doi:10.1111/liv.13165
13. Yoshida EM, Sulkowski MS, Gane EJ, et al. Concordance of sustained virological response 4, 12, and 24 weeks post-treatment with sofosbuvir-containing regimens for hepatitis C virus. *Hepatology.* 2015;61(1):41-45. doi:10.1002/hep.27366
14. WHO Guidelines on Hepatitis B and C Testing. World Health Organization (WHO); 2017. <https://www.who.int/publications/i/item/9789241549981>
15. Saldanha J, Heath A, Aberham C, et al. World Health Organization collaborative study to establish a replacement WHO international standard for hepatitis C virus RNA nucleic acid amplification technology assays. *Vox Sang.* 2005;88(3):202-204. doi:10.1111/j.1423-0410.2005.00606.x

TECHNICKÁ PODPORA

Pro technickou podporu se obraťte na zástupce společnosti Abbott nebo navštivte webovou stránku společnosti Abbott na www.molecular.abbott.

SOUHRN ÚDAJŮ O BEZPEČNOSTI A FUNKČNÍ ZPŮSOBILOSTI

Souhrn údajů o bezpečnosti a funkční způsobilosti (SSP - Summary of Safety and Performance) pro tento prostředek získáte na webové stránce <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>. Zde bude SSP umístěn po spuštění Evropské databáze zdravotnických prostředků (European Database on Medical Devices). Prostředek bude možné vyhledat za použití identifikátoru UDI-DI (UDI-Device Identifier) uvedeného na vnějším obalu prostředku.

Dovozcem Abbott RealTime HCV do Evropské unie je společnost Abbott Diagnostics GmbH se sídlem na Max-Planck-Ring 2, 65205 Wiesbaden, Německo



Abbott Molecular Inc.
1300 East Touhy Avenue
Des Plaines, IL 60018 USA



Abbott GmbH
Max-Planck-Ring 2
65205 Wiesbaden, Germany



© 2020, 2024 Abbott. Všechna práva vyhrazena.

51-608440/R3

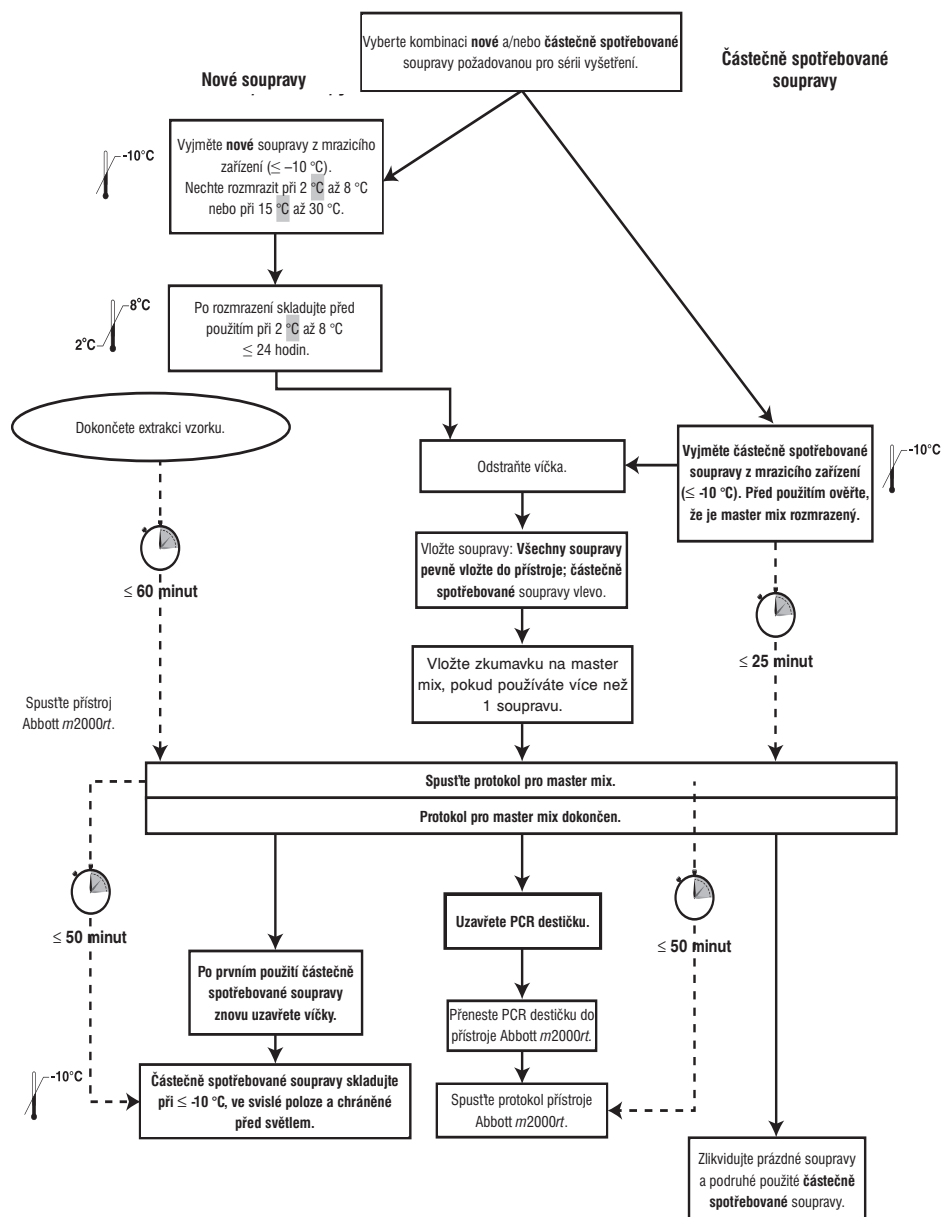
Srpen 2024

PŘÍLOHA 1 PŘEHLED PRODLOUŽENÉHO POUŽITÍ REAGENCIÍ PRO AMPLIFIKACI ABBOTT REALTIME HCV AMPLIFICATION REAGENT

Prodložené použití reagencií pro amplifikaci umožňuje použít reagenční soupravu pro amplifikaci a interní kontrolu (IC) celkem 2x. Reagenční soupravy pro amplifikaci, které dosud nebyly použity pro přípravu master mixu, jsou označeny jako **nové** reagenční soupravy pro amplifikaci. Reagenční soupravy pro amplifikaci, které byly jednou použity a obsahují připravený master mix, jsou označeny jako **částečně spotřebované** reagenční soupravy pro amplifikaci. Podrobné informace naleznete v pokynech uvedených v tomto návodu.

Podmínky skladování (reagenční souprava pro amplifikaci a lahvičky s interní kontrolou)		
Typ soupravy	Teplota skladování	Doba skladování
Nové soupravy	-10 °C nebo nižší	Do data uvedeného na štítku
Nová IC	-10 °C nebo nižší	Do data uvedeného na štítku
Částečně spotřebované soupravy	-10 °C nebo nižší (chráněné před světlem)	Až 14 dní od prvního použití
Částečně spotřebovaná IC	-10 °C nebo nižší	Až 14 dní od prvního použití

- Pokud při postupu kontroly kontaminace používáte UNG, vyhledejte specifické pokyny v oddílu Protokol metody, krok 25 a 32.



- Reagenční soupravy pro amplifikaci vhodné pro prodložené použití musí mít nad čárovým kódem uvedeno 6místné sériové číslo.
- Částečně spotřebované reagenční soupravy pro amplifikaci lze použít podruhé pouze na stejném přístroji, na kterém byly použity poprvé. Při použití na jiném přístroji bude vygenerována procesní chyba, která může zpomalit analýzu.
- Částečně spotřebované a nové reagenční soupravy pro amplifikaci lze používat společně. Všechny reagenční soupravy pro amplifikaci použité pro danou sérii vyšetření na přístroji musí mít stejné číslo šarže.

Abbott RealTime HCV

Συμπληρωματικές οδηγίες για δείγμα αποξηραμένων κηλίδων αίματος (DBS)

el

GTIN

REF

04J86-010

IVD

51-608440/R3

REF 04J86-010

51-608440/R3

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Επισημαίνονται οι αλλαγές

Πίνακας συμβόλων

	Διεθνής Κωδικός Μονάδων Εμπορίας
	Κωδικός προϊόντος
	In vitro διαγνωστικό ιατροτεχνολογικό προϊόν
	Μέγιστος επιτρεπόμενος χρόνος
	Ανώτερο όριο θερμοκρασίας
	Όρια θερμοκρασίας
	Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα/Ευρωπαϊκή Ένωση
	Κατασκευαστής

ΕΞΥΠΗΡΕΤΗΣΗ ΠΕΛΑΤΩΝ: ΑΠΕΥΘΥΝΘΕΙΤΕ ΣΤΟΝ ΥΠΕΥΘΥΝΟ ΠΩΛΗΣΕΩΝ ΤΗΣ ABBOTT

Διαβάστε προσεκτικά το συνοδευτικό φυλλάδιο πριν από τη χρήση. Ακολουθείτε πιστά τις οδηγίες. Σε περίπτωση αποκλίσεων από τις οδηγίες του εν λόγω συνοδευτικού φυλλαδίου, η εταιρία δεν εγγυάται την αξιοπιστία των αποτελεσμάτων της εξέτασης.

Οι παρούσες οδηγίες χρήσης αποτελούν συμπληρωματικές οδηγίες στο συνοδευτικό φυλλάδιο της εξέτασης Abbott RealTime HCV (Κωδικός προϊόντος 4J86), συγκεκριμένα για τύπο δείγματος αποξηραμένων κηλίδων αίματος (DBS).

ΣΗΜΕΙΩΣΗ ΓΙΑ ΤΟΝ ΧΡΗΣΤΗ

Εάν υπάρξει ένα σοβαρό περιστατικό σε σχέση με αυτό το προϊόν, το περιστατικό αυτό πρέπει να αναφερθεί στον κατασκευαστή και στις κατά τόπους αρμόδιες αρχές. Για να αναφέρετε πιθανό περιστατικό στον κατασκευαστή, ανατρέξτε στις πληροφορίες επικοινωνίας που παρέχονται στην ενότητα Εξυπηρέτηση πελατών ή Τεχνική Υποστήριξη του παρόντος συνοδευτικού φυλλαδίου.

ΟΝΟΜΑΣΙΑ

Abbott RealTime HCV

ΣΚΟΠΟΣ ΧΡΗΣΗΣ ΓΙΑ DBS

Η εξέταση Abbott RealTime HCV αποτελεί μια in vitro εξέταση ανάστροφης μεταγραφής-αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (RT-PCR) για τον ποσοτικό προσδιορισμό του ριβονουκλεϊκού οξέος του ιού της ηπατίτιδας C (HCV RNA) σε κηλίδες ολικού αίματος που τοποθετούνται σε κάρτα ως αποξηραμένες κηλίδες αίματος (DBS) (δηλ. που έχουν ληφθεί μέσω φλεβοκέντησης ή τριχοειδικού αίματος) ατόμων που έχουν προσβληθεί από HCV. Η εξέταση Abbott RealTime HCV προορίζεται για χρήση ως βοήθημα στη διαχείριση ασθενών που έχουν προσβληθεί από HCV και υποβάλλονται σε αντιική θεραπεία. Η εξέταση Abbott RealTime HCV δεν προορίζεται για χρήση ως έλεγχος διαλογής (screening) αιμοδοτών, δωτών πλάσματος, ορού ή ιστού για HCV ή ως εξέταση διαγνωστικού ελέγχου για την επιβεβαίωση της παρουσίας λοίμωξης HCV.

ΧΡΗΣΤΕΣ ΓΙΑ ΤΟΥΣ ΟΠΟΙΟΥΣ ΠΡΟΟΡΙΖΕΤΑΙ

Η εξέταση Abbott RealTime HCV προορίζεται για χρήση από το προσωπικό του εργαστηρίου.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΚΑΙ ΕΠΕΞΗΓΗΣΗ ΤΗΣ ΕΞΕΤΑΣΗΣ

Ο ιός της ηπατίτιδας C (HCV) είναι μία από τις κύριες αιτίες ηπατικής νόσου. Εκτιμάται ότι περίπου 1,1% του πληθυσμού προσβάλλεται από χρόνια ηπατίτιδα C¹ και περίπου 700.000 άτομα πεθαίνουν ετησίως από ηπατική νόσο σχετιζόμενη με ηπατίτιδα C.² Ο ιός HCV είναι ένας ιός θετικού κλώνου RNA και μεταδίδεται κυρίως με τη χρήση ενδοφλέβιων φαρμάκων και μέσω των προϊόντων αίματος. Περίπου 55 έως 85% των ατόμων που έχουν προσβληθεί από HCV αναπτύσσουν χρόνια ηπατίτιδα, ενώ έως και το 30% των ατόμων που έχουν χρόνια λοίμωξη αναπτύσσουν κίρρωση.¹ Στους ασθενείς με κίρρωση, η επίπτωση του ηπατοκυτταρικού καρκινώματος ανέρχεται σε ποσοστό 2 έως 4% ετησίως.¹

Η ποσοτική μέτρηση του επιπέδου HCV RNA στο περιφερικό αίμα έχει αποδειχθεί ότι αποτελεί μια βασική παράμετρο στη διαχείριση διαφόρων αντι-HCV θεραπειών.⁶⁻¹³ Με την έλλευση των αντι-ικών σχημάτων θεραπείας άμεσης δράσης, οι θεραπείες για τη λοίμωξη HCV έχουν εξελιχθεί δραματικά. Ο στόχος των αντι-HCV θεραπειών είναι η επίτευξη σταθερής ιολογικής απόκρισης (SVR), η οποία ορίζεται ως η συνεχής απουσία ανιχνεύσιμου HCV RNA.²⁻⁵ Οι μετρήσεις ιικού φορτίου HCV έχουν χρησιμοποιηθεί για την εξατομίκευση της διάρκειας της θεραπείας και της καθοδηγούμενης από την ανταπόκριση θεραπείας ή για τον προσδιορισμό και την πρόβλεψη σταθερής ή μη σταθερής ιολογικής απόκρισης της αντι-ικής θεραπείας.²⁻⁵

Η πλειοψηφία του παγκόσμιου φορτίου HCV εντοπίζεται σε χώρες χαμηλού και μεσαίου εισοδήματος (LMIC).¹⁴ Η ταυτοποίηση ασθενών με ενεργό λοίμωξη HCV είναι πολύ περιορισμένη σε αυτές τις περιοχές με περιορισμένους πόρους. Το ολικό αίμα που συλλέγεται ως ξηρά κηλίδα αίματος (DBS) μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως εναλλακτική στον ορό ή το πλάσμα για την εξέταση HCV RNA. Το DBS αποτελεί μια εφικτή επιλογή που εξαλείφει πολλούς υλικοτεχνικούς και τεχνικούς περιορισμούς που σχετίζονται με τη συλλογή, την επεξεργασία, την αποθήκευση και την αποστολή ορού ή πλάσματος. Οι κατευθυντήριες οδηγίες του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (ΠΟΥ) σχετικά με την εξέταση της ηπατίτιδας C περιλαμβάνουν συστάσεις για τη χρήση DBS σε ιολογική εξέταση HCV σε περιοχές με περιορισμένους πόρους.¹⁴

Η εξέταση Abbott RealTime HCV για DBS χρησιμοποιεί την τεχνολογία ανάστροφης μεταγραφής-αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (RT-PCR) σε συνδυασμό με ομοιογενή ανίχνευση φθορισμού πραγματικού χρόνου για τον ποσοτικό προσδιορισμό του HCV RNA σε DBS. Η ανίχνευση των γονότυπων 1 έως 6 επιτυγχάνεται με την επιλογή μιας συντηρημένης περιοχής του γονιδιώματος HCV. Η εξέταση έχει τυποποιηθεί σύμφωνα με το 2^ο Διεθνές Πρότυπο του Π.Ο.Υ. για το RNA του ιού της Ηπατίτιδας C (κωδικός NIBSC 96/798)¹⁵ και τα αποτελέσματα αναφέρονται σε διεθνείς μονάδες/mL (IU/mL) ή την ισοδύναμη βάση log10.

ΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΑΡΧΕΣ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

Για τη εξέταση Abbott RealTime HCV για DBS απαιτούνται 3 διαγνωστικά σύνολα αντιδραστηρίων:

- Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit
- Abbott RealTime HCV Control Kit
- Abbott RealTime HCV Calibrator Kit

Η εξέταση Abbott RealTime HCV για DBS χρησιμοποιεί τη μέθοδο RT-PCR για τη δημιουργία του ενισχυμένου προϊόντος από το γονιδίωμα RNA του HCV σε ανθρώπινα δείγματα DBS. Τα βήματα της εξέτασης Abbott RealTime HCV για DBS περιλαμβάνουν την προαναλυτική επεξεργασία DBS, την προετοιμασία δειγμάτων, τη διάταξη RT-PCR, την ενίσχυση, την ανίχνευση και την αναφορά αποτελεσμάτων. Η προαναλυτική επεξεργασία DBS εκτελείται με χρήση του Abbott mSample Preparation System DBS Buffer Kit, πριν από τη φόρτωση του δείγματος στο σύστημα Abbott m2000sp. Μετά την προαναλυτική επεξεργασία DBS, όλα τα επόμενα βήματα εκτελούνται αυτόματα από τα συστήματα Abbott m2000sp και Abbott m2000rt.

Ανατρέξτε στο συνοδευτικό φυλλάδιο της εξέτασης Abbott RealTime HCV (Κωδικός προϊόντος 4J86) για περισσότερες λεπτομέρειες σχετικά με την προετοιμασία των δειγμάτων, τη διάταξη RT-PCR, την ενίσχυση και την ανίχνευση.

ΠΑΡΑΤΕΤΑΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ ΤΟΥ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΟΥ ΕΝΙΣΧΥΣΗΣ

Η δυνατότητα προαιρετικής παρατεταμένης χρήσης του αντιδραστήριου ενίσχυσης επιτρέπει τη χρήση διαγνωστικών συνόλων αντιδραστήριων ενίσχυσης και εσωτερικών προτύπων ελέγχου (IC) συνολικά 2 φορές. Τα διαγνωστικά σύνολα αντιδραστήριων ενίσχυσης που περιέχουν το παρασκευασμένο Master Mix μπορούν να φυλαχθούν σε θερμοκρασία -10°C ή χαμηλότερη, καλά κλεισμένες με πώμα και προστατευμένες από το φως, για έως και 14 ημέρες πριν από τη δεύτερη χρήση. Το εσωτερικό πρότυπο ελέγχου (IC) μπορεί να αποθηκευτεί καλά κλεισμένο με πώμα σε θερμοκρασία -10°C ή χαμηλότερη, για έως 14 ημέρες πριν από τη δεύτερη χρήση. Η δεύτερη χρήση δεν θα πρέπει να υπερβαίνει την ημερομηνία λήξης του αντιδραστήριου.

Μια επισκόπηση αυτής της δυνατότητας παρέχεται στο Παράρτημα 1 του παρόντος συνοδευτικού φυλλαδίου.

Σε όλο το συνοδευτικό φυλλάδιο, τα διαγνωστικά σύνολα αντιδραστήριων ενίσχυσης και τα IC που δεν έχουν ακόμη χρησιμοποιηθεί θα αναφέρονται ως νέα διαγνωστικά σύνολα αντιδραστήριων ενίσχυσης και IC (δηλ. αρχική χρήση). Τα διαγνωστικά σύνολα αντιδραστήριων ενίσχυσης που έχουν χρησιμοποιηθεί μία φορά και περιέχουν παρασκευασμένο Master Mix θα αναφέρονται ως μερικώς χρησιμοποιημένα διαγνωστικά σύνολα αντιδραστήριων ενίσχυσης. Τα φιαλίδια IC που έχουν χρησιμοποιηθεί μία φορά θα αναφέρονται ως φιαλίδια μερικώς χρησιμοποιημένων εσωτερικών προτύπων ελέγχου (IC).

ΠΡΟΛΗΨΗ ΤΗΣ ΕΠΙΜΟΛΥΝΣΗΣ ΝΟΥΚΛΕΪΚΩΝ ΟΞΕΩΝ

Ανατρέξτε στο συνοδευτικό φυλλάδιο της εξέτασης Abbott RealTime HCV (Κωδικός προϊόντος 4J86).

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Ανατρέξτε στο συνοδευτικό φυλλάδιο της εξέτασης Abbott RealTime HCV (Κωδικός προϊόντος 4J86).

ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

IVD

Για in vitro διαγνωστική χρήση

Η εξέταση Abbott RealTime HCV για DBS δεν προορίζεται για χρήση ως προκαταρκτικός έλεγχος αιμοδοτών, δοτών πλάσματος, ορού ή ιστού για HCV ή ως εξέταση διαγνωστικού ελέγχου για την επιβεβαίωση της παρουσίας λοίμωξης HCV.

ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ ΑΣΦΑΛΕΙΑΣ

Ανατρέξτε στο συνοδευτικό φυλλάδιο της εξέτασης Abbott RealTime HCV (Κωδικός προϊόντος 4J86). Στη εξέταση Abbott RealTime HCV για DBS χρησιμοποιούνται μόνο οι αναλυτές Abbott m2000sp και Abbott m2000rt.

ΕΙΔΙΚΕΣ ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

Προφυλάξεις κατά το χειρισμό δειγμάτων DBS

Η εξέταση Abbott RealTime HCV για DBS χρησιμοποιείται μόνο με δείγματα ολικού αίματος ή δείγματα DBS που έχουν υποβληθεί σε επεξεργασία και έχουν αποθηκευτεί, όπως περιγράφεται στην ενότητα **ΣΥΛΛΟΓΗ, ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ ΚΑΙ ΜΕΤΑΦΟΡΑ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΣΤΟΝ ΧΩΡΟ ΕΞΕΤΑΣΗΣ**.

Ανατρέξτε στο συνοδευτικό φυλλάδιο της εξέτασης Abbott RealTime HCV (Κωδικός προϊόντος 4J86).

Ειδικές προφυλάξεις κατά το χειρισμό δειγμάτων DBS:

- Βεβαιωθείτε ότι οι κάρτες DBS έχουν στεγνώσει εντελώς πριν από την αποθήκευση σε σάκο με υλικά αφύγρανσης. Η μη κατάλληλη ενστάλαξη κηλίδων, ξήρανση, αποθήκευση και ο ακατάλληλος χειρισμός των δειγμάτων DBS ενδέχεται να οδηγήσουν σε ανακριβή αποτελέσματα εξέτασης.
- Για την αποφυγή επιμόλυνσης εκ μεταφοράς, χρησιμοποιήστε ένα νέο ρύγχος αναρρόφησης για κάθε δείγμα DBS κατά την αφαίρεση της κηλίδας από τη διάτρητη κάρτα DBS. Εάν χρησιμοποιείται μη διάτρητη κάρτα DBS, βεβαιωθείτε ότι το εργαλείο που χρησιμοποιείται για την αφαίρεση της κηλίδας έχει απολυμανθεί πριν και μετά την επαφή με το δείγμα DBS.

Χώροι εργασίας

Συνιστώνται μόνο δύο ειδικοί χώροι, ο χώρος παρασκευής δειγμάτων και ο χώρος ενίσχυσης, κατά τη χρήση των συστημάτων Abbott m2000sp και Abbott m2000rt.

Ανατρέξτε στο συνοδευτικό φυλλάδιο της εξέτασης Abbott RealTime HCV (Κωδικός προϊόντος 4J86).

Επιμόλυνση λόγω αερολυμάτων

Ανατρέξτε στο συνοδευτικό φυλλάδιο της εξέτασης Abbott RealTime HCV (Κωδικός προϊόντος 4J86).

Επιμόλυνση και αναστολή

Ανατρέξτε στο συνοδευτικό φυλλάδιο της εξέτασης Abbott RealTime HCV (Κωδικός προϊόντος 4J86).

Επιμόλυνση από εξωτερικό ενισχυμένο προϊόν που περιέχει dU

Τα εργαστήρια που χρησιμοποιούν ή έχουν χρησιμοποιήσει εξετάσεις ενίσχυσης HCV οι οποίες περιλαμβάνουν επεξεργασία μετά την PCR του ενισχυμένου προϊόντος ενδέχεται να έχουν επιμολυνθεί από ενισχυμένο προϊόν που περιέχει dU (δεοξυουριδίνη). Η επιμόλυνση αυτή μπορεί να οδηγήσει σε ανακριβή αποτελέσματα στη εξέταση Abbott RealTime HCV για DBS. Ανατρέξτε στην ενότητα **Έλεγχος του εργαστηρίου για παρουσία επιμόλυνσης** στο συνοδευτικό φυλλάδιο της εξέτασης Abbott RealTime HCV (Κωδικός προϊόντος 4J86). Εάν τα αρνητικά πρότυπα ελέγχου είναι κατ' εξακολούθηση αντιδρώντα ή όταν υπάρχει πιθανότητα επιμόλυνσης με ενισχυμένο προϊόν HCV που περιέχει dU, συνιστάται στο εργαστήριο να χρησιμοποιεί τη διαδικασία ελέγχου επιμόλυνσης με ουρακίλη-N-γλυκοζυλάση (UNG) εάν η απολύμανση του εργαστηρίου δεν είναι επιτυχής.

ΟΔΗΓΙΕΣ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗΣ

Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit (Κωδικός προϊόντος 4J86-90)



- Τα νέα και τα μερικώς χρησιμοποιημένα διαγνωστικά σύνολα αντιδραστήριων ενίσχυσης Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Packs και τα φιαλίδια που περιέχουν το Internal Control (IC) πρέπει να αποθηκεύονται σε θερμοκρασία -10°C ή χαμηλότερη όταν δεν χρησιμοποιούνται. Φροντίστε ώστε το Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Pack που χρησιμοποιείται να μην έρθει σε άμεση επαφή με δείγματα, βαθμονομητές και πρότυπα ελέγχου.

- Τα μερικώς χρησιμοποιημένα διαγνωστικά σύνολα αντιδραστήριων ενίσχυσης και το IC πρέπει να αποθηκεύονται σε θερμοκρασία -10°C ή χαμηλότερη, σε παματομένη συσκευασία, σε όρθια θέση και προστατευμένες από το φως, μετά την αρχική χρήση. Εάν αποθηκευτούν με αυτόν τον τρόπο, τα μερικώς χρησιμοποιημένα διαγνωστικά σύνολα αντιδραστήριων ενίσχυσης με το παρασκευασμένο Master Mix μπορούν να χρησιμοποιηθούν για δεύτερη φορά εντός 14 ημερών από την αρχική χρήση. Το IC μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί για δεύτερη φορά εντός 14 ημερών από την απόψυξη, εάν φυλάσσεται παματομένο σε θερμοκρασία -10°C ή χαμηλότερη. Μετά από 2 χρήσεις, τα μερικώς χρησιμοποιημένα διαγνωστικά σύνολα αντιδραστήριων ενίσχυσης και το IC θα πρέπει να απορρίπτονται. Η δεύτερη χρήση δεν θα πρέπει να υπερβαίνει την ημερομηνία λήξης του αντιδραστήριου.

Abbott RealTime HCV Control Kit (Κωδικός προϊόντος 4J86-80)



- Τα Abbott RealTime HCV Negative και Positive Controls πρέπει να αποθηκεύονται σε θερμοκρασία -10°C ή χαμηλότερη.

Abbott RealTime HCV Calibrator Kit (Κωδικός προϊόντος 4J86-70)



- Οι βαθμονομητές Abbott RealTime HCV Calibrator A και Calibrator B πρέπει να αποθηκεύονται σε θερμοκρασία -10°C ή χαμηλότερη.

ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΑΠΟΣΤΟΛΗΣ

Ανατρέξτε στο συνοδευτικό φυλλάδιο της εξέτασης Abbott RealTime HCV (Κωδικός προϊόντος 4J86).

ΕΝΔΕΙΞΕΙΣ ΑΣΤΑΘΕΙΑΣ Ή ΑΚΑΤΑΛΛΗΛΟΤΗΤΑΣ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Ανατρέξτε στο συνοδευτικό φυλλάδιο της εξέτασης Abbott RealTime HCV (Κωδικός προϊόντος 4J86).

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ ΑΝΑΛΥΤΗ

Το αρχείο εφαρμογής Abbott RealTime HCV για DBS πρέπει να εγκατασταθεί στα συστήματα Abbott m2000sp και Abbott m2000rt από το Abbott RealTime HCV m2000 ROW System Combined Application CD-ROM (Κωδ. προϊόντος 01L69-040 ή μεταγενέστερος) πριν από την πραγματοποίηση της εξέτασης. Για λεπτομερείς πληροφορίες σχετικά με την εγκατάσταση του αρχείου εφαρμογής, ανατρέξτε στα Εγχειρίδια λειτουργίας των συστημάτων Abbott m2000sp και Abbott m2000rt, στην ενότητα «Οδηγίες λειτουργίας».

ΣΥΛΛΟΓΗ, ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ ΚΑΙ ΜΕΤΑΦΟΡΑ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΣΤΟΝ ΧΩΡΟ ΕΞΕΤΑΣΗΣ

Συλλογή και αποθήκευση δειγμάτων

- Για να παρασκευάσετε το DBS, χρησιμοποιήστε ολικό αίμα μέσω τρυπήματος του δακτύλου (finger prick) ή ολικό αίμα σε EDTA. Το ολικό αίμα σε EDTA θα πρέπει να διατηρείται σε ελεγχόμενες συνθήκες θερμοκρασίας κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης και αποστολής (2°C έως 8°C για έως 48 ώρες ή σε θερμοκρασία περιβάλλοντος που δεν υπερβαίνει τους 30°C για έως 24 ώρες).
- Το ολικό αίμα σε EDTA που συλλέγεται σε σωληνάριο θα πρέπει να αναμιγνύεται καλά με ήπιες αναστροφές πριν από την ενστάλαξη των κηλίδων. Ενσταλάξτε το αίμα στους κύκλους με διάμετρο μίμηση ίντσα (12 χιλιοστά) στην χάρτινη κάρτα Ahlstrom-Munktel TFN ή Whatman 903, διασφαλίζοντας ότι καλύπτεται ολόκληρος ο κύκλος. Συνιστάται η χρήση τουλάχιστον 70 µL αίματος (περίπου 3 έως 5 σταγόνες αίματος) για κάθε κύκλο, ώστε να διασφαλιστεί η πλήρης κάλυψη.
- Στεγνώστε την κάρτα στον αέρα σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για τουλάχιστον 3 ώρες. Συσκευάστε κάθε κάρτα σε σφραγισμένο σακουλάκι με υλικό αφύγρανσης (τουλάχιστον 2 έως 3 συσκευασίες υλικού αφύγρανσης).
- Οι κάρτες δειγμάτων DBS μπορούν να αποθηκευτούν στις συνθήκες που καθορίζονται στον παρακάτω πίνακα πριν από την επεξεργασία της εξέτασης.

Αποθήκευση της κάρτας δειγματος DBS	
Συνθήκες	Μέγιστος χρόνος αποθήκευσης
2°C έως 30°C σε υγρασία περιβάλλοντος	18 εβδομάδες
≤37°C σε υγρασία περιβάλλοντος	12 εβδομάδες
≤45°C σε υγρασία περιβάλλοντος	8 εβδομάδες
≤38°C σε υψηλή υγρασία (≤ 85%)	4 εβδομάδες
-25°C έως -15°C σε υγρασία περιβάλλοντος	18 εβδομάδες
-70°C ή χαμηλότερη σε υγρασία περιβάλλοντος	18 εβδομάδες

Μεταφορά δειγμάτων

Η αποστολή των δειγμάτων πρέπει να πραγματοποιείται σύμφωνα με τις συνιστώμενες οδηγίες θερμοκρασίας και χρόνου αποθήκευσης που αναγράφονται στην ενότητα **Συλλογή και αποθήκευση δειγμάτων** παραπάνω. Όταν τα δείγματα προορίζονται για εγχώριες και διεθνείς αποστολές, πρέπει να συσκευάζονται και να επιστημαίνονται με ετικέτες σύμφωνα με τους ισχύοντες κρατικούς, ομοσπονδιακούς και διεθνείς κανονισμούς περί μεταφοράς κλινικών, διαγνωστικών ή βιολογικών δειγμάτων.

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΕΞΕΤΑΣΗΣ ABBOTT REALTIME HCV ΓΙΑ DBS

Απαιτούμενα υλικά που δεν παρέχονται

- Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit (Κωδικός προϊόντος 4J86-90)
- Abbott RealTime HCV Calibrator Kit Pleas (Κωδικός προϊόντος 4J86-70)
- Abbott RealTime HCV Control Kit (Κωδικός προϊόντος 4J86-80)

Χώρος προετοιμασίας δειγμάτων για τον αναλυτή Abbott m2000sp

- Abbott mSample Preparation System DBS Buffer Kit (Κωδικός προϊόντος 09N02-001)
- Αναλυτής Abbott m2000sp (Κωδικοί προϊόντος 09K14-01, 09K14-02)
- Abbott mSample Preparation System (4 × 24 διαδικασίες παρασκευής) (Κωδικός προϊόντος 04J70-24)
- Βαθμονομημένοι αναρροφητήρες ακριβείας με δυνατότητα αναρρόφησης 20 έως 1000 µL (Ενδέχεται να απαιτούνται βαθμονομημένοι αναρροφητήρες ακριβείας με δυνατότητα αναρρόφησης <20 µL εάν χρησιμοποιηθεί UNG.)
- Ρύγχη αναρροφητήρων με διαχωριστή αερολύματος για αναρροφητήρες 20 έως 1000 µL (Ενδέχεται να απαιτούνται ρύγχη αναρροφητήρων με διαχωριστή αερολύματος για αναρροφητήρες με δυνατότητα αναρρόφησης <20 µL εάν χρησιμοποιηθεί UNG.)
- Μηχανικός αναδευτήρας (Vortex)
- Master Mix Tube (Κωδικός προϊόντος 04J71-80)
- Abbott 96-Deep-Well Plate (Κωδικός προϊόντος 04J71-30)
- 5 mL Reaction Vessels (Κωδικός προϊόντος 04J71-20)
- 200 mL Reagent Vessels (Κωδικός προϊόντος 04J71-60)
- Abbott 96-Well Optical Reaction Plate (Κωδικός προϊόντος 04J71-70)
- Abbott Optical Adhesive Covers (Κωδικός προϊόντος 04J71-75)
- Abbott Adhesive Cover Applicators (Κωδικός προϊόντος 9K32-01)
- Abbott Splash-Free Support Base (Κωδικός προϊόντος 9K31-01)

- Abbott RealTime HCV m2000 ROW System Combined Application CD-ROM (Κωδικός προϊόντος 01L69-040 ή μεταγενέστερος)
- m2000 System 13mm DBS-PoST Set (Κωδικός προϊόντος 09N03-001)
- 1,4 mL Micro Vial 15mm Caps (Κωδικός προϊόντος 03N20-01) προαιρετικά

- Uracil N-Glycosylase (UNG)^a (Κωδικός προϊόντος 6L87-02)

^aΕάν απαιτείται, σύμφωνα με την ενότητα **Επιμόλυνση από εξωτερικό ενισχυμένο προϊόν που περιέχει dU** στο παρόν συνοδευτικό φυλλάδιο.

Για το Abbott m2000rt Instrument Amplification Area

- Αναλυτής Abbott m2000rt (Κωδικός προϊόντος 9K15-01)
- Abbott RealTime HCV m2000 ROW System Combined Application CD-ROM (Κωδικός προϊόντος 01L69-040 ή μεταγενέστερος)
- Abbott m2000rt Optical Calibration Kit (Κωδικός προϊόντος 04J71-93)

Άλλα υλικά

- Θάλαμος βιοασφάλειας εγκεκριμένος για εργασίες με μολυσματικά υλικά
- Σφραγισμένο σακουλάκι για την κάρτα DBS
- Συσκευασία υλικού αφύγρανσης για την κάρτα DBS
- Χάρτινη κάρτα Ahlstrom-Munktel TFN ή/και Whatman 903
- Σφραγισμένο πλαστικό σακουλάκι για την απόρριψη της πλάκας αντίδρασης 96 βοθρίων
- Νερό χωρίς RNase (Eppendorf ή αντίστοιχο)^β
- Σωληνάρια μικροφυγοκέντρου 1,7 mL εφαρμογών μοριακής βιολογίας (Dot Scientific, Inc. ή αντίστοιχα)^β
- Βαμβakoφόροι στυλεοί (Puritan ή αντίστοιχο)^β

^βΣημείωση: Αυτά τα 3 υλικά χρησιμοποιούνται στη διαδικασία για Έλεγχο του εργαστηρίου για παρουσία επιμόλυνσης. Ανατρέξτε στην ενότητα **ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΕΣ ΕΛΕΓΧΟΥ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ** στο συνοδευτικό φυλλάδιο της εξέτασης Abbott RealTime HCV (Κωδικός προϊόντος 4J86).

Προφυλάξεις κατά τη διαδικασία

- Διαβάστε προσεκτικά τις οδηγίες του παρόντος συνοδευτικού φυλλαδίου πριν από την επεξεργασία των δειγμάτων.
- Τα αντιδραστήρια ενίσχυσης και το εσωτερικό πρότυπο ελέγχου μπορούν να χρησιμοποιηθούν έως και 2 φορές, όπως περιγράφεται στο παρόν συνοδευτικό φυλλάδιο. Τα φυλλάδια με τα προϊόντα Abbott RealTime HCV Calibrators, Negative Control, Low Positive Control και High Positive Control προορίζονται για μία μόνο χρήση και πρέπει να απορρίπτονται μόλις χρησιμοποιηθούν.
- Τα ρύγχη αναρροφητήρων με διαχωριστή αερολύματος ή οι αναρροφητήρες μίας χρήσης πρέπει να χρησιμοποιούνται μόνο 1 φορά κατά την αναρρόφηση των δειγμάτων ή του εσωτερικού προτύπου ελέγχου (IC). Για να αποφύγετε την επιμόλυνση του κυλινδρικού στελέχους του αναρροφητήρα κατά την αναρρόφηση, προσέξτε ώστε να μην ακουμπήσετε το κυλινδρικό στέλεχος του αναρροφητήρα στην εσωτερική επιφάνεια του σωληναρίου ή του δοχείου δείγματος. Συνιστάται η χρήση ρυγχών αναρροφητήρων μεγάλου μήκους με διαχωριστή αερολύματος.
- Οι διαδικασίες ελέγχου για την παρουσία προϊόντος ενίσχυσης παρατίθενται στην ενότητα **ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΕΣ ΕΛΕΓΧΟΥ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ**.
- Για να μειωθεί ο κίνδυνος επιμόλυνσης νουκλεϊκών οξέων, καθαρίζετε και απολυμαίνετε τα σημεία όπου έχουν χυθεί δείγματα χρησιμοποιώντας φυματιοκτόνο απολυμαντικό, όπως 1,0% υποχλωριώδους νατρίου ή άλλο κατάλληλο απολυμαντικό.
- Τα Abbott RealTime HCV Calibrators και Controls πρέπει να παρασκευάζονται σε συνδυασμό με τα δείγματα που πρόκειται να εξεταστούν. Η χρήση των Abbott RealTime HCV Controls και Calibrators είναι απολύτως απαραίτητη για την πραγματοποίηση της εξέτασης Abbott RealTime HCV. Ανατρέξτε στην ενότητα **ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΕΣ ΕΛΕΓΧΟΥ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ**.
- Η εκκίνηση του πρωτοκόλλου Abbott m2000sp Master Mix Addition PI πρέπει να πραγματοποιείται εντός 1 ώρας από την ολοκλήρωση της προετοιμασίας δειγμάτων.
- Σε περίπτωση ακύρωσης του πρωτοκόλλου Abbott m2000sp Master Mix Addition, απορρίψτε τα αντιδραστήρια ενίσχυσης που χρησιμοποιήθηκαν για δεύτερη φορά. Τα νέα διαγνωστικά σύνολα αντιδραστηρίων που χρησιμοποιούνται για πρώτη φορά μπορούν να φυλαχθούν και να αποθηκευτούν για μεταγενέστερη χρήση, όπως περιγράφεται στο παρόν εγχειρίδιο.
- Η εκκίνηση του πρωτοκόλλου για το σύστημα Abbott m2000rt πρέπει να πραγματοποιείται εντός 50 λεπτών από την εκκίνηση του πρωτοκόλλου Master Mix Addition. Σε περίπτωση μη εκκίνησης εντός 50 λεπτών, διακοπής ή ακύρωσης της σειράς ανάλυσης στον αναλυτή Abbott m2000rt, σφραγίστε το Abbott 96-Well Optical Reaction Plate σε ένα σφραγισμένο πλαστικό σακουλάκι και απορρίψτε το σύμφωνα με τις Οδηγίες Λειτουργίας και Συντήρησης του αναλυτή Abbott m2000rt, μαζί με τα γάντια που χρησιμοποιήσατε για τον χειρισμό της πλάκας.

ΣΗΜΑΝΤΙΚΟ: Τα αντιδραστήρια ενίσχυσης που θα χρησιμοποιηθούν για δεύτερη φορά πρέπει να αποθηκεύονται σε θερμοκρασία -10°C ή χαμηλότερη εντός 50 λεπτών από την έναρξη του πρωτοκόλλου Master Mix Addition.

ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ ΕΞΕΤΑΣΗΣ: ΔΕΙΓΜΑΤΑ DBS ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΤΩΝ ΑΝΑΛΥΤΩΝ ABBOTT m2000sp ΚΑΙ ABBOTT m2000rt

Για λεπτομερή περιγραφή του τρόπου εκτέλεσης ενός πρωτοκόλλου για τον αναλυτή Abbott m2000sp και τον αναλυτή Abbott m2000rt, ανατρέξτε στις Οδηγίες Λειτουργίας και Συντήρησης του αναλυτή Abbott m2000sp και του αναλυτή Abbott m2000rt, στην ενότητα Οδηγίες λειτουργίας. Για το πρωτόκολλο DBS απαιτείται το λογισμικό Abbott m2000sp Software Version 6.0 ή μεταγενέστερης έκδοσης. Ακολουθήστε τις οδηγίες στις Οδηγίες Λειτουργίας και Συντήρησης του αναλυτή Abbott m2000sp (Κωδικός προϊόντος 09K20 έκδοση 6 ή μεταγενέστερη).

Σε κάθε σειρά μετρήσεων μπορούν να υποβληθούν σε επεξεργασία 96 δείγματα συνολικά. Σε κάθε σειρά μετρήσεων συμπεριλαμβάνονται τα πρότυπα ελέγχου Abbott RealTime HCV Negative Control, Low Positive Control και High Positive Control, για να είναι εφικτή η επεξεργασία έως και 93 δειγμάτων DBS ανά σειρά μετρήσεων, όταν δεν συμπεριλαμβάνονται βαθμονομητές. Οι βαθμονομητές και τα πρότυπα ελέγχου υποβάλλονται σε επεξεργασία απευθείας ως υγρά δείγματα. Τα βήματα 1 έως 5 αφορούν μόνο τη μέθοδο DBS. Δεν πρέπει να υποβάλλονται σε επεξεργασία δείγματα πλάσματος ή ορού σε καμία σειρά αναλύσεων όπου χρησιμοποιείται το πρωτόκολλο DBS. Για κάθε δείγμα DBS, θα πρέπει να χρησιμοποιείται ένα μεμονωμένο Abbott Master Mix Tube για ολόκληρη τη διαδικασία επεξεργασίας δειγμάτων. Βεβαιωθείτε ότι τα δείγματα DBS έχουν επιστημανθεί καθ' όλη τη διάρκεια της επεξεργασίας.

1. Πληρώστε το Abbott Master Mix Tube με 1,3 mL ρυθμιστικού διαλύματος mDBS από το Abbott mSample Preparation system DBS Buffer Kit (Κωδικός προϊόντος 09N02-001).

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Μη χρησιμοποιείτε ρυθμιστικό διάλυμα mLysis Buffer ή άλλα αντιδραστήρια για αυτό το βήμα

2. Κρατήστε τη διάτρητη κάρτα DBS επάνω από το Abbott Master Mix Tube.
3. Ωθήστε τον κύκλο DBS έξω από την κάρτα χρησιμοποιώντας ένα καθαρό ρύγχος αναρροφητήρα, 1 κύκλος DBS ανά Abbott Master Mix Tube. Κάθε DBS θα πρέπει να έχει διάμετρο περίπου μιάμιση ίντσα (12 χιλιοστά).

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΕΙΤΕ ΝΕΟ ΡΥΓΧΟΣ ΑΝΑΡΡΟΦΗΤΗΡΑ ΓΙΑ ΚΑΘΕ ΔΕΙΓΜΑ DBS ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΠΟΦΥΓΗ ΔΙΑΣΤΑΥΡΟΥΜΕΝΗΣ ΕΠΙΜΟΛΥΝΣΗΣ.

Εναλλακτικά, από μη διάτρητο χαρτί DBS, κόψτε 1 ολόκληρο DBS (διάμετρο περίπου μιάμιση ίντσα) για κάθε δείγμα και μεταφέρετε σε ένα Abbott Master Mix Tube.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Αποφύγετε την άμεση επαφή της επιφάνειας κοπής με τα δείγματα DBS. Απολυμαίνετε το εργαλείο που χρησιμοποιείται για την κοπή DBS μεταξύ δειγμάτων, εάν είναι απαραίτητο, σύμφωνα με τις ορθές εργαστηριακές πρακτικές.

4. Βεβαιωθείτε ότι ο κύκλος DBS είναι πλήρως βυθισμένος στο ρυθμιστικό διάλυμα mDBS κτυπώντας ελαφρά το σωληνάριο ή χρησιμοποιώντας το ρύγχος του αναρροφητήρα για να εμβυθίσετε το DBS στο ρυθμιστικό διάλυμα.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Εάν χρησιμοποιείται ρύγχος αναρροφητήρα για την εμβύθιση του DBS στο ρυθμιστικό διάλυμα, βεβαιωθείτε ότι το ρύγχος του αναρροφητήρα δεν προκαλεί απώλεια όγκου DBS λόγω της συγκράτησης υγρού στο ρύγχος ή/και της απορρόφησης του ρυθμιστικού διαλύματος από το φίλτρο του ρύγχους.

5. Ανακινήστε με το χέρι ή περιστρέψτε τα σωληνάρια δείγματος. Μην αναδεύετε τα δείγματα σε μηχανικό αναδευτήρα (vortex). Επώστε επί 30 λεπτά (± 2 λεπτά) σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.
6. Στο διάστημα αυτό, αποφύγετε τα πρότυπα ελέγχου της εξέτασης και το εσωτερικό πρότυπο ελέγχου (IC) σε θερμοκρασία 15°C έως 30°C ή 2°C έως 8°C. Αποψύξτε τους βαθμονομητές σε θερμοκρασία 15°C έως 30°C ή 2°C έως 8°C, μόνο εάν πρόκειται να πραγματοποιήσετε βαθμονόμηση.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Μετά την απόψυξη, μπορείτε να αποθηκεύσετε τα πρότυπα ελέγχου της εξέτασης, το εσωτερικό πρότυπο ελέγχου και τους βαθμονομητές σε θερμοκρασία 2°C έως 8°C για έως και 24 ώρες πριν από τη χρήση.

7. Αναδεύστε σε μηχανικό αναδευτήρα (vortex) κάθε βαθμονομητή και κάθε πρότυπο ελέγχου της εξέτασης 3 φορές επί 2 έως 3 δευτερόλεπτα, πριν από τη χρήση. Βεβαιωθείτε ότι το περιεχόμενο κάθε φιαλιδίου βρίσκεται στον πυθμένα κτυπώντας ελαφρά τα φιαλίδια στον πάγκο ώστε το υγρό να καθιζάνει στον πυθμένα του φιαλιδίου. Βεβαιωθείτε ότι δεν δημιουργούνται φυσαλίδες ή αφρός. Εάν υπάρχει, αφαιρέστε το με ένα αποστειρωμένο ρύγχος αναρροφητήρα, χρησιμοποιώντας ένα νέο ρύγχος για κάθε φιαλίδιο.
8. Αποψύξτε τα αντιδραστήρια ενίσχυσης σε θερμοκρασία 15°C έως 30°C ή 2°C έως 8°C και αποθηκεύστε τα στους 2°C έως 8°C για όσο διάστημα απαιτεί η διαδικασία ενίσχυσης του Master Mix.

9. Επιλέξτε νέα διαγνωστικά σύνολα αντιδραστηρίων ενίσχυσης αντιδραστηρίων ενίσχυσης ή/και μερικώς χρησιμοποιημένα διαγνωστικά σύνολα αντιδραστηρίων ενίσχυσης για χρήση στη σειρά αναλύσεων. Ανατρέξτε στις Οδηγίες Λειτουργίας και Συντήρησης του αναλυτή Abbott m2000sp (Κωδικός προϊόντος 09K20 έκδοση 6 ή μεταγενέστερη), ενότητα «Οδηγίες λειτουργίας» για οδηγίες σχετικά με τη διαχείριση των αποθεμάτων των διαγνωστικών συνόλων αντιδραστηρίων ενίσχυσης. Τα διαγνωστικά σύνολα αντιδραστηρίων ενίσχυσης πρέπει να έχουν τον ίδιο αριθμό παρτίδας.

Αποψύξτε τα νέα αντιδραστήρια ενίσχυσης σε θερμοκρασία 15°C έως 30°C ή 2°C έως 8°C και αποθηκεύστε τα στους 2°C έως 8°C για όσο διάστημα απαιτεί η διαδικασία ενίσχυσης του Master Mix.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Μετά την απόψυξη, μπορείτε να αποθηκεύσετε τα νέα αντιδραστήρια ενίσχυσης σε θερμοκρασία 2°C έως 8°C για έως 24 ώρες, εάν δεν χρησιμοποιηθούν αμέσως. Τα μερικώς χρησιμοποιημένα διαγνωστικά σύνολα αντιδραστηρίων ενίσχυσης που χρησιμοποιούνται για δεύτερη φορά ΔΕΝ θα πρέπει να φυλάσσονται σε θερμοκρασία 2°C έως 8°C πριν από τη χρήση. Θα πρέπει να φυλάσσονται σε θερμοκρασία -10°C ή χαμηλότερη, έως ότου χρειαστούν για την προσθήκη του Master Mix. Μετά την αφαίρεσή τους από τον καταψύκτη, η συνολική έκθεση σε θερμοκρασία δωματίου δεν θα πρέπει να υπερβαίνει τα 25 λεπτά, συμπεριλαμβανομένων των περιπτώσεων όπου τα διαγνωστικά σύνολα αφαιρούνται από τον χώρο αποθήκευσης, αλλά δεν χρησιμοποιούνται. Σε περίπτωση υπέρβασης των 25 λεπτών, απορρίψτε τα μερικώς χρησιμοποιημένα διαγνωστικά σύνολα αντιδραστηρίων ενίσχυσης.

Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζεται ο αριθμός των αντιδραστηρίων προετοιμασίας δειγμάτων και των φιαλιδίων εσωτερικού προτύπου ελέγχου που απαιτούνται με βάση τον αριθμό των αντιδράσεων.

Αντιδραστήρια προετοιμασίας δειγμάτων και απαιτήσεις εσωτερικού προτύπου ελέγχου

Αντιδραστήριο	1 έως 24 αντιδράσεις	25 έως 48 αντιδράσεις	49 έως 72 αντιδράσεις	73 έως 96 αντιδράσεις
mMicroparticles	1 φιάλη	2 φιάλες	2 φιάλες	2 φιάλες
mLysis	1 φιάλη	2 φιάλες	3 φιάλες	4 φιάλες
mWash 1	1 φιάλη	2 φιάλες	3 φιάλες	4 φιάλες
mWash 2	1 φιάλη	2 φιάλες	3 φιάλες	4 φιάλες
mElution Buffer	1 φιάλη	2 φιάλες	3 φιάλες	4 φιάλες
Εσωτερικό πρότυπο ελέγχου ^a	1 νέο φιαλίδιο ή 1 μερικώς χρησιμοποιημένο φιαλίδιο	1 νέο φιαλίδιο ή 2 μερικώς χρησιμοποιημένα φιαλίδια	2 νέα φιαλίδια ή 3 μερικώς χρησιμοποιημένα φιαλίδια	2 νέα φιαλίδια ή 4 μερικώς χρησιμοποιημένα φιαλίδια

^a Μπορεί να χρησιμοποιηθεί συνδυασμός νέων φιαλιδίων και μερικώς χρησιμοποιημένων φιαλιδίων εσωτερικού προτύπου ελέγχου.

10. Αναστρέψτε ήπια τις φιάλες Abbott mSample Preparation για να βεβαιωθείτε ότι το διάλυμα έχει ομογενοποιηθεί. Εάν παρατηρήσετε κρυστάλλους σε οποιαδήποτε από τις φιάλες αντιδραστηρίου όταν την ανοίξετε, αφήστε το αντιδραστήριο να εξισορροπηθεί σε θερμοκρασία δωματίου, μέχρι οι κρυστάλλοι να διαλυθούν. Μη χρησιμοποιήσετε τα αντιδραστήρια, εάν οι κρυστάλλοι δεν διαλυθούν.

11. Αναδεύστε κάθε εσωτερικό πρότυπο ελέγχου (IC) 3 φορές για 2 έως 3 δευτερόλεπτα πριν από τη χρήση.
12. Χρησιμοποιήστε ένα βαθμονομημένο αναρροφητήρα ακριβείας ΕΙΔΙΚΟ ΓΙΑ ΧΡΗΣΗ ΜΟΝΟ ΜΕ ΤΟ ΕΣΩΤΕΡΙΚΟ ΠΡΟΤΥΠΟ ΕΛΕΓΧΟΥ για να προσθέσετε 500 µL IC σε κάθε φιαλίδιο του mLysis Buffer. Αναμίξτε με ήπια αναστροφή το φιαλίδιο 5 έως 10 φορές για να ελαχιστοποιηθεί ο αφρισμός. Τα μερικώς χρησιμοποιημένα φιαλίδια IC μπορούν να επαναπωματιστούν και να αποθηκευτούν σε θερμοκρασία -10°C ή χαμηλότερη για δεύτερη χρήση.
13. Τοποθετήστε το θετικό πρότυπο ελέγχου χαμηλού και υψηλού επιπέδου, το αρνητικό πρότυπο ελέγχου και τους βαθμονομητές, κατά περίπτωση, στους φορείς δειγμάτων του αναλυτή Abbott m2000sp.

14. Μετά την ολοκλήρωση της επώασης, ανακινήστε με το χέρι ή περιστρέψτε τα σωληνάρια δείγματος DBS και κατόπιν τοποθετήστε τα στους φορείς δειγμάτων του Abbott m2000sp.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Βεβαιωθείτε ότι οι φορείς δειγμάτων του αναλυτή Abbott m2000sp έχουν βαθμονομηθεί ειδικά για τη διαδικασία Abbott RealTime HCV για DBS.

15. Φορτώστε τους φορείς δειγμάτων προσεκτικά για να αποφευχθεί τυχόν υπερχειλίση. Εάν χρησιμοποιούνται, οι γραμμωτοί κώδικες στις ετικέτες των σωληναρίων πρέπει να είναι στραμμένοι προς τα δεξιά για σάρωση. Βεβαιωθείτε ότι κάθε σωληνάριο έχει τοποθετηθεί σταθερά στο φορέα δειγμάτων, έτσι ώστε ο πυθμένας του σωληναρίου να φτάνει στο εσωτερικό κάτω μέρος του φορέα.

16. Φορτώστε τους φορείς δειγμάτων που έχουν πληρωθεί στον αναλυτή Abbott *m2000sp* σε διαδοχικές θέσεις φορέων δειγμάτων, με τον πρώτο φορέα να τοποθετείται στην πρώτη προς τα δεξιά θέση στην τράπεζα εργασίας, και κάθε επιπλέον φορέα με τη σειρά προς τα αριστερά του πρώτου φορέα.
17. Τοποθετήστε τα 5 mL Reaction Vessels στον φορέα υποσυστήματος 1 mL του αναλυτή Abbott *m2000sp*.
18. Φορτώστε τα αντιδραστήρια του Abbott *mSample Preparation System* και το Abbott 96 Deep-Well Plate στον πάγκο εργασίας του Abbott *m2000sp*, όπως περιγράφεται στις Οδηγίες Λειτουργίας και Συντήρησης του αναλυτή Abbott *m2000sp* στην ενότητα «Οδηγίες λειτουργίας».
19. Από την οθόνη Protocol (Πρωτόκολλο), επιλέξτε το αρχείο εφαρμογής HCV RNA DBS. Εκκινήστε το πρωτόκολλο εκχύλισης δείγματος, όπως περιγράφεται στις Οδηγίες Λειτουργίας και Συντήρησης του αναλυτή Abbott *m2000sp* στην ενότητα «Οδηγίες λειτουργίας».
20. Εισάγετε τις ειδικές τιμές για την παρτίδα βαθμονομητών (απαιτείται εάν δεν έχει αποθηκευτεί καμπύλη βαθμονόμησης στον αναλυτή Abbott *m2000rt*) και προτύπων ελέγχου στα πεδία Sample Extraction (Εκχύλιση δείγματος): Worktable Setup (Ρύθμιση πάγκου εργασίας), Calibrator (Βαθμονομητής) και Control (Πρότυπο ελέγχου). Οι ειδικές για την παρτίδα τιμές αναγράφονται σε κάθε Abbott RealTime HCV Calibrator και Control Kit Card.
21. Η εκκίνηση του πρωτοκόλλου Abbott *m2000sp* Master Mix Addition (βήμα 28) πρέπει να πραγματοποιείται εντός 1 ώρας από την ολοκλήρωση της προετοιμασίας δειγμάτων.
- ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Αλλάξτε γάντια πριν χειριστείτε τα αντιδραστήρια ενίσχυσης.**
22. Τοποθετήστε τα αντιδραστήρια ενίσχυσης και το Master Mix Tube (εάν απαιτείται) στον πάγκο εργασίας του αναλυτή Abbott *m2000sp* μόλις ολοκληρωθεί η παρασκευή των δειγμάτων. Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζεται ο αριθμός των διαγνωστικών συνόλων αντιδραστηρίων ενίσχυσης που απαιτούνται με βάση τον αριθμό των αντιδράσεων. Εάν χρησιμοποιείται μόνο 1 διαγνωστικό σύνολο αντιδραστηρίου ενίσχυσης, δεν απαιτείται σωληνάριο Master Mix.

Απαιτήσεις για το Amplification Reagent Pack ^a			
1 έως 24 αντιδράσεις	25 έως 48 αντιδράσεις	49 έως 72 αντιδράσεις	73 έως 96 αντιδράσεις
1 αν είναι νέο, μέχρι 4 με τα μερικώς χρησιμοποιημένα διαγν. σύνολα	2 αν είναι νέα, μέχρι 4 με τα μερικώς χρησιμοποιημένα διαγν. σύνολα	3 αν είναι νέα, μέχρι 4 με τα μερικώς χρησιμοποιημένα διαγν. σύνολα	4 νέα ή μερικώς χρησιμοποιημένα διαγν. σύνολα

^a Ανατρέξτε στις Οδηγίες Λειτουργίας και Συντήρησης του αναλυτή Abbott *m2000sp* (Κωδ. προϊόντος 09K20 έκδοση 6 ή μεταγενέστερη) για οδηγίες σχετικά με τη διαχείριση αποθέματος διαγνωστικών συνόλων αντιδραστηρίων ενίσχυσης για να καθορίσετε το μέγιστο αριθμό αντιδράσεων που μπορούν να εξεταστούν με τα επιλεγμένα μερικώς χρησιμοποιημένα διαγνωστικά σύνολα ενίσχυσης.

- Τα μερικώς χρησιμοποιημένα διαγνωστικά σύνολα μπορούν να χρησιμοποιηθούν μόνο στο ίδιο αναλυτή Abbott *m2000sp* που χρησιμοποιήθηκε για την αρχική προετοιμασία του διαγνωστικού συνόλου αντιδραστηρίων. Αν τη δεύτερη φορά χρησιμοποιηθούν σε διαφορετικό αναλυτή θα προκληθεί σφάλμα που μπορεί να καθυστερήσει την εκτέλεση της μέτρησης.
- Μερικώς χρησιμοποιημένα και νέα διαγνωστικά σύνολα ενίσχυσης μπορούν να χρησιμοποιηθούν μαζί.

ΣΗΜΑΝΤΙΚΟ: Τα μερικώς χρησιμοποιημένα διαγνωστικά σύνολα αντιδραστηρίων ενίσχυσης πρέπει να αποθηκεύονται σε θερμοκρασία –10°C ή χαμηλότερη έως αμέσως πριν από τη δεύτερη χρήση. Επιβεβαιώστε ότι το Master Mix έχει αποψυχθεί πριν τοποθετήσετε μερικώς χρησιμοποιημένα διαγνωστικά σύνολα στον πάγκο εργασίας του Abbott *m2000sp*. Μετά την αφαίρεσή τους από το χώρο αποθήκευσης σε θερμοκρασία –10°C ή χαμηλότερη, τα μερικώς χρησιμοποιημένα διαγνωστικά σύνολα που χρησιμοποιούνται για δεύτερη φορά πρέπει να χρησιμοποιηθούν εντός 25 λεπτών ή να απορριφθούν. Αυτό ισχύει για τη συνολική έκθεση σε θερμοκρασία δωματίου, συμπεριλαμβανομένων των περιπτώσεων όπου τα διαγνωστικά σύνολα αφαιρούνται από τον χώρο αποθήκευσης, αλλά δεν χρησιμοποιούνται.

23. Βεβαιωθείτε ότι το περιεχόμενο των νέων διαγνωστικών συνόλων αντιδραστηρίων ενίσχυσης βρίσκεται στον πυθμένα των φιαλιδίων πριν ανοίξετε τα αντιδραστήρια ενίσχυσης, κτυπώντας ελαφρά τα φιαλίδια σε όρθια θέση στον πάγκο 5 έως 10 φορές.

- Μην χτυπάτε τα μερικώς χρησιμοποιημένα διαγνωστικά σύνολα αντιδραστηρίων ενίσχυσης που χρησιμοποιούνται για δεύτερη φορά. Το χτύπημα μπορεί να προκαλέσει απώλεια του όγκου του Master Mix στο πώμα.

24. Αφαιρέστε τα πώματα. Εάν ένα νέο διαγνωστικό σύνολο αντιδραστηρίων ενίσχυσης πρόκειται να αποθηκευτεί για δεύτερη χρήση, τα φιαλίδια θα πρέπει να επαναπωματιστούν για αποθήκευση. Εάν σκοπεύετε να χρησιμοποιήσετε ξανά τα αρχικά πώματα για να πωματίσετε τα φιαλίδια των αντιδραστηρίων, αποθηκεύστε τα αρχικά πώματα. Αν σκοπεύετε να χρησιμοποιήσετε νέα πώματα για να πωματίσετε τα φιαλίδια των αντιδραστηρίων, μπορείτε να απορρίψετε τα αρχικά πώματα.

Εάν χρησιμοποιείται ουρακίλη Ν-γλυκοζυλάση (UNG) για έλεγχο της επιμόλυνσης, ακολουθήστε τις παρακάτω οδηγίες.

25. Χρησιμοποιήστε έναν ΑΝΑΡΡΟΦΗΤΗΡΑ ΕΙΔΙΚΟ ΓΙΑ ΧΡΗΣΗ ΜΟΝΟ ΜΕ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ για να προσθέσετε τον συγκεκριμένο όγκο του 1 U/μL UNG (Κωδ. προϊόντος 6L87-02) στο φιαλίδιο αντιδραστηρίου στη θέση 3 των νέων και μερικώς χρησιμοποιημένων διαγνωστικών συνόλων αντιδραστηρίων ενίσχυσης. Αναμίξτε χειροκίνητα αναροφώντας ήπια με τον αναρροφητήρα για όλα τα μερικώς χρησιμοποιημένα διαγνωστικά σύνολα. Μην αναμιγνύετε νέα διαγνωστικά σύνολα.
- Χρησιμοποιήστε τον παρακάτω πίνακα για να προσδιορίσετε τον όγκο UNG που θα προστεθεί στο φιαλίδιο αντιδραστηρίου στη θέση 3 των νέων και μερικώς χρησιμοποιημένων διαγνωστικών συνόλων αντιδραστηρίων ενίσχυσης. Το φιαλίδιο αντιδραστηρίου στη θέση 3 ενός νέου διαγνωστικού συνόλου αντιδραστηρίου περιέχει το ένζυμο θερμοαντοχής πολυμεράσης πολυμεράσης rTth. Το φιαλίδιο αντιδραστηρίου στη θέση 3 ενός μερικώς χρησιμοποιημένου διαγνωστικού συνόλου αντιδραστηρίου περιέχει το κύριο μίγμα Master Mix.

Όγκος UNG που θα προστεθεί στο φιαλίδιο αντιδραστηρίου στη θέση 3 κάθε διαγνωστικού συνόλου αντιδραστηρίων ενίσχυσης

Εξετάσεις που απομένουν στο διαγνωστικό σύνολο	Προσθήκη αυτού του όγκου UNG (μL)
1	5
2	6
3	7
4	8
5	9
6	10
7	11
8	12
9	13
10	13
11	14
12	15
13	16
14	17
15	18
16	19
17	20
18	21
19	22
20	23
21	24
22	25
23	26
24 (νέο διαγνωστικό σύνολο)	27

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Ο όγκος UNG που προστίθεται στο φιαλίδιο αντιδραστήριου στη θέση 3 εξαρτάται από τον αριθμό των εξετάσεων που απομένουν στο διαγνωστικό σύνολο αντιδραστήριων και όχι από τον αριθμό των δειγμάτων που υποβάλλονται σε εξέταση. Ανατρέξτε στις Οδηγίες Λειτουργίας και Συντήρησης του αναλυτή Abbott m2000sp για οδηγίες σχετικά με τη διαχείριση αποθεμάτων διαγνωστικών συνόλων αντιδραστήριων ενίσχυσης και τον τρόπο καθορισμού του αριθμού των εξετάσεων που απομένουν στο διαγνωστικό σύνολο αντιδραστήριων.

26. Τα μερικώς χρησιμοποιημένα διαγνωστικά σύνολα ενίσχυσης φορτώνονται στην αριστερή πλευρά των νέων διαγνωστικών συνόλων αντιδραστήριων ενίσχυσης στον πάγκο εργασίας του Abbott m2000sp.
27. Βεβαιωθείτε ότι τα διαγνωστικά σύνολα αντιδραστήριων ενίσχυσης είναι σταθερά τοποθετημένα στον αναλυτή.
28. Επιλέξτε την κατάλληλη πλάκα βαθών βοθρίων που αναλογεί στην αντίστοιχη εκχύλιση προετοιμασίας δείγματος. Εκκινήστε το πρωτόκολλο Abbott m2000sp Master Mix Addition. Ακολουθήστε τις οδηγίες, όπως περιγράφονται στις Οδηγίες Λειτουργίας και Συντήρησης του αναλυτή Abbott m2000sp, ενότητα «Οδηγίες λειτουργίας».

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Ο χειριστής δεν πρέπει να γεμίζει χειροκίνητα τα κενά βοθρία στο Abbott 96-Well Optical Reaction Plate.

- Όταν ολοκληρωθεί η εκχύλιση δείγματος, ο αναλυτής Abbott m2000sp εκτελεί αυτόματα πλήρωση των κενών βοθρίων του Abbott 96-Well Optical Reaction Plate με ρυθμιστικό διάλυμα mElution, όταν πραγματοποιείται επεξεργασία περισσότερων από 48 δειγμάτων εντός μιας σειράς ανάλυσης. Η πλήρωση της πλάκας δεν εκτελείται για σειρές αναλύσεων με 48 δείγματα ή λιγότερα.
- Εάν ζητηθεί από τον αναλυτή, ο φορέας αντιδραστήριων 2 πρέπει να παραμείνει στη θέση του, περιέχοντας τουλάχιστον τον υποδοχέα αντιδραστήριου για το ρυθμιστικό διάλυμα έκλουσης mElution (φορέας αντιδραστήριων 2, θέση 6). Εάν ο συγκεκριμένος υποδοχέας αντιδραστήριου έχει αφαιρεθεί, τοποθετήστε νέο υποδοχέα με την ετικέτα του ρυθμιστικού διαλύματος mElution στον φορέα αντιδραστήριων 2, στη θέση 6. Το σύστημα θα προσθέσει υγρό στον υποδοχέα αντιδραστήριου και θα το χρησιμοποιήσει για την πλήρωση των κενών βοθρίων. Όταν η διαδικασία αυτή ολοκληρωθεί, το σύστημα θα συνεχίσει με την προσθήκη Master Mix.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Για τις οδηγίες χρήσης του συστήματος σχετικά με τη λειτουργία αυτοματοποιημένης πλήρωσης βοθρίων πλάκας ανατρέξτε στις Οδηγίες Λειτουργίας και Συντήρησης του αναλυτή Abbott m2000sp (Κωδικός προϊόντος 09K20 έκδοση 6 ή μεταγενέστερη), ενότητα 5, Οδηγίες λειτουργίας, Εκχύλιση δειγματος – Λειτουργία κλειστού συστήματος.

- Η εκκίνηση του πρωτοκόλλου για το σύστημα Abbott m2000rt (βήμα 33) πρέπει να πραγματοποιείται εντός 50 λεπτών από την εκκίνηση του πρωτοκόλλου Master Mix Addition (βήμα 28).

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Εάν για οποιοδήποτε λόγο η σειρά ανάλυσης ακυρωθεί μετά από το βήμα 28, πρέπει να χρησιμοποιηθεί ένα νέο Abbott 96-Well Optical Reaction Plate εάν πρόκειται να επαναληφθεί το πρωτόκολλο Abbott m2000sp Master Mix Addition (βήμα 28).

29. Ενεργοποιήστε και πραγματοποιήστε αρχική εκκίνηση στον αναλυτή Abbott m2000rt στο χώρο ενίσχυσης.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Για την προθέρμανση του αναλυτή Abbott m2000rt απαιτούνται 15 λεπτά.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Αφαιρέστε τα γάντια πριν επιστρέψετε στο χώρο παρασκευής δειγμάτων.

30. Σφραγίστε το Abbott 96-Well Optical Reaction Plate μόλις ο αναλυτής Abbott m2000sp ολοκληρώσει την προσθήκη των δειγμάτων και του Master Mix σύμφωνα με τις Οδηγίες Λειτουργίας και Συντήρησης του αναλυτή Abbott m2000sp, Ενότητα «Οδηγίες λειτουργίας».

31. Τοποθετήστε τη σφραγισμένη οπτική πλάκα αντίδρασης στη βάση Abbott Splash-Free Support Base για μεταφορά στον αναλυτή Abbott m2000rt.

Εάν χρησιμοποιείται uracil N-glycosylase (UNG), ακολουθήστε τις παρακάτω οδηγίες:

32. Μεταφέρετε τη σφραγισμένη οπτική πλάκα στη βάση Abbott Splash-Free Support Base και επώαστε σε θερμοκρασία δωματίου (15°C έως 30°C) για 10 λεπτά. Μετά την επώαση σε θερμοκρασία δωματίου, μεταφέρετε το Abbott 96-Well Optical Reaction Plate στη βάση Abbott Splash-Free Support Base στον αναλυτή Abbott m2000rt.
33. Τοποθετήστε το Abbott 96-Well Optical Reaction Plate στον αναλυτή Abbott m2000rt. Από την οθόνη Protocol (Πρωτόκολλο), επιλέξτε το αρχείο εφαρμογής HCV RNA DBS. Εκκινήστε το πρωτόκολλο, όπως περιγράφεται στις Οδηγίες Λειτουργίας και Συντήρησης του αναλυτή Abbott m2000rt, ενότητα «Οδηγίες λειτουργίας».

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Συνιστάται η μεταφορά των εντολών εξέτασης με χρήση του CD-ROM ή σύνδεσης δικτύου με τις λειτουργίες εξαγωγής και εισαγωγής του λογισμικού m2000sp και m2000rt. Εάν η δημιουργία της εντολής εξέτασης του Abbott m2000rt πραγματοποιηθεί μη αυτόματα, εισάγετε τους κωδικούς δειγμάτων στις αντίστοιχες θέσεις του δίσκου PCR σύμφωνα με την ένδειξη «Wells for Selected Plate» (Βοθρία για την επιλεγμένη πλάκα), που προβάλλονται στην οθόνη με τα «PCR Plate Results» (Αποτελέσματα πλάκας PCR) στον αναλυτή Abbott m2000sp. Ανατρέξτε στην Ενότητα 5 στις Οδηγίες Λειτουργίας και Συντήρησης του αναλυτή Abbott m2000sp.

34. Εάν πρόκειται να χρησιμοποιηθεί για δεύτερη φορά ένα μερικώς χρησιμοποιημένο διαγνωστικό σύνολο αντιδραστήριων ενίσχυσης, κλείστε τα 3 φιαλίδια αντιδραστήριων με τα αποθηκευμένα πώματα ή νέα πώματα (Κωδικός προϊόντος 3N20-01) και αποθηκεύστε αμέσως τα αντιδραστήρια σε θερμοκρασία -10°C ή χαμηλότερη, προστατευμένα από το φως και σε όρθια θέση. Απορρίψτε τα διαγνωστικά σύνολα αντιδραστήριων ενίσχυσης που έχουν εξαντληθεί ή έχουν χρησιμοποιηθεί δύο φορές.

ΣΗΜΑΝΤΙΚΟ: Τα αντιδραστήρια ενίσχυσης που θα χρησιμοποιηθούν για δεύτερη φορά πρέπει να αποθηκεύονται σε θερμοκρασία -10°C ή χαμηλότερη εντός 50 λεπτών από την έναρξη του πρωτοκόλλου προσθήκης Master Mix.

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΕΣ ΜΕΤΑ ΤΗΝ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ

1. Αφαιρέστε το Abbott 96 Deep-Well Plate από τον πάγκο εργασίας και απορρίψτε το σύμφωνα με τις Οδηγίες Λειτουργίας και Συντήρησης του αναλυτή Abbott m2000sp.
2. Τοποθετήστε το Abbott 96-Well Optical Reaction Plate σε ένα σφραγιζόμενο πλαστικό σακουλάκι και απορρίψτε το σύμφωνα με τις Οδηγίες Λειτουργίας και Συντήρησης του αναλυτή Abbott m2000rt, μαζί με τα γάντια που χρησιμοποιήσατε για τον χειρισμό της πλάκας.
3. Καθαρίστε τη βάση Abbott Splash-Free Support Base πριν την επόμενη χρήση, σύμφωνα με τις Οδηγίες Λειτουργίας και Συντήρησης του αναλυτή Abbott m2000rt.

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΕΣ ΕΛΕΓΧΟΥ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ

Οπτική βαθμονόμηση του αναλυτή Abbott m2000rt

Ανατρέξτε στο συνοδευτικό φυλλάδιο της εξέτασης Abbott RealTime HCV (Κωδικός προϊόντος 4J86).

Βαθμονόμηση εξέτασης

Ανατρέξτε στο συνοδευτικό φυλλάδιο της εξέτασης Abbott RealTime HCV (Κωδικός προϊόντος 4J86).

Για την εξέταση DBS με χρήση των συστημάτων Abbott m2000sp και Abbott m2000rt: Όταν η βαθμονόμηση Abbott RealTime HCV γίνει αποδεκτή και αποθηκευτεί από τον αναλυτή, μπορείτε να τη χρησιμοποιείτε για διάστημα 6 μηνών. Σε αυτό το διάστημα, μπορείτε να εξετάσετε όλα τα επόμενα δείγματα χωρίς πρόσθετη βαθμονόμηση, εκτός εάν:

- Χρησιμοποιείται ένα Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit από νέα παρτίδα.
- Χρησιμοποιείται ένα Abbott mSample Preparation System (4 × 24 διαδικασίες παρασκευής) από νέα παρτίδα.
- Έχει εγκατασταθεί νέο αρχείο εφαρμογής Abbott RealTime HCV RNA DBS.

Ανίχνευση αναστολής

Ανατρέξτε στο συνοδευτικό φυλλάδιο της εξέτασης Abbott RealTime HCV (Κωδικός προϊόντος 4J86).

Αρνητικό και θετικό πρότυπο ελέγχου

Ανατρέξτε στο συνοδευτικό φυλλάδιο της εξέτασης Abbott RealTime HCV (Κωδικός προϊόντος 4J86).

Έλεγχος του εργαστηρίου για παρουσία επιμόλυνσης

Ανατρέξτε στο συνοδευτικό φυλλάδιο της εξέτασης Abbott RealTime HCV (Κωδικός προϊόντος 4J86).

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΓΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ DBS

Το αποτέλεσμα της συγκέντρωσης σε δείγμα DBS που αναφέρεται στη σειρά ανάλυσης του πρωτοκόλλου Abbott m2000rt DBS εκφράζει τη συγκέντρωση του ιού HCV στο πλάσμα δειγμάτων ολικού αίματος από τα οποία έχει ληφθεί το δείγμα DBS. Ο αναλυτής Abbott m2000rt αναφέρει αυτόματα τα αποτελέσματα στον σταθμό εργασίας του Abbott m2000rt. Τα αποτελέσματα της εξέτασης μπορούν να αναφερθούν σε διεθνείς μονάδες IU/mL ή Log IU/mL.

Ερμηνεία των αποτελεσμάτων

Αποτέλεσμα	Ερμηνεία
Not Detected (Δεν ανιχνεύτηκε)	Ο στόχος δεν ανιχνεύτηκε
<2,66 Log IU/mL ^a	Ανιχνεύτηκε
2,66 έως 8,00 Log IU/mL	
>8,00 Log IU/mL	> ULQ ^b

^a 462 IU/mL

^β ULQ = άνω όριο ποσοτικού προσδιορισμού

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

• ΓΙΑ IN VITRO ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΧΡΗΣΗ

- Για τη βέλτιστη απόδοση αυτής της εξέτασης απαιτείται η κατάλληλη συλλογή, αποθήκευση και μεταφορά των δειγμάτων στον χώρο εξέτασης (ανατρέξτε στην ενότητα **ΣΥΛΛΟΓΗ, ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ ΚΑΙ ΜΕΤΑΦΟΡΑ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΣΤΟ ΧΩΡΟ ΕΞΕΤΑΣΗΣ** στο παρόν συνοδευτικό φυλλάδιο).
- Τα δείγματα ολικού αίματος που συλλέγονται σε σωληνάρια EDTA μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη δημιουργία δειγμάτων DBS που εξετάζονται με τη εξέταση Abbott RealTime HCV για DBS. Η χρήση άλλων αντιπηκτικών δεν έχει επικυρωθεί με τη εξέταση Abbott RealTime HCV για DBS.
- Η εξέταση Abbott RealTime HCV για DBS περιορίζεται για χρήση από προσωπικό που έχει εκπαιδευτεί στις διαδικασίες προετοιμασίας και προκαταρκτικής επεξεργασίας DBS, τις διαδικασίες μοριακών διαγνωστικών εξετάσεων και στη χρήση του συστήματος Abbott m2000.
- Η διαδικασία λειτουργίας των αναλυτών και η διαδικασία της εξέτασης μειώνουν τον κίνδυνο επιμόλυνσης από το προϊόν ενίσχυσης. Ωστόσο, η επιμόλυνση νουκλεϊκού οξέος από βαθμονομητές, θετικά πρότυπα ελέγχου ή δείγματα πρέπει να ελέγχεται με την εφαρμογή ορθής εργαστηριακής πρακτικής και την πιστή τήρηση των διαδικασιών που παρατίθενται στο παρόν συνοδευτικό φυλλάδιο.
- Όπως ισχύει για όλες τις διαγνωστικές εξετάσεις, τα αποτελέσματα από τη εξέταση Abbott RealTime HCV για DBS πρέπει να ερμηνεύονται σε συνδυασμό με άλλα κλινικά και εργαστηριακά ευρήματα. Ένα δείγμα με αποτέλεσμα Not Detected (Δεν ανιχνεύτηκε) δεν μπορεί να θεωρηθεί αρνητικό για HCV RNA.
- Η μη κατάλληλη συλλογή, ξήρανση, αποθήκευση και ο ακατάλληλος χειρισμός των καρτών DBS ενδέχεται να οδηγήσουν σε ανακριβή αποτελέσματα εξέτασης.
- Μπορούν να χρησιμοποιηθούν κάρτες DBS Ahlstrom-Munktel TFN και Whatman 903. Η χρήση άλλων καρτών δεν έχει επικυρωθεί με τη εξέταση Abbott RealTime HCV.

ΙΔΙΑΙΤΕΡΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ ΓΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ DBS

Όριο ανίχνευσης (LoD)

Το LoD της εξέτασης Abbott RealTime HCV είναι 462 IU/mL με τον τύπο δείγματος DBS. Το LoD προσδιορίστηκε εξετάζοντας δείγματα DBS που παρασκευάστηκαν με σειρά διαλυμάτων αραιώσης του Διεθνούς Προτύπου του Π.Ο.Υ. για το RNA του ιού της Ηπατίτιδας C αραιωμένα σε ολικό αίμα αρνητικό σε HCV. Η εξέταση πραγματοποιήθηκε με 4 παρτίδες αντιδραστηρίων ενίσχυσης σε 3 ημέρες για κάθε συγκέντρωση HCV RNA. Τα αποτελέσματα, τα οποία είναι αντιπροσωπευτικά της αναλυτικής ευαισθησίας της εξέτασης Abbott RealTime HCV για DBS, συνοψίζονται στον Πίνακα 1.

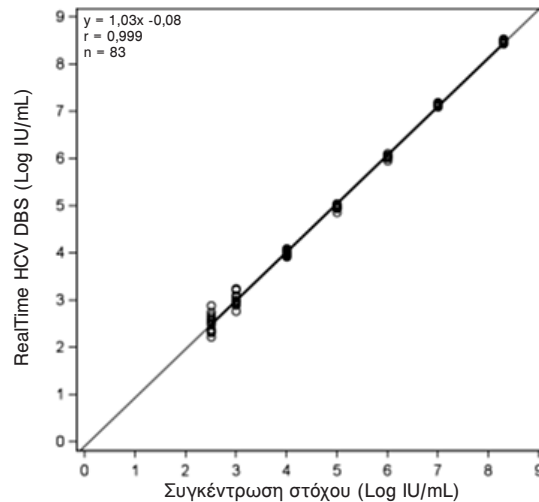
Πίνακας 1. Όριο ανίχνευσης (LoD) της εξέτασης Abbott RealTime HCV για DBS			
HCV RNA (IU/mL)	Αριθμός που εξετάστηκε	Αριθμός που ανιχνεύτηκε	Ποσοστό που ανιχνεύτηκε
500	84	83	99
400	84	80	95
350	84	75	89
300	84	73	87
150	84	54	64
50	84	26	31

Από την ανάλυση Probit των δεδομένων, προέκυψε ότι η συγκέντρωση του HCV RNA που ανιχνεύτηκε από αποξηραμένη κηλίδα αίματος με πιθανότητα 95% ήταν 462 IU/mL (95% ΔΕ 381 έως 593 IU/mL).

Γραμμικό εύρος τιμών

Το άνω όριο ποσοτικού προσδιορισμού (ULQ) για τη εξέταση Abbott RealTime HCV είναι 100 εκατομμύρια IU/mL και το κάτω όριο ποσοτικού προσδιορισμού ισοδυναμεί με το όριο ανίχνευσης (LoD) (462 IU/mL) για την απαίτηση DBS. Εξετάστηκε μια ομάδα DBS 7 στοιχείων που παρασκευάστηκε με αραιώση armored HCV RNA σε συγκεντρώσεις που κυμαίνονταν από 200 εκατομμύρια IU/mL έως 316 IU/mL σε ολικό αίμα αρνητικό σε HCV. Τα αποτελέσματα, τα οποία είναι αντιπροσωπευτικά της γραμμικότητας της εξέτασης Abbott RealTime HCV για DBS, απεικονίζονται στο Σχήμα 1.

Σχήμα 1. Γραμμικότητα της εξέτασης Abbott RealTime HCV για DBS



Η εξέταση Abbott RealTime HCV για DBS εμφάνισε γραμμικότητα σε όλο το εύρος τιμών των συγκεντρώσεων HCV RNA που εξετάστηκαν (316 έως 200 εκατομμύρια IU/mL, 2,5 έως 8,3 Log IU/mL).

Ειδικότητα

Η ειδικότητα-στόχος της εξέτασης Abbott RealTime HCV για DBS είναι μεγαλύτερη ή ίση με 99,5%. Η ειδικότητα προσδιορίστηκε με την ανάλυση 119 οροαρνητικών σε HCV δειγμάτων με 2 παρτίδες αντιδραστηρίων ενίσχυσης. Η συνολική ειδικότητα ήταν 100% (119/119).

Ακρίβεια

Η ακρίβεια αξιολογήθηκε με την εξέταση μιας ομάδας DBS 6 στοιχείων με στόχο την κάλυψη του εύρους συγκέντρωσης HCV RNA από 316 IU/mL έως 200 εκατομμύρια IU/mL. Τα στοιχεία της ομάδας με συγκεντρώσεις μικρότερες από 5 Log IU/mL (100.000 IU/mL) παρασκευάστηκαν με αραιώση κλινικών, θετικών σε HCV δειγμάτων σε αρνητικό σε HCV ολικό αίμα, ενώ τα στοιχεία της ομάδας με συγκεντρώσεις μεγαλύτερες από 5 Log IU/mL (100.000 IU/mL) παρασκευάστηκαν με αραιώση HCV armored RNA σε ολικό αίμα αρνητικό σε HCV. Κάθε στοιχείο της ομάδας εξετάστηκε σε επαναλήψεις των 5 μία φορά την ημέρα για 5 ημέρες, σε 3 ζεύγη των αναλυτών Abbott m2000sp/rt με 3 παρτίδες αντιδραστηρίου ενίσχυσης. Προσδιορίστηκαν οι τυπικές αποκλίσεις (SD) εντός της σειράς αναλύσεων, μεταξύ των σειρών ανάλυσης και μεταξύ των εξετάσεων. Η εξέταση Abbott RealTime HCV για DBS έχει σχεδιαστεί για επίτευξη τυπικής απόκλισης (SD) μεταξύ των εξετάσεων μικρότερη ή ίση των 0,25 Log IU/mL HCV RNA για δείγματα με συγκεντρώσεις HCV από 10.000 έως 100 εκατομμύρια IU/mL. Τα αποτελέσματα, τα οποία είναι αντιπροσωπευτικά της ακρίβειας της εξέτασης Abbott RealTime HCV για DBS, συνοψίζονται στον Πίνακα 2.

Πίνακας 2. Ακρίβεια της εξέτασης Abbott RealTime HCV για DBS

Στοιχείο ομάδας	N	Μέση συγκέντρωση (IU/mL)	Μέση συγκέντρωση (Log IU/mL)	Τιμή SD εντός της σειράς αναλύσεων ^{α,ε}	Τιμή SD μεταξύ των σειρών αναλύσεων ^α	Τιμή SD μεταξύ των εξετάσεων ^{α,β}	Τιμή SD μεταξύ παρτίδων/αναλυτή ^α	Σύνολο ^{γ,ε}
1	63 ^δ	420	2,62	0,26	0,07	0,27	0,00	0,27
2	75	1.435	3,16	0,23	0,00	0,23	0,09	0,25
3	75	13.211	4,12	0,06	0,04	0,07	0,05	0,09
4	75	395.427	5,60	0,04	0,03	0,05	0,02	0,05
5	75	14.008.770	7,15	0,12	0,04	0,13	0,05	0,14
6	75	316.713.566	8,50	0,04	0,03	0,05	0,05	0,07

^α Οι τυπικές αποκλίσεις (SD) εκφράζονται σε Log IU/mL.

^β Η τιμή μεταξύ των εξετάσεων περιέχει τα στοιχεία εντός της σειράς αναλύσεων και μεταξύ των σειρών ανάλυσης.

^γ Στο σύνολο περιλαμβάνονται τα στοιχεία εντός της σειράς αναλύσεων, μεταξύ των σειρών ανάλυσης και μεταξύ παρτίδων/αναλυτή.

^δ Η μέση συγκέντρωση του στοιχείου 1 της ομάδας είναι μικρότερη από το όριο ανίχνευσης (LoD). Οι εκτιμήσεις ακρίβειας βασίζονται στα αντίγραφα που προσδιορίζονται ποσοτικά.

^ε Η τιμή SD εντός της σειράς αναλύσεων είναι επίσης γνωστή ως επαναληψιμότητα. Η συνολική τιμή SD είναι επίσης γνωστή ως αναπαραγωγιμότητα.

Η επαναληψιμότητα και η αναπαραγωγιμότητα για το στοιχείο 1 της ομάδας (πλησίον του LLoQ) ήταν 0,26 Log IU/mL και 0,27 Log IU/mL αντίστοιχα, ενώ για το στοιχείο 2 της ομάδας (πλησίον του LLoQ) ήταν 0,23 Log IU/mL και 0,25 Log IU/mL, αντίστοιχα. Η επαναληψιμότητα και η αναπαραγωγιμότητα για το στοιχείο 5 της ομάδας (πλησίον του LLoQ) ήταν 0,12 Log IU/mL και 0,14 Log IU/mL αντίστοιχα, ενώ για το στοιχείο 6 της ομάδας (πλησίον του LLoQ) ήταν 0,04 Log IU/mL και 0,07 Log IU/mL, αντίστοιχα.

Συσχέτιση

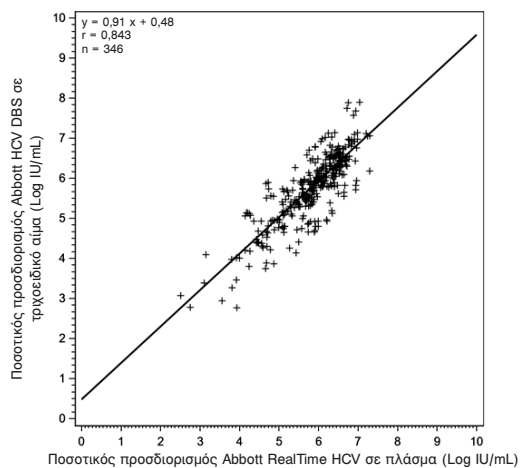
Ο ποσοτικός προσδιορισμός HCV RNA συγκρίθηκε μεταξύ της εξέτασης Abbott RealTime HCV με χρήση αποξηραμένων κηλίδων αίματος και της συγκριτικής εξέτασης με σήμανση CE, Abbott RealTime HCV με χρήση ανθρώπινου πλάσματος. Στην ανάλυση συμπεριλήφθηκαν δείγματα πλάσματος και DBS από 346 ασθενείς συνολικά (που συλλέχθηκαν και εξετάστηκαν στη Γεωργία, το Καμερούν και την Ελλάδα). Τόσο το DBS που παρασκευάστηκε από φλεβικό αίμα όσο και το DBS που παρασκευάστηκε από τριχοειδικό αίμα (finger prick) εξετάστηκαν με τη εξέταση Abbott RealTime HCV για DBS. Τα αποτελέσματα ποσοτικού προσδιορισμού από δείγματα που εμπίπτουν στο δυναμικό εύρος των εξετάσεων αναλύθηκαν με τη μέθοδο γραμμικής παλινδρόμησης ελαχίστων τετραγώνων και τη μέθοδο συστηματικού σφάλματος Bland-Altman (DBS τριχοειδικού αίματος έναντι πλάσματος N=346, DBS φλεβικού αίματος έναντι πλάσματος N=346, και DBS τριχοειδικού αίματος έναντι DBS φλεβικού αίματος N=345). Για τη συσχέτιση μεταξύ του DBS τριχοειδικού αίματος και του πλάσματος, ο συντελεστής συσχέτισης ήταν 0,843, η κλίση ήταν 0,91 (95% ΔΕ 0,85 έως 0,97) και το σημείο τομής ήταν 0,48 Log IU/mL (95% ΔΕ 0,12 έως 0,84) (**Σχήμα 2**). Για τη συσχέτιση μεταξύ του DBS φλεβικού αίματος και του πλάσματος, ο συντελεστής συσχέτισης ήταν 0,840, η κλίση ήταν 0,94 (95% ΔΕ 0,88 έως 1,00) και το σημείο τομής ήταν 0,31 Log IU/mL (95% ΔΕ -0,07 έως 0,69) (**Σχήμα 3**). Για τη συσχέτιση μεταξύ του DBS τριχοειδικού αίματος και του DBS φλεβικού αίματος, ο συντελεστής συσχέτισης ήταν 0,943, η κλίση ήταν 0,91 (95% ΔΕ 0,87 έως 0,94) και το σημείο τομής ήταν 0,53 Log IU/mL (95% ΔΕ 0,33 έως 0,72) (**Σχήμα 4**). Επιπλέον, τα γραφήματα Bland-Altman για τις ίδιες αυτές συγκρίσεις παρουσιάζονται στο **Σχήμα 5**, στο **Σχήμα 6** και στο **Σχήμα 7**. Η μέση διαφορά συστηματικού σφάλματος μεταξύ του DBS τριχοειδικού αίματος και του πλάσματος ήταν -0,05 Log IU/mL. Η μέση διαφορά συστηματικού σφάλματος μεταξύ του DBS φλεβικού αίματος και του πλάσματος ήταν -0,04 Log IU/mL. Η μέση διαφορά συστηματικού σφάλματος μεταξύ του DBS τριχοειδικού αίματος και του DBS φλεβικού αίματος ήταν -0,02 Log IU/mL.

Το προβλεπόμενο συστηματικό σφάλμα μεταξύ του DBS τριχοειδικού αίματος και του πλάσματος αξιολογήθηκε στα επίπεδα στόχου LLoQ και ULQ. Επιπλέον, το προβλεπόμενο συστηματικό σφάλμα μεταξύ DBS φλεβικού αίματος και πλάσματος αξιολογήθηκε στα επίπεδα στόχου LLoQ και ULQ. Ανατρέξτε στον **Πίνακα 3** για τη σύνοψη του προβλεπόμενου συστηματικού σφάλματος.

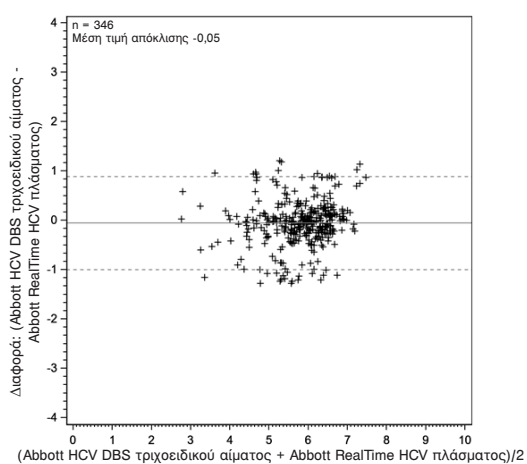
Πίνακας 3. Προβλεπόμενο συστηματικό σφάλμα μεταξύ DBS (τριχοειδικό ή φλεβικό αίμα) και πλάσματος στα LLoQ και ULQ

Σύγκριση	Επίπεδο	Επίπεδο στόχου ιικού φορτίου (Log IU/mL)	Προβλεπόμενο συστηματικό σφάλμα (Log IU/mL)
DBS τριχοειδικού αίματος έναντι πλάσματος	LLoQ	2,66	0,24
	ULQ	8,00	-0,26
DBS φλεβικού αίματος έναντι πλάσματος	LLoQ	2,66	0,15
	ULQ	8,00	-0,17

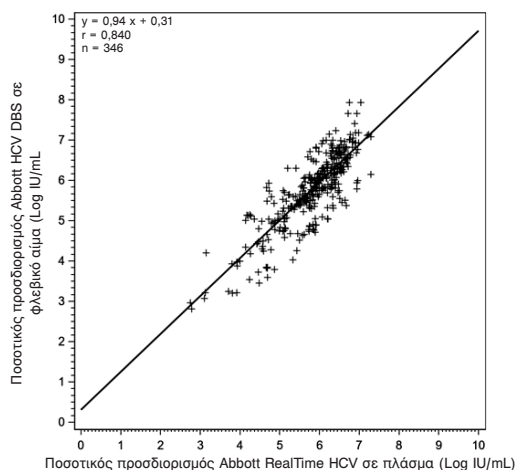
Σχήμα 2. DBS τριχοειδικού αίματος και πλάσματος



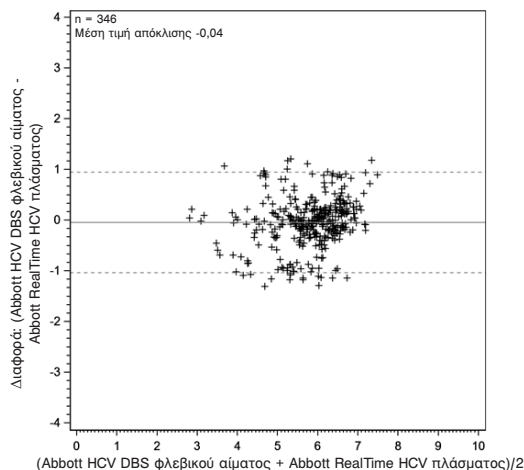
Σχήμα 5. DBS τριχοειδικού αίματος έναντι πλάσματος



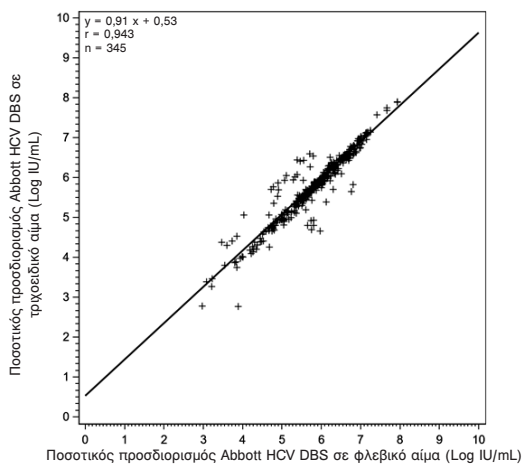
Σχήμα 3. DBS φλεβικού αίματος και πλάσματος



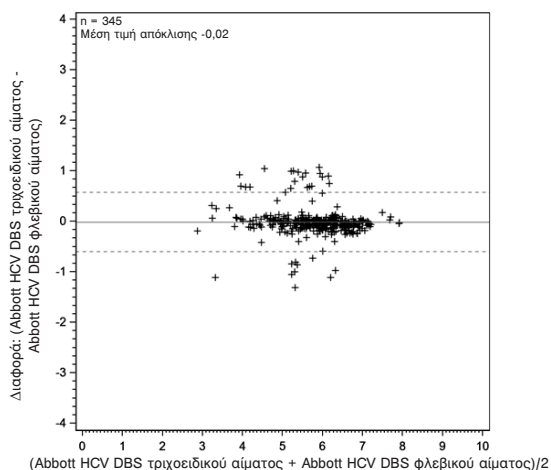
Σχήμα 6. DBS φλεβικού αίματος έναντι πλάσματος



Σχήμα 4. DBS τριχοειδικού αίματος και DBS φλεβικού αίματος



Σχήμα 7. DBS τριχοειδικού αίματος έναντι DBS φλεβικού αίματος



ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Gower E, Estes C, Blach S, Razavi-Shearer K, Razavi H. Global epidemiology and genotype distribution of the hepatitis C virus infection. *J Hepatol*. 2014;61(1 Suppl):S45-S57. doi:10.1016/j.jhep.2014.07.027
2. Guidelines for the screening, care and treatment of persons with chronic hepatitis C infection. World Health Organization (WHO); updated April 2016. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/205035>
3. AASLD/IDSA HCV guidance panel. *Recommendations for testing, managing, and treating hepatitis C*. AASLD/IDSA; updated October 24, 2022. <https://www.hcvguidelines.org/>
4. European Association for the Study of the Liver. EASL Recommendations on Treatment of Hepatitis C 2018. *J Hepatol*. 2018;69(2):461-511. doi:10.1016/j.jhep.2018.03.026
5. Miller MH, Agarwal K, Austin A, et al. Review article: 2014 UK consensus guidelines - hepatitis C management and direct-acting anti-viral therapy. *Aliment Pharmacol Ther*. 2014;39(12):1363-1375. doi:10.1111/apt.12764
6. Davis GL, Esteban-Mur R, Rustgi V, et al. Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin for the treatment of relapse of chronic hepatitis C. International Hepatitis Interventional Therapy Group. *N Engl J Med*. 1998;339(21):1493-1499. doi:10.1056/NEJM199811193392102
7. Manns MP, McHutchison JG, Gordon SC, et al. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial. *Lancet*. 2001;358(9286):958-965. doi:10.1016/s0140-6736(01)06102-5
8. Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR, et al. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med*. 2002;347(13):975-982. doi:10.1056/NEJMoa020047
9. Hadziyannis SJ, Sette H Jr, Morgan TR, et al. Peginterferon-alpha2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose. *Ann Intern Med*. 2004;140(5):346-355. doi:10.7326/0003-4819-140-5-200403020-00010
10. Orlent H, Deltenre P, Francque S, et al. Update of the Belgian Association for the Study of the Liver guidelines for the treatment of chronic hepatitis C genotype 1 with protease inhibitors. *Acta Gastroenterol Belg*. 2012;75(2):245-259.
11. Halfon P, Bourlière M, Pénaranda G, Khiri H, Ouzan D. Real-time PCR assays for hepatitis C virus (HCV) RNA quantitation are adequate for clinical management of patients with chronic HCV infection. *J Clin Microbiol*. 2006;44(7):2507-2511. doi:10.1128/JCM.00163-06
12. Kowdley KV, Nelson DR, Lalezari JP, et al. On-treatment HCV RNA as a predictor of sustained virological response in HCV genotype 3-infected patients treated with daclatasvir and sofosbuvir. *Liver Int*. 2016;36(11):1611-1618. doi:10.1111/liv.13165
13. Yoshida EM, Sulkowski MS, Gane EJ, et al. Concordance of sustained virological response 4, 12, and 24 weeks post-treatment with sofosbuvir-containing regimens for hepatitis C virus. *Hepatology*. 2015;61(1):41-45. doi:10.1002/hep.27366
14. WHO Guidelines on Hepatitis B and C Testing. World Health Organization (WHO); 2017. <https://www.who.int/publications/i/item/9789241549981>
15. Saldanha J, Heath A, Aberham C, et al. World Health Organization collaborative study to establish a replacement WHO international standard for hepatitis C virus RNA nucleic acid amplification technology assays. *Vox Sang*. 2005;88(3):202-204. doi:10.1111/j.1423-0410.2005.00606.x

ΤΕΧΝΙΚΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ

Για τεχνική υποστήριξη, καλέστε στο τοπικό Τμήμα τεχνικής υποστήριξης της Abbott στο τηλέφωνο +49-6122-580 ή επισκεφθείτε τον ιστότοπο της Abbott www.molecular.abbott.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΤΩΝ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ ΑΣΦΑΛΕΙΑΣ ΚΑΙ ΑΠΟΔΟΣΗΣ

Περίληψη των χαρακτηριστικών ασφάλειας και απόδοσης (SSP) για αυτό το προϊόν διατίθεται στον ιστότοπο <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>. Μετά την εφαρμογή της Ευρωπαϊκής Βάσης Δεδομένων Ιατροτεχνολογικών Προϊόντων, τα SSP για τα προϊόντα είναι διαθέσιμα σε αυτή την τοποθεσία. Η αναζήτηση γίνεται χρησιμοποιώντας τον κωδικό UDI-DI που αναγράφεται στην εξωτερική συσκευασία του προϊόντος.

Το Abbott RealTime HCV εισάγεται στην Ευρωπαϊκή Ένωση από την Abbott Diagnostics GmbH, με διεύθυνση Max-Planck-Ring 2, 65205 Wiesbaden, Γερμανία



Abbott Molecular Inc.
1300 East Touhy Avenue
Des Plaines, IL 60018 USA



Abbott GmbH
Max-Planck-Ring 2
65205 Wiesbaden, Germany

© 2020, 2024 Abbott. Με την επιφύλαξη παντός δικαιώματος.
51-608440/R3

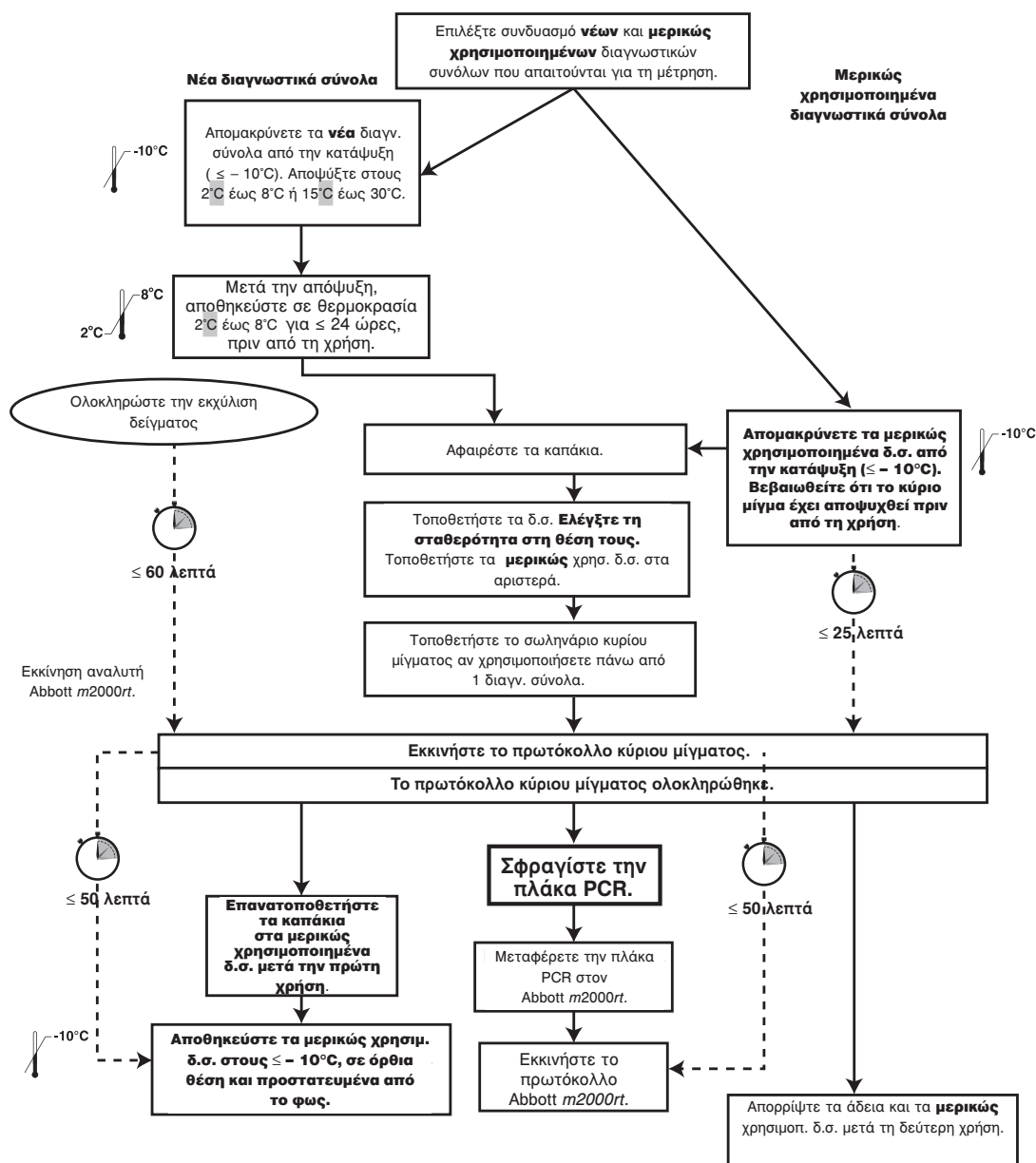
Αύγουστος 2024

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1. ΕΠΙΣΚΟΠΗΣΗ ΤΗΣ ΔΥΝΑΤΟΤΗΤΑΣ ΠΑΡΑΤΕΤΑΜΕΝΗΣ ΧΡΗΣΗΣ ΤΟΥ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΟΥ ΕΝΙΣΧΥΣΗΣ ABBOTT REALTIME HCV AMPLIFICATION REAGENT

Η δυνατότητα προαιρετικής παρατεταμένης χρήσης αντιδραστήριου ενίσχυσης επιτρέπει τη χρήση ενός διαγνωστικού συνόλου αντιδραστηρίων ενίσχυσης και εσωτερικού προτύπου ελέγχου (IC) συνολικά 2 φορές. Τα διαγνωστικά σύνολα αντιδραστηρίων ενίσχυσης που δεν έχουν ακόμη χρησιμοποιηθεί για την προετοιμασία του Master Mix αναφέρονται ως **νέα** διαγνωστικά σύνολα. Τα διαγνωστικά σύνολα αντιδραστηρίων ενίσχυσης που έχουν ήδη χρησιμοποιηθεί μία φορά και περιέχουν παρασκευασμένο Master Mix θα αναφέρονται ως **μερικώς χρησιμοποιημένα** διαγνωστικά σύνολα. Για περισσότερες λεπτομέρειες, ανατρέξτε στις οδηγίες που παρέχονται στο παρόν εγχειρίδιο.

Συνθήκες αποθήκευσης (Διαγνωστικά σύνολα αντιδραστηρίων ενίσχυσης και φιαλίδια εσωτερικών προτύπων ελέγχου)		
Τύπος διαγνωστικού συνόλου	Θερμοκρασία αποθήκευσης	Χρόνος αποθήκευσης
Νέα διαγνωστικά σύνολα	-10°C ή χαμηλότερη	Έως την ημερομηνία που αναγράφεται στην ετικέτα
Νέα IC	-10°C ή χαμηλότερη	Έως την ημερομηνία που αναγράφεται στην ετικέτα
Μερικώς χρησιμοποιημένα διαγνωστικά σύνολα	-10°C ή χαμηλότερη (προστατευμένα από το φως)	Έως και 14 ημέρες μετά την αρχική χρήση
Μερικώς χρησιμοποιημένα IC	-10°C ή χαμηλότερη	Έως και 14 ημέρες μετά την αρχική χρήση

- Εάν χρησιμοποιείται UNG για τη διαδικασία ελέγχου επιμόλυνσης, ανατρέξτε στα βήματα 25 και 32 του Πρωτοκόλλου εξέτασης για συγκεκριμένες οδηγίες.



- Τα διαγνωστικά σύνολα αντιδραστηρίων ενίσχυσης για να είναι κατάλληλα για παρατεταμένη χρήση πρέπει να φέρουν έναν διψήφιο σειριακό αριθμό πάνω από το γραμμωτό κώδικα.
- Τα **μερικώς χρησιμοποιημένα** διαγνωστικά σύνολα αντιδραστηρίων ενίσχυσης μπορούν να χρησιμοποιηθούν για δεύτερη φορά μόνο στον ίδιο αναλυτή με την αρχική χρήση. Η χρήση τους σε διαφορετικό αναλυτή θα οδηγήσει σε σφάλμα επεξεργασίας, το οποίο ενδέχεται να καθυερίσει τη σειρά ανάλυσης.
- Μπορούν να χρησιμοποιηθούν μαζί **μερικώς χρησιμοποιημένα** και **νέα** διαγνωστικά σύνολα αντιδραστηρίων ενίσχυσης. Όλα τα διαγνωστικά σύνολα αντιδραστηρίων ενίσχυσης που χρησιμοποιούνται στον αναλυτή για μια σειρά αναλύσεων πρέπει να έχουν τον ίδιο αριθμό παρτίδας.

Abbott RealTime HCV

Dodatek dotyczący analizy suchej kropli krwi (DBS)

pl

GTIN

REF

04J86-010

IVD

REF 04J86-010

51-608440/R3

51-608440/R3

UWAGA: Zmiany wyróżniono kolorem szarym.

Objaśnienia użytych symboli

GTIN

Globalny numer jednostki handlowej

REF

Numer katalogowy

IVD

Wyrób medyczny do diagnostyki in vitro



Maksymalny dozwolony czas użycia



Górna granica temperatury



Zakres temperatury

EC REP

Upoważniony przedstawiciel
w krajach Wspólnoty Europejskiej
/Unii Europejskiej



Producent

OBSŁUGA KLIENTA: PROSIMY O KONTAKT Z PRZEDSTAWIELEMI FIRMY ABBOTT.

Przed użyciem należy dokładnie zapoznać się z treścią niniejszej instrukcji używania. Należy ściśle przestrzegać podanych tu wytycznych. Nie można zagwarantować wiarygodności wyników testu w przypadku jakichkolwiek odstępstw od procedury opisanej w niniejszej instrukcji używania.

Niniejsza Instrukcja używania (IFU) stanowi uzupełnienie instrukcji używania testu Abbott RealTime HCV (nr kat. 4J86) i dotyczy próbek w postaci suchej kropli krwi (ang. dried blood spot, DBS).

UWAGA DO UŻYTKOWNIKA

W przypadku wystąpienia poważnego incydentu dotyczącego tego wyrobu należy zgłosić ten fakt producentowi oraz właściwemu organom kraju członkowskiego, w którym mieści się siedziba użytkownika i/lub który stanowi miejsce zamieszkania pacjenta. W celu zgłoszenia incydentu producentowi należy zapoznać się z danymi kontaktowymi podanymi w rozdziale „Obsługa klienta” lub „Pomoc techniczna” w niniejszej instrukcji.

NAZWA

Abbott RealTime HCV

PRZEWIDZIANE ZASTOSOWANIE W PRZYPADKU PRÓBEK DBS

Abbott RealTime HCV to test in vitro, wykorzystujący łańcuchową reakcję polimerazy poprzedzoną reakcją odwrotnej transkrypcji (RT-PCR), służący do ilościowego oznaczania RNA wirusa zapalenia wątroby typu C (RNA HCV) w krwi pełnej naniesionej na karty testowe w postaci suchej kropli krwi (DBS) (tj. uzyskanej w ramach wkłucia dożylnego albo krwi włośniczkowej) od osób zakażonych wirusem HCV. Test Abbott RealTime HCV jest przeznaczony do stosowania pomocniczo w prowadzeniu pacjentów z HCV poddawanych leczeniu przeciwwirusowemu. Test Abbott RealTime HCV nie jest przeznaczony do stosowania jako badanie przesiewowe krwi, osocza, surowicy lub tkanek dawców w kierunku HCV. Nie należy go również stosować jako testu diagnostycznego do potwierdzenia zakażenia HCV.

PRZEWIDZIANY UŻYTKOWNIK

Przewidzianymi użytkownikami testu Abbott RealTime HCV są pracownicy laboratoriów.

WPROWADZENIE

Wirus zapalenia wątroby typu C (HCV) jest jednym z głównych czynników etiologicznych schorzeń wątroby. Szacunkowo około 1,1% populacji cierpi na przewlekłe wirusowe zapalenie wątroby typu C¹, a rocznie około 700 000 osób umiera z powodu zaburzeń czynności wątroby związanych z zakażeniem wirusem zapalenia wątroby typu C.² Genom wirusa HCV stanowi jednoniciowe RNA o dodatniej polarności, a sam wirus jest przenoszony głównie przez dożylne przyjmowanie leków oraz przez preparaty krwiopochodne. U około 55 do 85% osób zakażonych HCV dochodzi do przewlekłego wirusowego zapalenia wątroby, z czego maksymalnie u 30% osób z zakażeniem przewlekłym dochodzi do marskości wątroby.¹ U pacjentów z marskością wątroby ryzyko pojawienia się raka wątroby wynosi 2 do 4% w skali roku.¹ Wykazano, że ilościowe oznaczanie RNA HCV w krwi obwodowej odgrywa kluczową rolę w stosowaniu różnych metod leczenia przeciwwirusowego skierowanego przeciwko HCV.⁶⁻¹³ Opracowanie leków o bezpośrednim działaniu przeciwwirusowym pozwoliło poczynić ogromne postępy w leczeniu osób zakażonych HCV. Celem leczenia przeciwwirusowego skierowanego przeciwko HCV jest uzyskanie trwałej odpowiedzi wirusologicznej, definiowanej jako utrzymujący się brak wykrywalnego RNA HCV.²⁻⁵ Pomiary miana wirusa HCV wykorzystuje się w celu indywidualnego dostosowania czasu trwania leczenia, prowadzenia leczenia w zależności od uzyskanej odpowiedzi na leczenie oraz aby określić i przewidzieć trwałą albo nietrwałą odpowiedź wirusologiczną na leczenie przeciwwirusowe.²⁻⁵

Największe obciążenie wirusem HCV występuje w krajach o niskim i średnim dochodzie.¹⁴ Na tych obszarach deficytowych możliwość identyfikacji pacjentów, u których występuje czynna postać zakażenia HCV, jest bardzo ograniczona. Próbkę krwi pełnej pobrane w postaci suchej kropli krwi (DBS) mogą służyć jako alternatywa dla wykonywanych testów z próbek surowicy lub osocza w kierunku RNA HCV. DBS stanowi możliwą do realizacji opcję, która eliminuje wiele ograniczeń logistycznych i technicznych związanych z pobieraniem, przetwarzaniem, przechowywaniem i wysyłką próbek surowicy czy osocza. Wytyczne Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) dotyczące testów pod kątem wirusowego zapalenia wątroby typu C obejmują zalecenia dotyczące wykorzystania DBS w testach wirusologicznych HCV na obszarach deficytowych.¹⁴

Test Abbott RealTime HCV do analizy DBS wykorzystuje technologię łańcuchowej reakcji polimerazy poprzedzonej reakcją odwrotnej transkrypcji (RT-PCR) połączoną z wykrywaniem homogennej fluorescencji w czasie rzeczywistym do ilościowego oznaczania RNA HCV w próbce DBS. Wybór konserwowanego regionu w genomie HCV pozwala na wykrycie genotypów od 1 do 6. Test ten został wystandaryzowany względem drugiego międzynarodowego wzorca RNA wirusa zapalenia wątroby typu C opracowanego przez Światową Organizację Zdrowia (2nd WHO International Standard for Hepatitis C Virus RNA; kod NIBSC 96/798)¹⁵, zaś wyniki są raportowane w jednostkach międzynarodowych/mL (IU/mL) albo równoważnych logarytmach dziesiętnych (ang. log base 10, logarytm o podstawie 10).

ZASADA METODY

Test Abbott RealTime HCV do analizy DBS wymaga użycia 3 zestawów odczynników:

- Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit
- Abbott RealTime HCV Control Kit
- Abbott RealTime HCV Calibrator Kit

Test Abbott RealTime HCV do analizy DBS wykorzystuje metodę RT-PCR do amplifikacji produktu z genomu RNA wirusa HCV obecnego w ludzkich próbkach DBS. Poszczególne etapy testu Abbott RealTime HCV do analizy DBS obejmują przedanalizacyjną preparatykę DBS, izolację próbek, przygotowanie reakcji RT-PCR, amplifikację, detekcję oraz wydanie wyników. Etap przedanalizacyjnej preparatyki DBS obejmuje czynności wykonywane przed umieszczeniem próbek w aparacie Abbott m2000sp z użyciem zestawu bufora Abbott mSample Preparation System DBS Buffer Kit. Po zakończeniu przedanalizacyjnej preparatyki DBS wszystkie kolejne

etapy wykonywane są automatycznie przez systemy Abbott m2000sp oraz Abbott m2000rt. Więcej informacji na temat izolacji próbek, przygotowania reakcji RT-PCR, amplifikacji i detekcji, patrz instrukcja używania testu Abbott RealTime HCV (nr kat. 4J86).

DWUKROTNE UŻYCIĘ ODCZYNNIKÓW DO AMPLIFIKACJI

Opcjonalnie możliwe jest wydłużenie czasu użycia odczynników do amplifikacji, co umożliwia 2-krotne użycie opakowań odczynników do amplifikacji i kontroli IC. Opakowania odczynników do amplifikacji zawierające gotową mieszaninę master mix mogą być przechowywane do powtórnego użycia przez maksymalnie 14 dni w temp. –10 °C lub niższej, zamknięte przy użyciu korków i bez dostępu światła. Kontrola wewnętrzna (IC) zamknięta przy użyciu korka może być przechowywana do powtórnego użycia w temp. –10 °C lub niższej przez maksymalnie 14 dni. Drugie użycie powinno nastąpić przed upływem daty ważności odczynnika. Opis tej funkcji znajduje się w Załączniku 1 do niniejszej instrukcji używania.

W treści niniejszej instrukcji używania pojęcia „nowe opakowania odczynników do amplifikacji” oraz „nowe kontrole IC” oznaczają nieużywane jeszcze opakowania odczynników i kontrole IC (tj. pierwsze użycie). Opakowania odczynników do amplifikacji, które zostały już raz użyte i zawierają gotową mieszaninę master mix, będą określane jako „niepełne opakowania odczynników do amplifikacji”. Fiolki z kontrolą IC, które zostały już raz użyte, będą określane jako „niepełne fiolki IC”.

ZAPOBIEGANIE KONTAMINACJI KWASAMI NUKLEINOWYMI

Patrz instrukcja używania testu Abbott RealTime HCV (nr kat. 4J86).

ODCZYNNIKI

Patrz instrukcja używania testu Abbott RealTime HCV (nr kat. 4J86).

OSTRZEŻENIA I ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

IVD

Do diagnostyki in vitro

Test Abbott RealTime HCV do analizy DBS nie jest przeznaczony do stosowania jako badanie przesiewowe krwi, osocza, surowicy czy tkanek dawców w kierunku HCV. Nie należy go również stosować jako testu diagnostycznego do potwierdzenia zakażenia HCV.

ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

Patrz instrukcja używania testu Abbott RealTime HCV (nr kat. 4J86).

Test Abbott RealTime HCV do analizy DBS nadaje się wyłącznie do zastosowania z aparatami Abbott m2000sp i Abbott m2000rt.

SPECJALNE ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

Środki ostrożności przy pracy z próbkami DBS

Test Abbott RealTime HCV do analizy DBS jest przeznaczony wyłącznie do analizy próbek krwi pełnej albo próbek DBS opracowywanych i przechowywanych w sposób opisany w rozdziale „POBIERANIE, PRZECHOWYWANIE I TRANSPORT PRÓBEK DO LABORATORIUM”.

Patrz instrukcja używania testu Abbott RealTime HCV (nr kat. 4J86).

Środki ostrożności przy pracy z próbkami DBS:

- Przed umieszczeniem kart testowych z DBS w torebce z pochłaniaczem wilgoci muszą one całkowicie wyschnąć. Nieprawidłowe nałożenie kropli krwi, wysuszenie, przechowywanie albo przetwarzanie próbki DBS może prowadzić do uzyskania niedokładnych wyników testu.
- Aby uniknąć zanieczyszczenia w wyniku efektu przeniesienia, w trakcie wytłaczania kropli z perforowanej karty testowej zawierającej próbkę DBS należy do każdej próbki DBS używać nowej końcówki pipety. W przypadku korzystania z nieperforowanych kart testowych z DBS narzędzie użyte do wycięcia kropli musi zostać odfekowane przed oraz po zetknięciu się z próbką DBS.

Obszary robocze

W przypadku stosowania aparatu Abbott m2000sp i Abbott m2000rt zaleca się stosowanie tylko dwóch wydzielonych obszarów: Obszaru przygotowywania próbek oraz Obszaru amplifikacji.

Patrz instrukcja używania testu Abbott RealTime HCV (nr kat. 4J86).

Zapobieganie powstawaniu aerozoli

Patrz instrukcja używania testu Abbott RealTime HCV (nr kat. 4J86).

Kontaminacja i inhibicja

Patrz instrukcja używania testu Abbott RealTime HCV (nr kat. 4J86).

Kontaminacja zewnętrznym produktem amplifikacji zawierającym dU

W laboratoriach, które wykonują albo w przeszłości wykonywały testy obejmujące amplifikację HCV oraz dalszą obróbkę zamplifikowanego produktu po PCR, może dojść do kontaminacji produktem amplifikacji zawierającym dU. Kontaminacja ta może skutkować uzyskaniem niedokładnych wyników testu Abbott RealTime HCV do analizy DBS. Patrz rozdział „Monitorowanie laboratorium pod kątem obecności kontaminacji” w instrukcji używania testu Abbott RealTime HCV (nr kat. 4J86). W przypadku trwałej reaktywności kontroli ujemnych albo prawdopodobnego zanieczyszczenia produktem amplifikacji HCV zawierającym dU zaleca się, aby w przypadku niepowodzenia odfekowania laboratorium zastosowano procedurę kontroli kontaminacji z użyciem uracylo-N-glikozyazy (UNG).

ZASADY PRZECHOWYWANIA

Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit (nr kat. 4J86-90)



- Nowe i niepełne opakowania odczynników do amplifikacji Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Pack oraz fiolki zawierające kontrolę wewnętrzną (IC) muszą być przechowywane w temp. –10 °C lub niższej. Należy zachować ostrożność, aby nie dopuścić do bezpośredniego kontaktu opakowania odczynników do amplifikacji Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Pack będącego w użyciu z próbkami, kalibratorami i kontrolami.
- Po pierwszym użyciu niepełne opakowania odczynników do amplifikacji i kontrola IC muszą być przechowywane w temp. –10 °C lub niższej, w zamkniętych za pomocą korka opakowaniach, w pozycji pionowej, bez dostępu światła. Niepełne opakowania odczynników do amplifikacji zawierające gotową mieszaninę master mix, które przechowywane są w opisany sposób, mogą zostać użyte po raz drugi w ciągu 14 dni od pierwszego użycia. Kontrola IC może również zostać użyta po raz drugi w ciągu 14 dni po rozmrożeniu, jeżeli była przechowywana zamknięta za pomocą korka w temp. –10 °C lub niższej. Po drugim użyciu niepełne opakowania odczynników do amplifikacji oraz kontrolę IC należy wyrzucić. Drugie użycie powinno nastąpić przed upływem daty ważności odczynnika.

Abbott RealTime HCV Control Kit (nr kat. 4J86-80)



- Kontrole ujemne Abbott RealTime HCV Negative Control oraz kontrole dodatnie Abbott RealTime HCV Positive Control muszą być przechowywane w temp. –10 °C lub niższej.

Abbott RealTime HCV Calibrator Kit (nr kat. 4J86-70)



- Kalibrator Abbott RealTime HCV Calibrator A oraz kalibrator Abbott RealTime HCV Calibrator B muszą być przechowywane w temp. –10 °C lub niższej.

WARUNKI TRANSPORTU

Patrz instrukcja używania testu Abbott RealTime HCV (nr kat. 4J86).

CECHY WSKAZUJĄCE NA NIESTABILNOŚĆ LUB ROZKŁAD ODCZYNNIKÓW

Patrz instrukcja używania testu Abbott RealTime HCV (nr kat. 4J86).

PROCEDURA DOTYCZĄCA APARATU

Przed rozpoczęciem wykonywania testu w aparatach Abbott m2000sp oraz Abbott m2000rt należy zainstalować plik aplikacyjny Abbott RealTime HCV do analizy DBS z płyty „Abbott RealTime HCV m2000 ROW System Combined Application CD-ROM” (nr kat. 01L69-040 lub wyższy). Szczegółowe informacje dotyczące instalacji plików aplikacyjnych, patrz Instrukcja obsługi Abbott m2000sp oraz Abbott m2000rt, rozdział „Procedury operacyjne”.

POBIERANIE, PRZECHOWYWANIE I TRANSPORT PRÓBEK DO LABORATORIUM

Pobieranie i przechowywanie próbek

- Próbki DBS należy pobrać z nakłucia palca albo wykorzystać krew pełną z EDTA. W trakcie przechowywania i transportu krwi pełnej z EDTA należy utrzymywać kontrolowaną temperaturę (2 °C

- do 8 °C przez maksymalnie 48 godzin albo temperatura otoczenia nieprzekraczająca 30 °C przez maksymalnie 24 godziny).
- Przed nakropieniem krew pełną z EDTA pobraną do próbek dokładnie wymieszać poprzez delikatne odwracanie probówki do góry dnem. Nakropić krew na okręgi o średnicy 12 milimetrów na karcie testowej wykonanej z bibuły typu Ahlstrom-Munktel TFN albo Whatman 903, tak aby okręgi były całkowicie wypełnione. Do pełnego pokrycia okręgów zaleca się użycie co najmniej 70 µL krwi (około 3 do 5 kropli krwi) w każdym z okręgów.
 - Kartę pozostawić do wyschnięcia w temperaturze otoczenia przez co najmniej 3 godziny. Każdą kartę umieścić w zamykanej torebce zawierającej pochłaniacz wilgoci (co najmniej 2 do 3 torebek pochłaniacza wilgoci).
 - Przed przeprowadzeniem badania karty z próbkami DBS mogą być przechowywane w warunkach określonych w tabeli poniżej.

Przechowywanie kart zawierających próbki DBS

Warunek	Maksymalny czas przechowywania
2 °C do 30 °C przy wilgotności otoczenia	18 tygodni
≤37 °C przy wilgotności otoczenia	12 tygodni
≤45 °C przy wilgotności otoczenia	8 tygodni
≤38 °C przy wysokiej wilgotności (≤85%)	4 tygodnie
-25 °C do -15 °C przy wilgotności otoczenia	18 tygodni
-70 °C lub niższa przy wilgotności otoczenia	18 tygodni

Transport próbek

Próbki transportować w zalecanych warunkach przechowywania dotyczących temperatury i czasu wskazanych w rozdziale „**Pobieranie i przechowywanie próbek**” powyżej. W przypadku wysyłek krajowych i zagranicznych próbki powinny być zapakowane i oznakowane zgodnie z odpowiednimi miejscowymi i międzynarodowymi przepisami dotyczącymi transportu próbek klinicznych, diagnostycznych lub biologicznych.

PROCEDURA TESTU ABBOTT REALTIME HCV DO ANALIZY DBS

Materiały wymagane, lecz niedostarczane

- Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit (nr kat. 4J86-90)
- Abbott RealTime HCV Calibrator Kit (nr kat. 4J86-70)
- Abbott RealTime HCV Control Kit (nr kat. 4J86-80)

Dla Obszaru przygotowywania próbek aparatu Abbott m2000sp

- Abbott mSample Preparation System DBS Buffer Kit (nr kat. 09N02-001)
- Aparat Abbott m2000sp (nr kat. 09K14-01, 09K14-02)
- Abbott mSample Preparation System (4 × 24 Preps) (nr kat. 04J70-24)
- Precyzyjne pipety skalibrowane na objętości 20 do 1000 µL (precyzyjne pipety skalibrowane na objętości <20 µL mogą być wymagane w przypadku użycia UNG).
- Końcówki z filtrem aerosolowym do pipet precyzyjnych o poj. 20 do 1000 µL (końcówki z filtrem aerosolowym do pipet precyzyjnych o poj. <20 µL mogą być wymagane w przypadku użycia UNG).
- Worteks
- Master Mix Tube (nr kat. 04J71-80)
- Abbott 96-Deep-Well Plate (nr kat. 04J71-30)
- 5 mL Reaction Vessels (nr kat. 04J71-20)
- 200 mL Reagent Vessels (nr kat. 04J71-60)
- Abbott 96-Well Optical Reaction Plate (nr kat. 04J71-70)
- Abbott Optical Adhesive Covers (nr kat. 04J71-75)
- Abbott Adhesive Cover Applicators (nr kat. 9K32-01)
- Abbott Splash-Free Support Base (nr kat. 9K31-01)
- Abbott RealTime HCV m2000 ROW System Combined Application CD-ROM (nr kat. 01L69-040 lub wyższy)
- m2000 System 13mm DBS-PoS Set (nr kat. 09N03-001)
- 1.4 mL Micro Vial 15mm Caps (nr kat. 03N20-01), opcjonalnie
- Uracil N-Glycosylase (UNG)^a (nr kat. 6L87-02)

^a W razie potrzeby, zgodnie z rozdziałem „**Kontaminacja zewnętrznym produktem amplifikacji zawierającym dU**” w niniejszej instrukcji używania.

Dla Obszaru amplifikacyjnego aparatu Abbott m2000rt

- Aparat Abbott m2000rt (nr kat. 9K15-01)
- Abbott RealTime HCV m2000 ROW System Combined Application CD-ROM (nr kat. 01L69-040 lub wyższy)
- Abbott m2000rt Optical Calibration Kit (nr kat. 04J71-93)

Inne materiały

- Łoża laminarna atestowana do pracy z materiałem zakaźnym
- Szczelnie zamykane woreczki na karty z próbkami DBS
- Pochłaniacz wilgoci do kart z próbkami DBS
- Karty testowe z bibuły filtracyjnej typu Ahlstrom-Munktel TFN lub Whatman 903
- Szczelnie zamykane torebki plastikowe do wyrzucania 96-dółkowych płytek reakcyjnych
- Woda niezawierająca RNaz (Eppendorf albo odpowiednik)^b
- Probówki mikrowirówkowe o poj. 1.7 mL klasy biologii molekularnej (Dot Scientific, Inc. albo odpowiednik)^b
- Wymazówki z wacikiem (Puritan albo odpowiednik)^b

^bUwaga: Te 3 elementy stosowane są w procedurze Monitorowania laboratorium pod kątem obecności kontaminacji. Patrz rozdział „**PROCEDURY KONTROLI JAKOŚCI**” w instrukcji używania testu Abbott RealTime HCV (nr kat. 4J86).

Środki ostrożności dotyczące procedury testu

- Przed przystąpieniem do obróbki próbek uważnie zapoznać się z treścią niniejszej instrukcji używania.
- Zgodnie z niniejszą instrukcją używania, odczynniki do amplifikacji oraz kontrola wewnętrzna mogą zostać użyte maksymalnie 2 razy. Fiolki z kalibratorami, kontrolą ujemną, kontrolą dodatnią o niskim stężeniu oraz kontrolą dodatnią o wysokim stężeniu Abbott RealTime HCV przeznaczone są wyłącznie do jednorazowego użytku i po użyciu należy je wyrzucić.
- Podczas pipetowania próbek lub kontroli IC należy używać końcówek do pipet zawierających filtr aerosolowy albo pipet jednorazowego użytku. Aby zapobiec zanieczyszczeniu korpusu pipety, w trakcie pipetowania należy unikać dotykania wnętrza probówki lub pojemnika z próbką korpusem pipety. Zaleca się używanie wydłużonych końcówek z filtrem aerosolowym.
- Procedury monitorowania obecności produktu amplifikacji opisano w rozdziale „**PROCEDURY KONTROLI JAKOŚCI**”.
- W celu zminimalizowania ryzyka kontaminacji kwasami nukleinowymi wszelkie miejsca, w których doszło do rozlania próbek, wyczyścić i zdezynfekować przy użyciu prątkobójczego środka dezynfekcyjnego, takiego jak 1.0% podchloryn sodu, albo innego właściwego środka dezynfekującego.
- Kalibratory Abbott RealTime HCV Calibrators i kontrole Abbott RealTime HCV Controls należy przygotowywać równolegle z próbkami, które będą badane. Dla zapewnienia prawidłowego działania testu Abbott RealTime HCV konieczne jest stosowanie kontroli Abbott RealTime HCV Controls i kalibratorów Abbott RealTime HCV Calibrators. Patrz rozdział „**PROCEDURY KONTROLI JAKOŚCI**”.
- Protokół dodawania mieszaniny master mix (Master Mix Addition) w aparacie Abbott m2000sp należy rozpocząć w ciągu 1 godziny od zakończenia przygotowania próbek.
- Jeżeli protokół dodawania mieszaniny master mix w aparacie Abbott m2000sp zostanie przerwany, należy wyrzucić odczynniki do amplifikacji, które były używane po raz drugi. Nowe opakowania odczynników używane po raz pierwszy można zachować i przechowywać w sposób opisany w niniejszej instrukcji do czasu ich ponownego użycia.
- Protokół Abbott m2000rt rozpocząć w ciągu 50 minut od rozpoczęcia protokołu Master Mix Addition. Jeżeli cykl roboczy aparatu Abbott m2000rt nie zostanie rozpoczęty w ciągu 50 minut albo został wstrzymany lub przerwany, płytkę Abbott 96-Well Optical Reaction Plate wraz z rękawiczkami używanymi podczas pracy z płytką umieścić w szczelnie zamykanym plastikowym woreczku i wyrzucić zgodnie z Instrukcją obsługi Abbott m2000rt.

WAŻNE: Odczynniki do amplifikacji, które mają zostać użyte po raz drugi, muszą być przechowywane w temp. –10 °C lub niższej w ciągu 50 minut od rozpoczęcia protokołu dodawania mieszaniny master mix.

PROTOKÓŁ BADANIA: ANALIZA PRÓBEK DBS W APARATACH ABBOTT m2000sp I ABBOTT m2000rt

Szczegółowy opis przeprowadzania protokołów w aparacie Abbott m2000sp oraz Abbott m2000rt, patrz Instrukcja obsługi Abbott m2000sp i Abbott m2000rt, rozdział „Procedury operacyjne”. Protokół DBS wymaga oprogramowania aparatu Abbott m2000sp w wersji 6.0 lub wyższej. Należy postępować zgodnie z Instrukcją obsługi Abbott m2000sp (nr kat. 09K20, wersja 6 lub wyższa).

W każdym cyklu roboczym można oznaczyć łącznie 96 próbek.

W każdym cyklu musi znaleźć się kontrola ujemna Abbott RealTime HCV Negative Control, kontrola dodatnia o niskim stężeniu Abbott RealTime HCV Low Positive Control i kontrola dodatnia o wysokim stężeniu Abbott RealTime HCV High Positive Control, dlatego też w ramach jednego cyklu roboczego możliwa jest analiza maksymalnie 93 próbek DBS, jeżeli w oznaczeniu nie uwzględniono kalibratorów. Kalibratory i kontrole przetwarzają bezpośrednio jako próbki płynne; etapy od 1. do 5. dotyczą wyłącznie próbek DBS. Nie badać próbek osocza ani surowicy w tym samym cyklu roboczym, w którym zastosowany jest protokół DBS. Dla każdej próbki DBS użyć jednej próbówki Abbott Master Mix Tube do całej procedury przetwarzania próbki. Przez cały czas przetwarzania próbki DBS muszą być oznakowane.

- Do próbówki Abbott Master Mix Tube dodać 1.3 mL buforu mDBS z zestawu Abbott mSample Preparation system DBS Buffer Kit (nr kat. 09N02-001).

UWAGA: W tym kroku nie należy używać buforu mLysis Buffer ani żadnego innego odczynnika.

- Przytrzymać perforowaną kartę z DSB nad próbówką Abbott Master Mix Tube.
- Wypchnąć okrąg z próbką DBS z karty przy użyciu czystej końcówki pipety, umieszczając w każdej próbówce Abbott Master Mix Tube po jednej próbce DBS. Każda próbka DBS powinna mieć około 12 mm średnicy.

UWAGA: ABY UNIKAĆ ZANIECZYSZCZENIA KRZYŻOWEGO, DO KAŻDEJ PRÓBKII DBS UŻYWAĆ NOWEJ KOŃCÓWKI PIKETY.

Alternatywnie, w przypadku bibuły bez perforacji, wyciąć całą próbkę DBS (o średnicy około 12 mm) dla każdej próbki i przenieść ją do próbówki Abbott Master Mix Tube.

UWAGA: Przy wycinaniu próbek DBS unikać bezpośredniego kontaktu powierzchni tnącej z próbką. Jeśli to konieczne, pomiędzy kolejnymi próbkami zdezynfekować narzędzie użyte do wycinania DBS, stosując zasady dobrej praktyki laboratoryjnej.

- Okrąg z próbką DSB musi być w pełni zanurzony w buforze mDBS Buffer. Można to sprawdzić poprzez opukanie próbki lub przy wykorzystaniu końcówki pipety, wypychając przy jej pomocy próbkę DBS do buforu.

UWAGA: Jeżeli do zanurzenia próbki DBS w buforze użyto końcówki pipety, należy się upewnić, że objętość buforu nie zmniejszyła się na skutek zatrzymania płynu w końcówce i/lub absorpcji buforu przez filtr znajdujący się na końcówce.

- Próbki z próbką ręcznie wstrząsnąć lub wymieszać ruchem kołowym. Próbek nie mieszać przy użyciu worteksu. Inkubować przez 30 minut (± 2 minuty) w temperaturze otoczenia.
- W międzyczasie rozmrozić kontrole oznaczenia i kontrolę wewnętrzną (IC) w temp. 15°C do 30°C lub 2°C do 8°C. Kalibratory rozmrozić w temp. 15°C do 30°C lub 2°C do 8°C tylko w przypadku, gdy przeprowadzany jest cykl kalibracji.

UWAGA: Po rozmrożeniu kontrole oznaczenia, kontrola IC oraz kalibratory mogą być przechowywane w temp. 2°C do 8°C przez maksymalnie 24 godziny przed użyciem.

- Przed użyciem każdy kalibrator oznaczenia oraz każdą kontrolę 3-krotnie wytrząsnąć na worteksie przez 2 do 3 sekund. Zawartość każdej fiołki musi znajdować się na dnie; można to zapewnić, stukając fiołkami o blat w celu zebrania płynu na dnie fiołki. W fiołce nie mogą się wytworzyć pęcherzyki ani piana, a jeśli tak się stało, usunąć je przy pomocy sterylnej końcówki pipety, używając nowej końcówki do każdej z fiołek.
- Odczynniki do amplifikacji rozmrozić w temp. 15°C do 30°C lub 2°C do 8°C i przechowywać w temp. 2°C do 8°C do momentu rozpoczęcia procedury przygotowywania mieszaniny master mix do amplifikacji.
- Wybrać nowe i/lub niepełne opakowania odczynników do amplifikacji do użycia w danym cyklu roboczym. Informacje dotyczące zarządzania zapasami opakowań zawierających odczynniki do amplifikacji, patrz Instrukcja obsługi Abbott m2000sp

(nr kat. 09K20, wersja 6 lub wyższa), rozdział „Procedury operacyjne”. Opakowania odczynników do amplifikacji muszą mieć ten sam numer partii.

Nowe odczynniki do amplifikacji rozmrozić w temp. 15°C do 30°C lub 2°C do 8°C i przechowywać w temp. 2°C do 8°C do momentu rozpoczęcia procedury przygotowywania mieszaniny master mix do amplifikacji.

UWAGA: Po rozmrożeniu nowe odczynniki do amplifikacji mogą być przechowywane w temp. 2°C do 8°C przez maksymalnie 24 godziny, jeżeli nie zostaną natychmiast użyte. Niepełne opakowania odczynników do amplifikacji, które są używane po raz drugi, NIE powinny być przechowywane w temp. 2°C do 8°C przed użyciem. Do momentu, w którym należy dodać je do mieszaniny master mix, powinny być przechowywane w temp. –10°C lub niższej. Po wyjęciu z zamrażarki łączny czas przechowywania w temperaturze pokojowej nie powinien przekroczyć 25 minut, wliczając czas, gdy opakowania zostały wyjęte z miejsca przechowywania, ale nie zostały wykorzystane. Jeżeli czas ten przekroczy 25 minut, niepełne opakowania odczynników do amplifikacji należy wyrzucić.

W poniższej tabeli przedstawiono wymaganą liczbę fiołek odczynników do przygotowania próbek oraz kontroli wewnętrznej w zależności od liczby reakcji.

Wymagania dotyczące odczynników do przygotowania próbek i kontroli wewnętrznej

Odczynnik	od 1 do 24 reakcji	od 25 do 48 reakcji	od 49 do 72 reakcji	od 73 do 96 reakcji
mMicroparticles	1 butelka	2 butelki	2 butelki	2 butelki
mLysis	1 butelka	2 butelki	3 butelki	4 butelki
mWash 1	1 butelka	2 butelki	3 butelki	4 butelki
mWash 2	1 butelka	2 butelki	3 butelki	4 butelki
mElution Buffer	1 butelka	2 butelki	3 butelki	4 butelki
Kontrola wewnętrzna ^a	1 nowa fiołka albo 1 niepełna fiołka	1 nowa fiołka albo 2 niepełne fiołki	2 nowe fiołki albo 3 niepełne fiołki	2 nowe fiołki albo 4 niepełne fiołki

^a Można jednocześnie wykorzystać nowe i niepełne fiołki kontroli wewnętrznej.

- Delikatnie odwrócić do góry dnem buteleczki Abbott mSample Preparation, aby uzyskać jednolity roztwór. W przypadku stwierdzenia obecności kryształów w którejkolwiek butelce z odczynnikiem po jej otwarciu, pozostawić odczynnik do zrównoważenia w temperaturze pokojowej do momentu zniknięcia kryształów. Nie używać odczynników do czasu rozpuszczenia kryształów.
- Przed użyciem każdą kontrolę IC 3-krotnie wytrząsnąć na worteksie przez 2 do 3 sekund.
- Za pomocą skalibrowanej pipety precyzyjnej **PRZEZNACZONEJ WYŁĄCZNIE DO KONTROLI WEWNĘTRZNYCH** dodać 500 µL kontroli IC do każdej butelki buforu mLysis Buffer. Wymieszać, delikatnie odwracając pojemnik 5 do 10 razy, aby zminimalizować spienienie. Niepełne fiołki IC można zamknąć ponownie za pomocą korka i przechowywać w temp. –10°C lub niższej do czasu drugiego użycia.
- Umieścić kontrole dodatnie o niskim i wysokim stężeniu, kontrolę ujemną oraz, o ile dotyczy, kalibratory w statywach na próbki aparatu Abbott m2000sp.
- Po zakończeniu inkubacji ręcznie potrząsnąć lub zamieszać ruchem kołowym próbki z próbkami DBS, a następnie umieścić je w statywach na próbki aparatu Abbott m2000sp.
- UWAGA: Upewnić się, że statywy na próbki aparatu Abbott m2000sp zostały skalibrowane specjalnie do celów procedury Abbott RealTime HCV do analizy DBS.**
- Delikatnie załadować statywy na próbki, unikając rozchlapania. W razie używania kodów kreskowych na etykietach próbek muszą one być odpowiednio skierowane na potrzeby skanowania. Upewnić się, że każda próbówka jest stabilnie umocowana w statywie na próbki w taki sposób, że dno próbki dotyka wewnętrznego dna statywu.
- Umieścić napełnione statywy na próbki w aparacie Abbott m2000sp w kolejnych pozycjach na statywy w taki sposób, aby pierwszy statyw znajdował się najdalej po prawej stronie blatu roboczego, a każdy dodatkowy statyw – w kolejnych pozycjach na lewo od pierwszego statywu.

17. Umieścić naczynka reakcyjne 5 mL Reaction Vessel w nośniku podsystemu 1 mL aparatu Abbott m2000sp.
18. Umieścić odczynniki Abbott mSample Preparation System i płytkę Abbott 96 Deep-Well Plate na blacie roboczym aparatu Abbott m2000sp zgodnie z opisem w Instrukcji obsługi Abbott m2000sp, rozdział „Procedury operacyjne”.
19. Na ekranie „Protocol” wybrać plik aplikacyjny HCV RNA DBS. Rozpocząć protokół ekstrakcji próbki zgodnie z opisem w Instrukcji obsługi Abbott m2000sp, rozdział „Procedury operacyjne”.
20. Wprowadzić wartości swoiste dla danej partii kalibratorów (wymagane, jeżeli nie zapisano krzywej kalibracyjnej w aparacie Abbott m2000rt) i kontroli w polach „Calibrator” i „Control” na ekranie „Sample Extraction: Worktable Setup”. Wartości swoiste dla danej partii są podane w każdej karcie zestawu kalibratorów i kontroli Abbott RealTime HCV Calibrator and Control Kit Card.

21. Protokół dodania mieszaniny master mix (Master Mix Addition) w aparacie Abbott m2000sp (krok 28.) rozpocząć w ciągu 1 godziny od zakończenia przygotowywania próbek.

UWAGA: Przed przystąpieniem do pracy z odczynnikami do amplifikacji należy zmienić rękawiczki.

22. Po zakończeniu przygotowywania próbek umieścić odczynniki do amplifikacji i próbkę z mieszaniną master mix (w razie potrzeby) na blacie roboczym aparatu Abbott m2000sp. W poniższej tabeli przedstawiono wymaganą liczbę opakowań odczynników do amplifikacji w zależności od liczby reakcji. W przypadku używania tylko 1 opakowania odczynników do amplifikacji nie jest wymagana próbka z mieszaniną master mix.

Wymogi dotyczące opakowań odczynników do amplifikacji ^a			
1 do 24 reakcji	25 do 48 reakcji	49 do 72 reakcji	73 do 96 reakcji
1 nowe opakowanie; maksymalnie 4 niepełne opakowania	2 nowe opakowania; maksymalnie 4 niepełne opakowania	3 nowe opakowania; maksymalnie 4 niepełne opakowania	4 nowe albo niepełne opakowania

^a Aby określić maksymalną liczbę reakcji, które można przeprowadzić przy użyciu wybranych niepełnych opakowań, należy postępować zgodnie z instrukcjami dotyczącymi zarządzania zapasami w Instrukcji obsługi Abbott m2000sp (nr kat. 09K20, wersja 6 lub wyższa).

- Niepełnych opakowań odczynników do amplifikacji można używać wyłącznie w tym samym aparacie Abbott m2000sp, którego używano do pierwszego przygotowania opakowania odczynnika. Użycie opakowania odczynników do amplifikacji po raz drugi w innym aparacie spowoduje błąd, co może opóźnić przeprowadzenie cyklu roboczego.
- Można używać łącznie niepełnych i nowych opakowań odczynników do amplifikacji.

WAŻNE: Niepełne opakowania odczynników do amplifikacji przechowywać w temp. – 10 °C lub niższej do momentu bezpośrednio przed drugim użyciem. Przed umieszczeniem niepełnych opakowań na blacie roboczym aparatu Abbott m2000sp upewnić się, że mieszanina master mix została rozmrożona. Niepełne opakowania odczynników do amplifikacji używane po raz drugi należy zużyć w ciągu 25 minut od wyjęcia z miejsca przechowywania w temp. – 10 °C lub niższej lub wyrzucić. Dotyczy to łącznego czasu ekspozycji na temperaturę pokojową, w tym czasu, w którym opakowania są wyjęte z miejsca przechowywania, ale nie są używane.

23. Przed otwarciem odczynników do amplifikacji upewnić się, że zawartość nowych opakowań odczynników do amplifikacji znajduje się na dnie fiolek, stukając fiolkami w pozycji pionowej o blat 5 do 10 razy.
 - Nie stukać niepełnymi opakowaniami odczynników do amplifikacji używanymi po raz drugi. Stukanie może spowodować utratę objętości mieszaniny master mix w korku.
24. Zdjąć korki. Jeżeli nowe opakowanie odczynników do amplifikacji będzie przechowywane do użycia po raz drugi, konieczne będzie ponowne zamknięcie fiolek za pomocą korków do celów przechowywania. Jeżeli planowane jest ponowne użycie oryginalnych korków do ponownego zamknięcia fiolek z odczynnikami, korki te należy zachować. Jeżeli planowane jest użycie nowych korków do ponownego zamknięcia fiolek z odczynnikami, oryginalne korki można wyrzucić.

W przypadku stosowania uracylo-N-glikozylazy (UNG) do celów kontroli zanieczyszczenia postępować zgodnie z poniższymi instrukcjami.

25. Za pomocą PIPETY PRZEZNACZONEJ WYŁĄCZNIE DO ODCZYNNIKÓW dodać określoną objętość UNG o stężeniu 1 U/μL (nr kat. 6L87-02) do fiołki z odczynnikiem w pozycji nr 3 nowego i niepełnego opakowania odczynników do amplifikacji. Wymieszać wszystkie niepełne opakowania ręcznie przez delikatne pipetowanie góra-dół. Nie mieszać nowych opakowań.

- Określić objętość UNG, jaką należy dodać do fiołki z odczynnikiem w pozycji nr 3 nowego i niepełnego opakowania odczynników do amplifikacji przy użyciu poniższej tabeli. Fiolka z odczynnikiem w pozycji nr 3 nowego opakowania odczynników zawiera enzym w postaci termostabilnej polimerazy rTth. Fiolka z odczynnikiem w pozycji nr 3 niepełnego opakowania odczynników zawiera mieszaninę master mix.

Objętość UNG, jaką należy dodać do fiołki z odczynnikiem w pozycji nr 3 każdego opakowania odczynników do amplifikacji	
Liczba testów pozostałych w opakowaniu	Objętość UNG (μL), jaką należy dodać
1	5
2	6
3	7
4	8
5	9
6	10
7	11
8	12
9	13
10	13
11	14
12	15
13	16
14	17
15	18
16	19
17	20
18	21
19	22
20	23
21	24
22	25
23	26
24 (nowe opakowanie)	27

UWAGA: Objętość UNG dodawana do fiołki z odczynnikiem w pozycji nr 3 zależy od liczby testów pozostałych w opakowaniu odczynnika, a nie od liczby oznaczanych próbek. Instrukcje dotyczące zarządzania zapasami opakowań odczynników do amplifikacji i sposobu określania liczby testów pozostałych w opakowaniu odczynników, patrz Instrukcja obsługi Abbott m2000sp.

26. Niepełne opakowania odczynników do amplifikacji umieszcza się na blacie roboczym aparatu Abbott m2000sp na lewo od nowych opakowań odczynników do amplifikacji.
27. Opakowania odczynników do amplifikacji muszą być dobrze osadzone w aparacie.
28. Wybrać właściwą płytkę głębokodółkową (deep-well) odpowiadającą ekstrakcji na etapie przygotowania próbki. Zainicjalizować protokół dodawania mieszaniny master mix (Master Mix Addition) w aparacie Abbott m2000sp. Postępować zgodnie z rozdziałem „Procedury operacyjne” w Instrukcji obsługi Abbott m2000sp.

UWAGA: Osoba przeprowadzająca badanie nie powinna ręcznie napełniać żadnych pustych/nienapełnionych zagłębień płytki Abbott 96-Well Optical Reaction Plate.

- Po zakończeniu ekstrakcji próbki aparat Abbott m2000sp automatycznie napełnia puste zagłębienia płytki Abbott 96-Well Optical Reaction Plate buforem mElution Buffer w przypadku,

gdy w cyklu roboczym obróbce poddawanych jest więcej niż 48 próbek. Płytkę nie jest napełniana w przypadku cykli roboczych obejmujących 48 albo mniej próbek.

- W przypadku pojawienia się komunikatu aparatu nośnik na odczynnik nr 2 powinien pozostać na miejscu i zawierać przynajmniej naczynko odczynnikowe na bufor *mElution Buffer* (nośnik na odczynniki nr 2, położenie nr 6). Jeśli naczynko to zostanie wyjęte, wstawić nowe naczynko odczynnikowe opatrzone etykietą bufora *mElution Buffer* do nośnika na odczynniki nr 2, położenie nr 6. Do naczynka odczynnikowego dodany zostanie płyn systemowy, który zostanie również wykorzystany do napełnienia pustych zagłębień. Po zakończeniu tego procesu aparat rozpocznie dodawanie mieszaniny master mix.

UWAGA: Instrukcje aparatu dotyczące opcji automatycznego napełniania płytki podano w Instrukcji obsługi Abbott *m2000sp* (nr kat. 09K20, wersja 6 lub wyższa), rozdział 5, „Procedury operacyjne, Ekstrakcja próbki – tryb zamknięty”.

- Protokół Abbott *m2000rt* (krok 33.) musi rozpocząć się w ciągu 50 minut od rozpoczęcia protokołu dodawania mieszaniny master mix (Master Mix Addition) (krok 28.).

UWAGA: W przypadku przerwania cyklu roboczego z jakiegokolwiek powodu po wykonaniu kroku 28. należy zastosować nową płytkę Abbott 96-Well Optical Reaction Plate, jeśli protokół dodawania mieszaniny master mix (Master Mix Addition) w aparacie Abbott *m2000sp* (krok 28.) będzie powtórzony.

29. Włączyć i uruchomić aparat Abbott *m2000rt* w Obszarze amplifikacyjnym.

UWAGA: Aparat Abbott *m2000rt* potrzebuje 15 minut na rozgrzanie.

UWAGA: Przed powrotem do Obszaru przygotowywania próbek należy zdjąć rękawiczki.

30. Zabezpieczyć folią płytkę Abbott 96-Well Optical Reaction Plate po zakończeniu przez aparat Abbott *m2000sp* procedury dodawania próbek oraz mieszaniny master mix zgodnie z rozdziałem „Procedury operacyjne” w Instrukcji obsługi Abbott *m2000sp*.
31. Umieścić zabezpieczoną folią optyczną płytkę reakcyjną na podstawce Abbott Splash-Free Support Base, aby przenieść ją do aparatu Abbott *m2000rt*.

W przypadku stosowania uracylo-N-glikozylazy (UNG) postępować zgodnie z poniższymi instrukcjami:

32. Przenieść zabezpieczoną folią optyczną płytkę na podstawkę Abbott Splash-Free Support Base i inkubować w temperaturze pokojowej (15 °C do 30 °C) przez 10 minut. Po inkubacji w temperaturze pokojowej przenieść płytkę Abbott 96-Well Optical Reaction Plate na podstawkę Abbott Splash-Free Support Base do aparatu Abbott *m2000rt*.
33. Umieścić płytkę Abbott 96-Well Optical Reaction Plate w aparacie Abbott *m2000rt*. Z ekranu „Protocol” wybrać plik aplikacyjny HCV RNA DBS. Zainicjować protokół zgodnie z rozdziałem „Procedury operacyjne” w Instrukcji obsługi Abbott *m2000rt*.

UWAGA: Zaleca się przeniesienie zleceń badań na płycie CD-ROM albo za pośrednictwem połączenia sieciowego z funkcjami eksportu i importu oprogramowania *m2000sp* oraz *m2000rt*. W przypadku ręcznego tworzenia zleceń badań w aparacie Abbott *m2000rt* wpisać identyfikatory (ID) próbek w odpowiednich miejscach na tacce PCR zgodnie ze schematem „Wells for Selected Plate” wyświetlanym w aparacie Abbott *m2000sp* na ekranie „PCR Plate Results”. Patrz rozdział 5 Instrukcji obsługi Abbott *m2000sp*.

34. Jeżeli przygotowane niepełne opakowanie odczynników do amplifikacji ma zostać użyte po raz drugi, zamknąć 3 fiołki odczynników stosowanymi wcześniej korkami albo nowymi korkami (nr kat. 3N20-01) i niezwłocznie umieścić odczynniki w temp. –10 °C lub niższej, w pozycji pionowej, bez dostępu światła. Wyrzucić wszelkie opakowania odczynników do amplifikacji, które zostały zużyte albo których użyto dwukrotnie.

WAŻNE: Odczynniki do amplifikacji, które mają zostać wykorzystane po raz drugi, muszą być przechowywane w temp. –10 °C lub niższej w ciągu 50 minut od rozpoczęcia protokołu dodawania mieszaniny master mix.

PROCEDURY KOŃCOWE

1. Zdjąć płytkę Abbott 96 Deep-Well Plate ze stołu roboczego i wyrzucić zgodnie z Instrukcją obsługi Abbott *m2000sp*.
2. Umieścić płytkę Abbott 96-Well Optical Reaction Plate i rękawiczki używane podczas pracy z płytką w szczelnie zamykanym woreczku plastikowym i wyrzucić zgodnie z Instrukcją obsługi Abbott *m2000rt*.
3. Przed następnym użyciem wyczyścić podstawkę Abbott Splash-Free Support Base zgodnie z Instrukcją obsługi Abbott *m2000rt*.

PROCEDURY KONTROLI JAKOŚCI

Kalibracja optyczna Abbott *m2000rt*

Patrz instrukcja używania testu Abbott RealTime HCV (nr kat. 4J86).

Kalibracja oznaczenia

Patrz instrukcja używania testu Abbott RealTime HCV (nr kat. 4J86).

W przypadku badania DBS aparatem Abbott *m2000sp* oraz Abbott *m2000rt*: Po zaakceptowaniu i zapisaniu kalibracji Abbott RealTime HCV może ona być stosowana przez 6 miesięcy. W tym czasie wszystkie kolejne próbki mogą być oznaczane bez dodatkowej kalibracji, chyba że:

- Zastosowany zostanie zestaw odczynników do amplifikacji Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit o nowym numerze partii
- Zastosowane zostaną odczynniki Abbott *mSample Preparation System* (4 × 24 Preps) o nowym numerze partii
- Zainstalowany zostanie nowy plik aplikacyjny badania Abbott RealTime HCV RNA DBS.

Wykrywanie inhibicji

Patrz instrukcja używania testu Abbott RealTime HCV (nr kat. 4J86).

Kontrole ujemne i dodatnie

Patrz instrukcja używania testu Abbott RealTime HCV (nr kat. 4J86).

Monitorowanie laboratorium pod kątem występowania zanieczyszczeń

Patrz instrukcja używania testu Abbott RealTime HCV (nr kat. 4J86).

WYNIKI BADANIA PRÓBEK DBS

Raportowany wynik stężenia próbki DBS uzyskany w oznaczeniu z użyciem protokołu DBS Abbott *m2000rt* odzwierciedla stężenie wirusa HCV w osoczu próbki krwi pełnej, z której uzyskano próbkę DBS. Aparat Abbott *m2000rt* automatycznie podaje wyniki na stacji roboczej aparatu Abbott *m2000rt*. Wyniki oznaczenia podawane są w jednostkach międzynarodowych IU/mL lub Log IU/mL.

Interpretacja wyników

Wynik	Interpretacja
Not detected (Nie wykryto)	Nie wykryto celu
<2.66 Log IU/mL ^a	Wykryto
2.66 do 8.00 Log IU/mL	
>8.00 Log IU/mL	> ULQ ^b

^a 462 IU/mL

^b ULQ (ang. upper limit of quantitation) = górna granica oznaczalności

OGRANICZENIA PROCEDURY

- **DO DIAGNOSTYKI IN VITRO**
- W celu uzyskania optymalnego działania tego testu konieczne jest właściwe pobieranie, przechowywanie oraz transport próbek do laboratorium (patrz rozdział „POBIERANIE, PRZECHOWYWANIE I TRANSPORT PRÓBEK DO LABORATORIUM” w niniejszej instrukcji używania).
- Próbkę krwi pełnej pobrane do próbek z EDTA mogą być stosowane do przygotowania próbek DBS badanych w teście Abbott RealTime HCV do analizy DBS. Zastosowanie innych antykoagulantów nie zostało zwalidowane pod kątem użycia z testem Abbott RealTime HCV do analizy DBS.
- Test Abbott RealTime HCV do analizy DBS może być przeprowadzany wyłącznie przez personel odpowiednio przeszkolony w zakresie procedur przygotowywania i wstępnej preparatyki DBS, przeprowadzania testów diagnostyki molekularnej i obsługi systemów Abbott *m2000*.
- Przestrzeganie procedur dotyczących użytkowania aparatów oraz przeprowadzania testów zmniejsza ryzyko kontaminacji produktem amplifikacji. Należy jednakże kontrolować zanieczyszczenie kalibratorów, kontroli dodatnich albo badanych próbek kwasami nukleinowymi zgodnie z zasadami dobrej praktyki laboratoryjnej oraz ściśle przestrzegać procedur opisanych w niniejszej instrukcji.

- Podobnie jak w przypadku każdego testu diagnostycznego, wyniki uzyskane w teście Abbott RealTime HCV do analizy DBS powinny być rozpatrywane w połączeniu z wynikami innych badań klinicznych i laboratoryjnych. Próbkę, dla której uzyskano wynik „Not Detected” (Nie wykryto), nie można uważać za ujemną pod względem obecności RNA wirusa HCV.
- Nieprawidłowe pobranie, wysuszenie, przechowywanie albo obchodzenie się z kartami testowymi DBS może prowadzić do uzyskania niedokładnych wyników testu.
- Dopuszczalne jest stosowanie kart testowych DBS z bibuły filtracyjnej typu Ahlstrom-Munktel TFN i Whatman 903. Inne karty testowe nie zostały zwalidowane pod kątem użycia z testem Abbott RealTime HCV.

SZCZEGÓŁOWA CHARAKTERYSTYKA DZIAŁANIA W PRZYPADKU PRÓBEK DBS

Granica wykrywalności (ang. Limit of Detection, LoD)

Wartość LoD testu Abbott RealTime HCV wynosi 462 IU/mL w przypadku próbek DBS. Wartość LoD wyznaczono, badając próbki DBS przygotowane z serią rozcieńczeń międzynarodowego wzorca RNA wirusa zapalenia wątroby typu C opracowanego przez Światową Organizację Zdrowia (WHO International Standard for Hepatitis C Virus RNA) w HCV-ujemnej krwi pełnej. Badanie poszczególnych stężeń RNA HCV przeprowadzono z użyciem 4 partii odczynników do amplifikacji w ciągu 3 dni. Wyniki reprezentatywne dla czułości analitycznej testu Abbott RealTime HCV do analizy DBS podano w Tabeli 1.

Tabela 1. Granica wykrywalności (LoD) testu Abbott RealTime HCV do analizy DBS

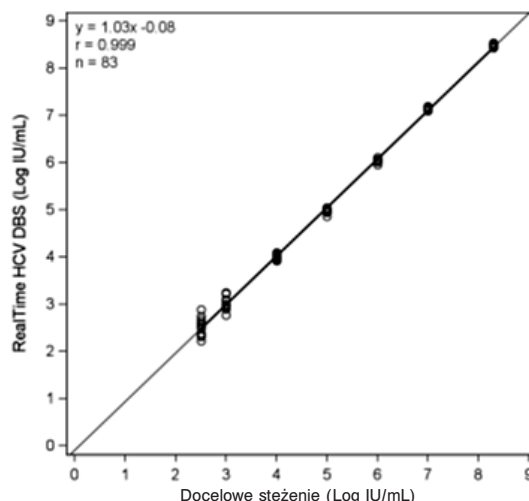
RNA HCV (IU/mL)	Liczba badanych próbek	Liczba detekcji	Odsetek detekcji
500	84	83	99
400	84	80	95
350	84	75	89
300	84	73	87
150	84	54	64
50	84	26	31

Analiza probitowa danych wykazała, że stężenie RNA HCV wykryte w badaniu z suchej kropli krwi z 95% prawdopodobieństwem wynosi 462 IU/mL (95% przedział ufności: 381 do 593 IU/mL).

Zakres liniowości

Górna granica oznaczalności (ULQ) testu Abbott RealTime HCV wynosi 100 milionów IU/mL, zaś dolna granica oznaczalności jest równa wartości LoD (462 IU/mL) według założeń dotyczących próbek DBS. Przygotowano panel złożony z 7 próbek DBS przy użyciu Armored RNA HCV rozcieńczonego do stężenia w zakresie od 200 milionów IU/mL do 316 IU/mL w HCV-ujemnej krwi pełnej. Wyniki reprezentatywne dla liniowości testu Abbott RealTime HCV do analizy DBS pokazano na Rysunku 1.

Rysunek 1. Liniowość testu Abbott RealTime HCV do analizy DBS



Test Abbott RealTime HCV do analizy DBS wykazał liniowość w całym zakresie badanych stężeń RNA HCV (316 do 200 milionów IU/mL, 2.5 do 8.3 Log IU/mL).

Swoistość

Swoistość docelowa testu Abbott RealTime HCV do analizy DBS jest większa lub równa 99.5%. Swoistość została ustalona na podstawie analizy 119 próbek HCV-seronegatywnych z wykorzystaniem 2 partii odczynników do amplifikacji. Całkowita swoistość wyniosła 100% (119/119).

Precyzja

Precyzję oceniono poprzez zbadanie 6-próbkowego panelu DBS o docelowym zakresie stężeń RNA HCV od 316 IU/mL do 200 milionów IU/mL. Próbkę panelu o stężeniach niższych niż 5 Log IU/mL (100 000 IU/mL) zostały przygotowane poprzez rozcieńczenie klinicznej próbki HCV-dodatniej w HCV-ujemnej krwi pełnej, podczas gdy próbki panelu o stężeniach wyższych niż 5 Log IU/mL (100 000 IU/mL) zostały przygotowane poprzez rozcieńczenie Armored RNA HCV w HCV-ujemnej krwi pełnej. Każda próbka panelu była badana w 5 powtórzeniach przeprowadzanych raz dziennie przez 5 dni, na 3 parach analizatorów Abbott m2000sp/rt z 3 partiami odczynników do amplifikacji. Wyznaczono odchylenia standardowe (SD) w obrębie cyklu, pomiędzy cyklami i pomiędzy oznaczeniami (w cyklu i pomiędzy cyklami). Test Abbott RealTime HCV do analizy DBS opracowano w taki sposób, aby odchylenie standardowe (SD) pomiędzy oznaczeniami było mniejsze lub równe 0.25 Log IU/mL RNA HCV w przypadku próbek o stężeniach HCV wynoszących od 10 000 do 100 milionów IU/mL. Wyniki reprezentatywne dla precyzji testu Abbott RealTime HCV do analizy DBS przedstawiono w Tabeli 2.

Tabela 2. Precyzja testu Abbott RealTime HCV do analizy DBS

Próbka panelu	N	Średnie stężenie (IU/mL)	Średnie stężenie (Log IU/mL)	Składowa SD – w obrębie cyklu ^{a,e}	Składowa SD – pomiędzy cyklami ^a	SD pomiędzy oznaczeniami ^{a,b}	Składowa SD – pomiędzy partiami/aparatami ^a	Łącznie ^{c,e}
1	63 ^d	420	2.62	0.26	0.07	0.27	0.00	0.27
2	75	1435	3.16	0.23	0.00	0.23	0.09	0.25
3	75	13 211	4.12	0.06	0.04	0.07	0.05	0.09
4	75	395 427	5.60	0.04	0.03	0.05	0.02	0.05
5	75	14 008 770	7.15	0.12	0.04	0.13	0.05	0.14
6	75	316 713 566	8.50	0.04	0.03	0.05	0.05	0.07

^a Wartości odchylenia standardowego (SD) są wyrażone w Log IU/mL.

^b Wartość pomiędzy oznaczeniami obejmuje składowe w obrębie cyklu i pomiędzy cyklami.

^c Łączna wartość obejmuje składowe w obrębie cyklu, pomiędzy cyklami i pomiędzy partiami/aparatami.

^d Średnie stężenie próbki panelu nr 1 jest niższe niż LoD. Dane szacunkowe dotyczące precyzji są oparte na kwantyfikowanych powtórzeniach.

^e Odchylenie standardowe w obrębie cyklu określa się również jako powtarzalność. Całkowite odchylenie standardowe określa się również jako odtwarzalność.

Powtarzalność i odtwarzalność dla próbki panelu nr 1 (blisko dolnej granicy oznaczalności, LLoQ) wyniosły odpowiednio 0.26 Log IU/mL oraz 0.27 Log IU/mL, zaś dla próbki panelu nr 2 (blisko LLoQ) wyniosły odpowiednio 0.23 Log IU/mL oraz 0.25 Log IU/mL. Powtarzalność i odtwarzalność dla próbki panelu nr 5 (blisko górnej granicy oznaczalności, ULoQ) wyniosły odpowiednio 0.12 Log IU/mL oraz 0.14 Log IU/mL, zaś dla próbki panelu nr 6 (blisko ULoQ) wyniosły odpowiednio 0.04 Log IU/mL oraz 0.07 Log IU/mL.

Korelacja

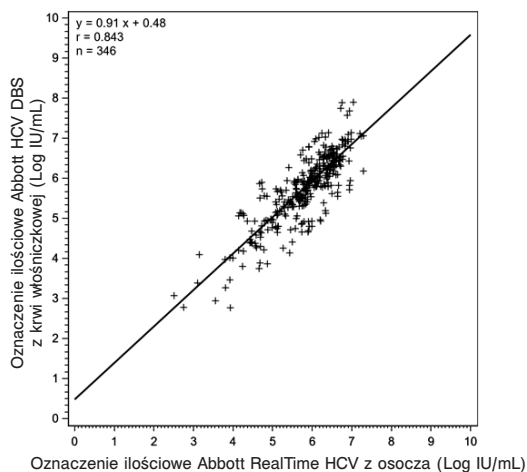
Porównano test Abbott RealTime HCV z użyciem suchej kropli krwi i test porównawczy posiadający oznakowanie CE, Abbott RealTime HCV do oznaczeń w ludzkim osoczu pod kątem ich zdolności do ilościowego oznaczania RNA HCV. W analizie uwzględniono próbki osocza i DBS pobrane od 346 uczestników (pobrane i przebadane w Gruzji, Kamerunie i Grecji). Z wykorzystaniem testu Abbott RealTime HCV do analizy DBS przebadano zarówno DBS przygotowane z krwi żyłnej, jak i DBS przygotowane z krwi włóścikowej (naktucie palca). Wyniki ilościowe z próbek, które mieściły się w dynamicznych zakresach oznaczeń, zostały przeanalizowane metodą regresji liniowej najmniejszych kwadratów i metodą błędu systematycznego Blanda-Altmana (DBS z krwi włóścikowej w porównaniu z osoczem N=346, DBS z krwi żyłnej w porównaniu z osoczem N=346 i DBS z krwi włóścikowej w porównaniu z DBS z krwi żyłnej N=345). W przypadku korelacji między DBS z krwi włóścikowej a osoczem współczynnik korelacji wyniósł 0.843, nachylenie krzywej wyniosło 0.91 (95% przedział ufności: 0.85 do 0.97), a punkt przecięcia z osią współrzędnych wyniósł 0.48 Log IU/mL (95% przedział ufności: 0.12 do 0.84) (**Rysunek 2**). W przypadku korelacji między DBS z krwi żyłnej a osoczem współczynnik korelacji wyniósł 0.840, nachylenie krzywej wyniosło 0.94 (95% przedział ufności: 0.88 do 1.00), a punkt przecięcia z osią współrzędnych wyniósł 0.31 Log IU/mL (95% przedział ufności: -0.07 do 0.69) (**Rysunek 3**). W przypadku korelacji między DBS z krwi włóścikowej a DBS z krwi żyłnej współczynnik korelacji wyniósł 0.943, nachylenie krzywej wyniosło 0.91 (95% przedział ufności: 0.87 do 0.94), a punkt przecięcia z osią współrzędnych wyniósł 0.53 Log IU/mL (95% przedział ufności: 0.33 do 0.72) (**Rysunek 4**). Ponadto wykresy Blanda-Altmana dla tych samych porównań zaprezentowano na **Rysunku 5**, **Rysunku 6** oraz **Rysunku 7**. Średnia różnica błędu systematycznego między DBS z krwi włóścikowej a osoczem wyniosła -0.05 Log IU/mL. Średnia różnica błędu systematycznego między DBS z krwi żyłnej a osoczem wyniosła -0.04 Log IU/mL. Średnia różnica błędu systematycznego między DBS z krwi włóścikowej a DBS z krwi żyłnej wyniosła -0.02 Log IU/mL.

Przewidywany błąd systematyczny między DBS z krwi włóścikowej a osoczem został oceniony przy poziomach docelowych LLoQ i ULoQ. Ponadto przewidywany błąd systematyczny między DBS z krwi żyłnej a osoczem został oceniony przy poziomach docelowych LLoQ i ULoQ. Zestawienie przewidywanego błędu systematycznego, patrz **Tabela 3**.

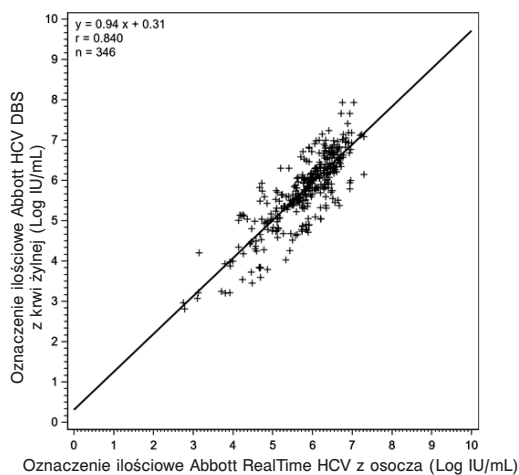
Tabela 3. Przewidywany błąd systematyczny między DBS (z krwi włóścikowej lub żyłnej) a osoczem przy dolnej (LLoQ) i górnej (ULoQ) granicy oznaczalności

Porównanie	Poziom	Docelowy poziom miana wirusa (Log IU/mL)	Przewidywany błąd systematyczny (Log IU/mL)
DBS z krwi włóścikowej w porównaniu z osoczem	LLoQ	2.66	0.24
	ULoQ	8.00	-0.26
DBS z krwi żyłnej w porównaniu z osoczem	LLoQ	2.66	0.15
	ULoQ	8.00	-0.17

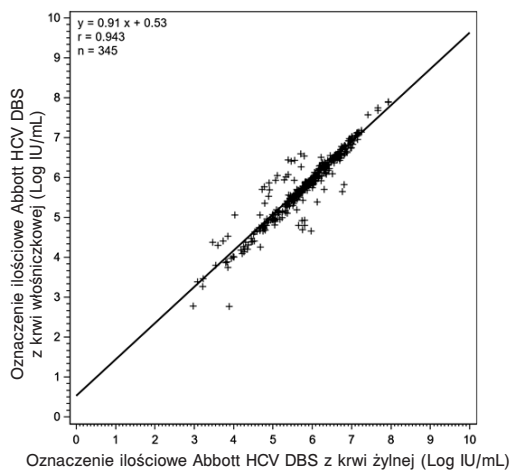
Rysunek 2. DBS z krwi włosniczkowej i osocze



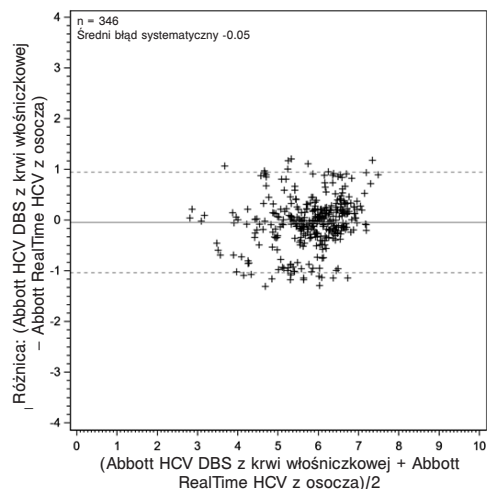
Rysunek 3. DBS z krwi żyłnej i osocze



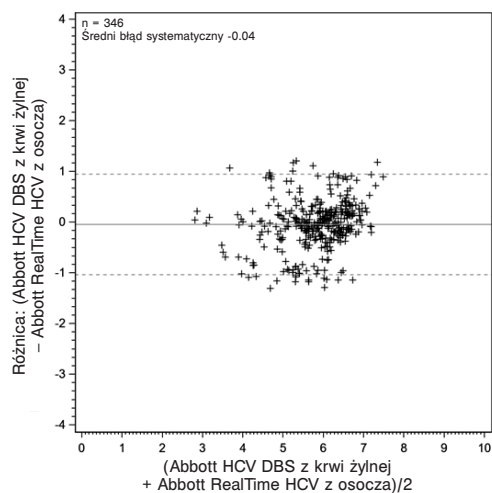
Rysunek 4. DBS z krwi włosniczkowej i DBS z krwi żyłnej



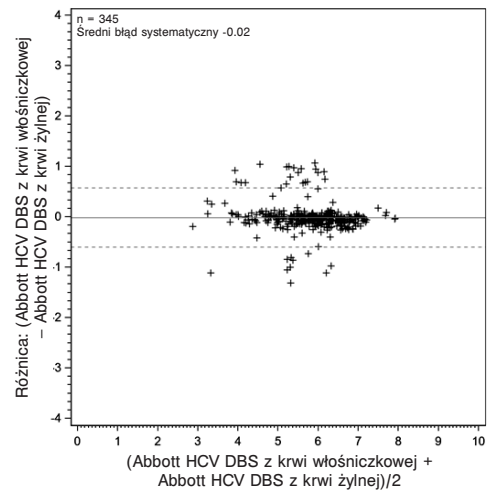
Rysunek 5. DBS z krwi włosniczkowej w porównaniu z osoczem



Rysunek 6. DBS z krwi żyłnej w porównaniu z osoczem



Rysunek 7. DBS z krwi włosniczkowej w porównaniu z DBS z krwi żyłnej



PIŚMIENICTWO

1. Gower E, Estes C, Blach S, Razavi-Shearer K, Razavi H. Global epidemiology and genotype distribution of the hepatitis C virus infection. *J Hepatol.* 2014;61(1 Suppl):S45-S57. doi:10.1016/j.jhep.2014.07.027
2. Guidelines for the screening, care and treatment of persons with chronic hepatitis C infection. World Health Organization (WHO); updated April 2016. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/205035>
3. AASLD/IDSA HCV guidance panel. *Recommendations for testing, managing, and treating hepatitis C.* AASLD/IDSA; updated October 24, 2022. <https://www.hcvguidelines.org/>
4. European Association for the Study of the Liver. EASL Recommendations on Treatment of Hepatitis C 2018. *J Hepatol.* 2018;69(2):461-511. doi:10.1016/j.jhep.2018.03.026
5. Miller MH, Agarwal K, Austin A, et al. Review article: 2014 UK consensus guidelines - hepatitis C management and direct-acting anti-viral therapy. *Aliment Pharmacol Ther.* 2014;39(12):1363-1375. doi:10.1111/apt.12764
6. Davis GL, Esteban-Mur R, Rustgi V, et al. Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin for the treatment of relapse of chronic hepatitis C. International Hepatitis Interventional Therapy Group. *N Engl J Med.* 1998;339(21):1493-1499. doi:10.1056/NEJM199811193392102
7. Manns MP, McHutchison JG, Gordon SC, et al. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial. *Lancet.* 2001;358(9286):958-965. doi:10.1016/s0140-6736(01)06102-5
8. Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR, et al. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med.* 2002;347(13):975-982. doi:10.1056/NEJMoa020047
9. Hadziyannis SJ, Sette H Jr, Morgan TR, et al. Peginterferon-alpha2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose. *Ann Intern Med.* 2004;140(5):346-355. doi:10.7326/0003-4819-140-5-200403020-00010
10. Orlent H, Deltenre P, Francque S, et al. Update of the Belgian Association for the Study of the Liver guidelines for the treatment of chronic hepatitis C genotype 1 with protease inhibitors. *Acta Gastroenterol Belg.* 2012;75(2):245-259.
11. Halfon P, Bourlière M, Pénaranda G, Khiri H, Ouzan D. Real-time PCR assays for hepatitis C virus (HCV) RNA quantitation are adequate for clinical management of patients with chronic HCV infection. *J Clin Microbiol.* 2006;44(7):2507-2511. doi:10.1128/JCM.00163-06
12. Kowdley KV, Nelson DR, Lalezari JP, et al. On-treatment HCV RNA as a predictor of sustained virological response in HCV genotype 3-infected patients treated with daclatasvir and sofosbuvir. *Liver Int.* 2016;36(11):1611-1618. doi:10.1111/liv.13165
13. Yoshida EM, Sulkowski MS, Gane EJ, et al. Concordance of sustained virological response 4, 12, and 24 weeks post-treatment with sofosbuvir-containing regimens for hepatitis C virus. *Hepatology.* 2015;61(1):41-45. doi:10.1002/hep.27366
14. WHO Guidelines on Hepatitis B and C Testing. World Health Organization (WHO); 2017. <https://www.who.int/publications/i/item/9789241549981>
15. Saldanha J, Heath A, Aberham C, et al. World Health Organization collaborative study to establish a replacement WHO international standard for hepatitis C virus RNA nucleic acid amplification technology assays. *Vox Sang.* 2005;88(3):202-204. doi:10.1111/j.1423-0410.2005.00606.x

Uwaga dotycząca formatu liczb:

- Do oddzielania grup trzycyfrowych (tysiące) zastosowano znak spacji (na przykład: 10 000).
- Do oddzielania części całkowitej od części ułamkowej w zapisie liczby dziesiętnej zastosowano znak kropki (na przykład: 3.12%).

POMOC TECHNICZNA

Aby uzyskać pomoc techniczną, prosimy o kontakt telefoniczny z działem technicznym firmy Abbott pod numerem telefonu +49-6122-580 (dla klientów poza USA) lub o odwiedzenie strony internetowej firmy Abbott pod adresem www.molecular.abbott.

PODSUMOWANIE DOTYCZĄCE BEZPIECZEŃSTWA I DZIAŁANIA

Podsumowanie dotyczące bezpieczeństwa i działania (SSP) dla tego wyrobu jest dostępne na stronie internetowej <http://ec.europa.eu/tools/eudamed>. Dokument ten zostanie zamieszczony pod wskazanym adresem po uruchomieniu Europejskiej bazy danych o wyrobach medycznych (European Database on Medical Devices). Przy wyszukiwaniu wyrobu należy posłużyć się kodem UDI-DI podanym na zewnętrznym opakowaniu.

Importerm Abbott RealTime HCV do Unii Europejskiej jest firma Abbott Diagnostics GmbH, z siedzibą przy Max-Planck-Ring 2, 65205 Wiesbaden, Niemcy.



Abbott Molecular Inc.
1300 East Touhy Avenue
Des Plaines, IL 60018 USA



Abbott GmbH
Max-Planck-Ring 2
65205 Wiesbaden, Germany

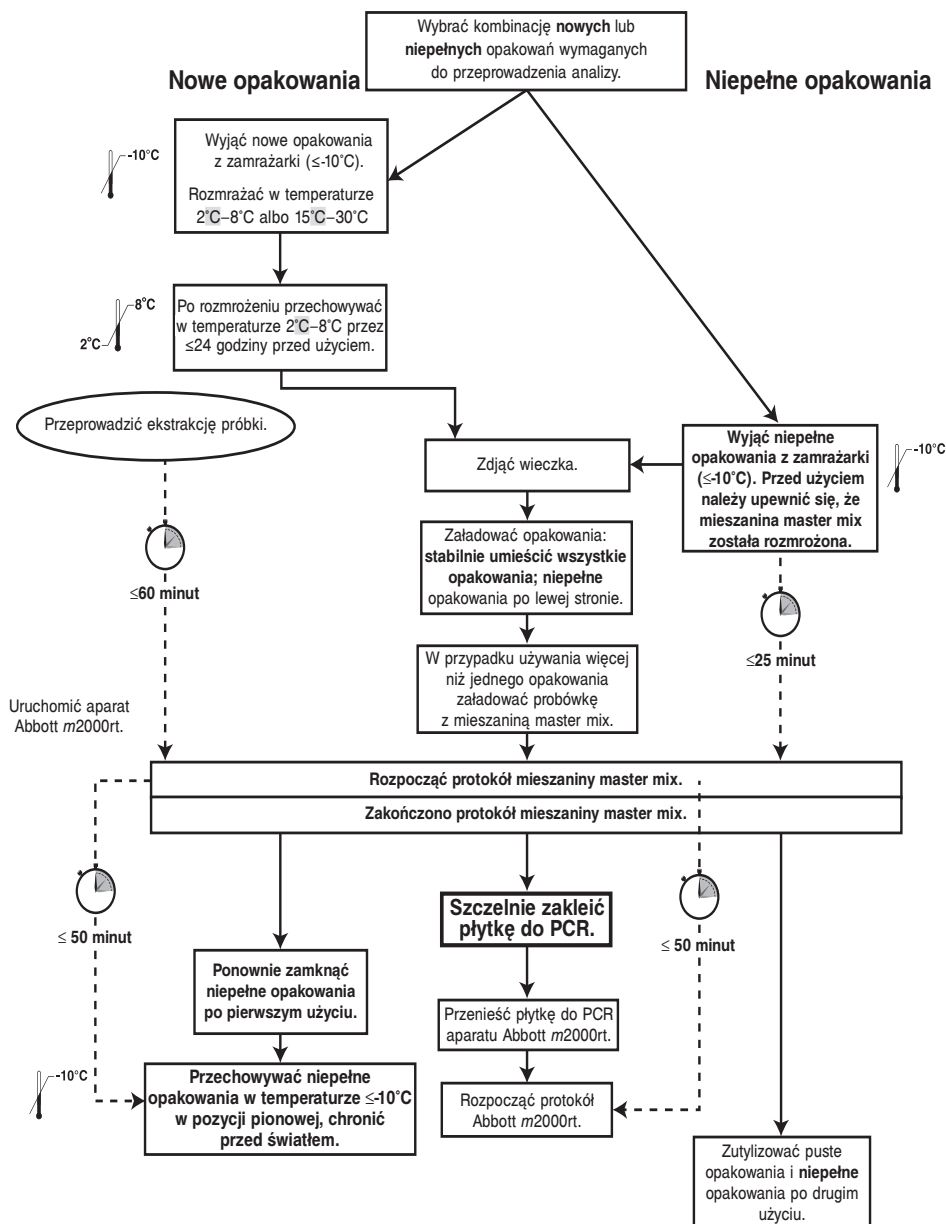
© 2020, 2024 Abbott. Wszelkie prawa zastrzeżone.
51-608440/R3
sierpień 2024 r.

ZAŁĄCZNIK 1. OPIS OPCJI DWUKROTNEGO UŻYCIA ODCZYNNIKÓW DO AMPLIFIKACJI ABBOTT REALTIME HCV

Opcja wydłużonego stosowania odczynników do amplifikacji pozwala na 2-krotne użycie opakowania odczynników do amplifikacji oraz kontroli wewnętrznej (IC). Opakowania odczynników do amplifikacji, które nie zostały jeszcze użyte do przygotowania mieszaniny master mix, zwane są **nowymi** opakowaniami odczynników do amplifikacji. Opakowania odczynników do amplifikacji, które zostały już wcześniej użyte i zawierają przygotowaną mieszaninę master mix, zwane są **niepełnymi** opakowaniami odczynników do amplifikacji. Dodatkowe szczegółowe informacje, patrz wskazówki opisane w niniejszej instrukcji.

Warunki przechowywania (opakowanie odczynników do amplifikacji i fiolki z kontrolą wewnętrzną)		
Rodzaj opakowania	Temperatura przechowywania	Czas przechowywania
Nowe opakowania	-10 °C lub niższa	do daty podanej na etykiecie
Nowa kontrola IC	-10 °C lub niższa	do daty podanej na etykiecie
Niepełne opakowania	-10 °C lub niższa (bez dostępu światła)	do 14 dni po pierwszym użyciu
Niepełna kontrola IC	-10 °C lub niższa	do 14 dni po pierwszym użyciu

- W przypadku stosowania UNG w procedurze kontroli kontaminacji, patrz szczegółowe instrukcje w kroku 25. i 32. Protokołu oznaczenia.



- Opakowania odczynników do amplifikacji, przeznaczone do dwukrotnego użycia, muszą posiadać 6-cyfrowy numer seryjny nad kodem kreskowym.
- Niepełne** opakowania odczynników do amplifikacji mogą zostać użyte po raz drugi w tym samym aparacie, w którym zostały użyte po raz pierwszy. Użycie ich w innym aparacie spowoduje błąd, który może opóźnić cykl roboczy.
- Niepełne** oraz **nowe** opakowania odczynników do amplifikacji mogą być stosowane łącznie. Wszystkie opakowania odczynników do amplifikacji użyte w danym aparacie w cyklu roboczym muszą posiadać ten sam numer partii.

Abbott RealTime HCV

Supplement for Dried Blood Spot (DBS)

hu

GTIN

REF

04J86-010

IVD

REF 04J86-010

51-608440/R3

51-608440/R3

MEGJEGYZÉS: A változtatások szürke háttérrel vannak feltüntetve

Jelmagyarázat	
	Globális kereskedelmi áruazonosító szám
	Listaszám
	In vitro diagnosztikai orvostechnikai eszköz
	Engedélyezett maximális idő
	Felső hőmérsékleti határ
	Hőmérsékleti határ
	Meghatalmazott képviselő az Európai Közösségben/ Európai Unióban
	Gyártó

ÜGYFÉLSZOLGÁLAT:

FORDULJON ABBOTT KÉPVISELŐJÉHEZ!

A mérések megkezdése előtt figyelmesen olvassa el ezt a nyomtatványt, és kövesse az utasításokat! A teszt eredmények megbízhatósága nem garantálható, ha bármilyen eltér ezektől az utasításoktól.

Ez a használati utasítás (Instructions For Use [IFU]) az Abbott RealTime HCV teszt (listaszám: 4J86) termékismertető nyomtatványának — a beszárított vérminta (Dried Blood Spot [DBS]) mintatípusra vonatkozó — kiegészítése.

MEGJEGYZÉS A FELHASZNÁLÓNAK

Ha ezzel az eszközzel összefüggésben bármilyen súlyos váratlan esemény következik be, az eseményt be kell jelenteni a gyártónak és a felhasználó székhelye/beteg lakhelye szerinti tagállam illetékes hatóságának. A gyártónak való bejelentéshez szükséges kapcsolattartási információkat lásd e használati utasítás **Ügyfélszolgálat** vagy **Technikai segítségnyújtás** címe alatt!

NÉV

Abbott RealTime HCV

RENDELTETÉS DBS ESETÉN

Az Abbott RealTime HCV teszt in vitro, reverz transzkripció polimeráz láncreakción (RT-PCR) alapuló teszt, amely a hepatitis-C-vírus-ribonukleinsav (HCV-RNS) kvantitatív meghatározására szolgál HCV-vel fertőzött betegektől származó, vénás vagy kapilláris vérvétellel nyert, humán teljes vérből készített, kártyára cseppentett, beszárított vérmintában (DBS). Az Abbott RealTime HCV teszt a HCV-fertőzött, antivirális kezelésben részesülő betegek gondozásának segítő eszköze. Az Abbott RealTime HCV teszt nem használható vér-, plazma-, szérum- vagy szövetdonorok HCV-szűrésére, illetve a HCV-fertőzés fennállását konfirmáló diagnosztikai tesztként.

FELHASZNÁLÓI CÉLCSOPORT

Az Abbott RealTime HCV teszt felhasználói célcsoportját a laboratóriumi szakemberek alkotják.

A TESZT ÖSSZEFOGLALÁSA ÉS MAGYARÁZATA

A hepatitis-C-vírus (HCV) a májbetegség egyik fő okozója.

Becslések szerint a népesség körülbelül 1,1%-a szenved krónikus hepatitis-C-fertőzésben¹, és évente körülbelül 700000 ember hal meg hepatitis-C-vel összefüggő májbetegségben.² A HCV pozitív szálú RNS-vírus, mely elsősorban intravénás kábítószer-használat során, valamint vércsökkentővel terjed. A HCV-fertőzött egyének mintegy 55-85%-ában alakul ki krónikus hepatitis, és a krónikus fertőzésben szenvedő betegek legfeljebb 30%-ánál figyeltek meg cirrhosis kialakulását.¹ A cirrhosisban szenvedő betegekben a hepatocellularis carcinoma incidenciája évente 2-4%.¹

A perifériás vérben mért, kvantitatív HCV-RNS-szint alapvető paraméternek bizonyult a HCV elleni különféle terápiák alakítása során.⁶⁻¹³ A közvetlen hatású, antivirális terápiás módszerek megjelenése rendkívül jelentős előrelépést eredményezett a HCV-fertőzés kezelésében. A HCV elleni terápiák célja a tartós virológiai válasz (sustained virological response [SVR]) elérése, azaz a HCV-RNS-mennyiség olyan mértékű csökkentése, hogy az tartósan a kimutatható szint alatt maradjon.²⁻⁵ A HCV-vírus terhelés mérése az egyedi kezelések időtartamának és a kezelésre adott válasz által irányított terápiának a személyre szabására, valamint az antivirális kezelésre adott tartós vagy nem tartós virológiai válasz meghatározására vagy előrejelzésére használatos.²⁻⁵

A HCV-vel kapcsolatos globális terhek nagy része az alacsony és közepes jövedelmű országokat (low- and middle-income countries [LMIC-k]) érinti.¹⁴ Az aktív HCV-fertőzésben szenvedő betegek azonosítása nagy mértékben korlátozott ezeken a kevés erőforrással rendelkező területeken. A teljes vér kártyára cseppentésével készített, beszárított vérminták (DBS) a szérum- vagy plazmaminták alternatívájaként használhatók a HCV-RNS vizsgálatához. A DBS olyan használható opciót jelent, amely kiküszöböli a szérum vagy plazma gyűjtésével, feldolgozásával, tárolásával és szállításával kapcsolatos számos logisztikai és technikai korlátot. Az Egészségügyi Világszervezet (World Health Organization [WHO]) hepatitis-C vizsgálatára vonatkozó iránymutatásai DBS használatát ajánlják a HCV virológiai vizsgálat céljára azokon a területeken, ahol korlátozottak az erőforrások.¹⁴ A DBS vizsgálatával végzett Abbott RealTime HCV teszt homogén, valós idejű fluoreszcenciakimutatással kombinált, reverz transzkripció polimeráz láncreakciós (RT-PCR) technológiát alkalmaz a HCV-RNS DBS-mintákban történő kvantitatív meghatározására. A HCV-genom egy konzervált régiójának kiválasztása lehetővé teszi az 1-6-os genotípusok kimutatását. A teszt az Egészségügyi Világszervezet következő nemzetközi szabványa alapján kerül standardizálásra: 2nd WHO International Standard for Hepatitis C Virus RNA (NIBSC code 96/798). Az eredmények nemzetközi egység/mL (IU/mL) mértékegységben vagy annak 10-es alapú logaritmusos megfelelőjében kerülnek kiadásra.

AZ ELJÁRÁS BIOLÓGIAI ELVEI

A DBS használatával végzett Abbott RealTime HCV teszt elvégzéséhez 3 reagenskészletre van szükség:

- Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit
- Abbott RealTime HCV Control Kit
- Abbott RealTime HCV Calibrator Kit

A DBS használatával végzett Abbott RealTime HCV teszt RT-PCR technikát alkalmaz az amplifikált termék előállítására a humán DBS-mintákban lévő HCV-RNS-genomból. A DBS használatával végzett Abbott RealTime HCV teszt lépései a következők: a DBS elemzés előtti kezelése, minta-előkészítés, az RT-PCR reakció összeállítása, amplifikáció, detektálás és az eredmények kiadása. A DBS elemzés előtti kezelése az Abbott mSample Preparation System DBS Buffer Kit használatával kerül elvégzésre a minta **Abbott m2000sp** készülékbe való betöltése előtt. A DBS elemzés előtti kezelését követően minden további lépést automatikusan elvégző az **Abbott m2000sp** és az **Abbott m2000rt** készülék.

A minta-előkészítéssel, az RT-PCR reakció összeállításával, az amplifikációval és a detektálással kapcsolatos további részleteket lásd az Abbott RealTime HCV teszt (listaszám: 4J86) termékismertető nyomtatványában!

AZ AMPLIFIKÁCIÓS REAGENS MEGHOSSZABBÍTOTT HASZNÁLATA

Az amplifikációs reagens meghosszabbított használatát biztosító, szabadon választható funkció lehetővé teszi az amplifikációsreagens-csomagok és az IC összesen 2 alkalommal történő használatát. A második használat előtt az elkészített referenciakeveréket tartalmazó amplifikációsreagens-csomagok -10°C-os vagy ennél alacsonyabb hőmérsékleten, kupakkal lezárva és fénytől védve legfeljebb 14 napig tárolhatók. A második használat előtt a belső kontroll (internal control [IC]) -10°C-os vagy ennél alacsonyabb hőmérsékleten legfeljebb 14 napig tárolható. A második használat nem történhet a reagens lejárati dátumát követően.

Ennek a funkciónak az áttekintése e használati utasítás 1. mellékletében található.

Ebben a használati utasításban a korábban még nem használt (azaz az első alkalommal használandó) amplifikációsreagens-csomagokra és IC-re új amplifikációsreagens-csomagokként és IC-ként hivatkozunk. A már egyszer használt, és ezért az elkészített referenciakeveréket már tartalmazó amplifikációsreagens-csomagokra parciális amplifikációsreagens-csomagokként hivatkozunk. A már egyszer használt IC-fiólákra parciális IC-fióláként hivatkozunk.

A NUKLEINSAVVAL VALÓ SZENNYEZŐDÉS MEGELŐZÉSE

Lásd az Abbott RealTime HCV teszt (listaszám: 4J86) termékismertető nyomtatványát!

REAGENSEK

Lásd az Abbott RealTime HCV teszt (listaszám: 4J86) termékismertető nyomtatványát!

FIGYELMEZTETÉSEK ÉS ÓVINTÉZKEDÉSEK

IVD

In vitro diagnosztikai alkalmazásra

A DBS használatával végzett Abbott RealTime HCV teszt nem használandó vér-, plazma-, szérum- vagy szövetdonorok HCV-szűrésére, illetve a HCV-fertőzés fennállását konfirmáló diagnosztikai tesztként.

BIZTONSÁGI ÓVINTÉZKEDÉSEK

Lásd az Abbott RealTime HCV teszt (listaszám: 4J86) termékismertető nyomtatványát! A DBS használatával végzett Abbott RealTime HCV teszt kizárólag az **Abbott m2000sp** és az **Abbott m2000rt** készüléken használható.

KÜLÖNLEGES ÓVINTÉZKEDÉSEK

Kezelési óvintézkedések DBS-minták vizsgálata esetén

A DBS használatával végzett Abbott RealTime HCV teszt kizárólag a **MINTÁK GYŰJTÉSE, TÁROLÁSA ÉS A VIZSGÁLATI HELYSZÍNRE VALÓ SZÁLLÍTÁSA** cím alatt leírt módon kezelt és tárolt teljesvér- vagy DBS-minták vizsgálatára használható.

Lásd az Abbott RealTime HCV teszt (listaszám: 4J86) termékismertető nyomtatványát!

A DBS-minták kezelésére vonatkozó óvintézkedések:

- Gondoskodjon arról, hogy a deszikkánszt tartalmazó tasakban való tárolás előtt a DBS-kártyák teljesen megszáradjanak! A DBS-minta nem megfelelő módon való elkészítése, szárítása, tárolása és kezelése pontatlan teszteredményekhez vezethet.
- A keresztszennyeződés elkerülése érdekében minden egyes DBS-mintához használjon új pipettahegyet, amikor a kicseppentett vért tartalmazó részt kinyomja a perforált DBS-kártyából! Nem perforált DBS-kártya használata esetén gondoskodjon arról, hogy a kártyadarab kivágásához használt eszköz a DBS-mintával való érintkezés előtt és után fertőtlenítésre kerüljön!

Munkavégzési területek

Az **Abbott m2000sp** és **Abbott m2000rt** használata esetén mindössze két, erre a célra elkülönített terület (Minta-előkészítési munkaterület és Amplifikációs munkaterület) használata ajánlott.

Lásd az Abbott RealTime HCV teszt (listaszám: 4J86) termékismertető nyomtatványát!

Aeroszol okozta szennyeződés

Lásd az Abbott RealTime HCV teszt (listaszám: 4J86) termékismertető nyomtatványát!

Szennyeződés és inhibíció

Lásd az Abbott RealTime HCV teszt (listaszám: 4J86) termékismertető nyomtatványát!

Külső forrásból származó, dU-tartalmú amplifikált termék által okozott szennyeződés

Azokban a laboratóriumokban, melyek olyan HCV-amplifikációs tesztek használatát vagy használatát, amelyeknek része az amplifikált termék PCR utáni feldolgozása, szennyeződést okozhat a dU-tartalmú amplifikált termék. Az ilyen szennyeződés pontatlan eredményeket okozhat a DBS használatával végzett Abbott RealTime HCV teszt használatának során. Lásd az Abbott RealTime HCV teszt (listaszám: 4J86-90) termékismertető nyomtatványának **A laboratórium szennyeződésének ellenőrzése** című részét! Ha a negatív kontrollok tartósan reaktív eredményt adnak, vagy ha valószínűsíthető a dU-tartalmú HCV-amplifikált termékkel való szennyeződés, és a laboratórium fertőtlenítése sikertelennek bizonyul, javasoljuk, hogy a laboratórium alkalmazza az uracil-N-glycosylase (uracil-N-glikoziláz [UNG]) szennyeződés-ellenőrzési eljárást.

TÁROLÁSI UTASÍTÁSOK

Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit (listaszám: 4J86-90)

-  **-10°C** Használaton kívül az új és **parciális** Abbott RealTime HCV amplifikációsreagens-csomagokat és az Internal Control (IC) fiókait -10°C-os vagy ennél alacsonyabb hőmérsékleten kell tárolni. Ügyeljen arra, hogy az éppen használatban lévő Abbott RealTime HCV amplifikációsreagens-csomag ne kerüljön közvetlen érintkezésbe a mintákkal, a kalibrátorokkal és a kontrollokkal!
- Az első használatot követően a **parciális** amplifikációsreagens-csomagokat és az IC-t -10°C-os vagy ennél alacsonyabb hőmérsékleten, kupakkal lezárva, álló helyzetben és fénytől védve kell tárolni. A fenti előírásoknak megfelelően tárolt, az elkészített referenciakeveréket tartalmazó **parciális** amplifikációsreagens-csomagok az első használatot követő 14 napon belül másodszor is használhatók. Az IC szintén használható másodszor a felolvasztást követő 14 napon belül, amennyiben kupakkal lezárva, -10°C-os vagy ennél alacsonyabb hőmérsékleten tárolják. A 2. használatot követően a parciális amplifikációsreagens-csomagokat és az IC-t ártalmatlanítani kell. A második használat nem történhet a reagens lejárati dátumát követően.

Abbott RealTime HCV Control Kit (listaszám: 4J86-80)

-  **-10°C** Az Abbott RealTime HCV Negative és Positive Controls-t -10°C-os vagy ennél alacsonyabb hőmérsékleten kell tárolni.

Abbott RealTime HCV Calibrator Kit (listaszám: 4J86-70)

-  **-10°C** Az Abbott RealTime HCV Calibrator A-t és Calibrator B-t -10°C-os vagy ennél alacsonyabb hőmérsékleten kell tárolni.

SZÁLLÍTÁSI FELTÉTELEK

Lásd az Abbott RealTime HCV teszt (listaszám: 4J86) termékismertető nyomtatványát!

A REAGENSEK INSTABILITÁSÁNAK VAGY MINŐSÉGGROMLÁSÁNAK JELEI

Lásd az Abbott RealTime HCV teszt (listaszám: 4J86) termékismertető nyomtatványát!

A KÉSZÜLÉK MŰKÖDTETÉSE

A vizsgálatok végzését megelőzően a DBS használatával végzett Abbott RealTime HCV teszt alkalmazásfájlját telepíteni kell az Abbott m2000sp és az Abbott m2000rt készülékre az Abbott RealTime HCV m2000 ROW System Combined Application CD-ROM-ról (listaszám: 01L69-040 vagy nagyobb). Az alkalmazásfájlok telepítésére vonatkozó részletes információkat lásd az Abbott m2000sp és az Abbott m2000rt Felhasználói kézikönyv Működtetési utasítások című fejezetében!

MINTÁK GYŰJTÉSE, TÁROLÁSA ÉS A VIZSGÁLATI HELYSZÍNRE VALÓ SZÁLLÍTÁSA

Minták gyűjtése és tárolása

- A DBS elkészítéséhez használjon ujjbegyből származó vagy EDTA-tartalmazó csőbe levett teljes vért! Az EDTA-tartalmazó csőbe levett teljes vért ellenőrzött hőmérsékleti körülmények között kell tartani a tárolás és a szállítás során (2-8°C-os hőmérsékleten legfeljebb 48 órán át vagy 30°C-ot nem meghaladó környezeti hőmérsékleten legfeljebb 24 órán át).
- Az EDTA-t tartalmazó csőben gyűjtött teljes vért a kicseppentés előtt óvatos átfordítással alaposan össze kell keverni. Cseppentse a vért a 12 milliméter átmérőjű körökre egy Ahlstrom-Munkell TFN papírkártyára vagy Whatman 903 kártyára, ügyelve arra, hogy a vércsepp a teljes kört lefedje! Az egyes körök teljes fedésének biztosítása érdekében ajánlott legalább 70 µl (körülbelül 3-5 csepp) vér kicseppentése.
- A kártyát szárítsa levegőn, környezeti hőmérsékleten legalább 3 órán át! Csomagoljon be minden egyes kártyát lezáráshoz való műanyag tasakba, 2-3 desszikanst tartalmazó tasakkal együtt!
- A vizsgálat megkezdése előtt a DBS-mintát tartalmazó kártyák az alábbi táblázatban meghatározott körülmények között tárolhatók.

DBS-mintát tartalmazó kártyák tárolása	
Körülmények	Maximális tárolási idő
2-30°C, környezeti páratartalom	18 hét
≤37°C, környezeti páratartalom	12 hét
≤45°C, környezeti páratartalom	8 hét
≤38°C, magas páratartalom (≤ 85%)	4 hét
-25°C – -15°C, környezeti páratartalom	18 hét
-70°C-os vagy ennél alacsonyabb hőmérséklet, környezeti páratartalom	18 hét

Minták szállítása

A minták tárolása során ne térjen el a fenti **Minták gyűjtése és tárolása** cím alatt felsorolt, tárolási hőmérsékletre, illetve időtartamra vonatkozó, ajánlott feltételektől! Belföldi és nemzetközi szállítás esetén a mintákat a klinikai, diagnosztikai vagy biológiai minták szállítására vonatkozó állami, szövetségi és nemzetközi szabályoknak megfelelően kell csomagolni és címkével ellátni.

ABBOTT REALTIME HCV TESZTELJÁRÁS DBS-MINTÁK VIZSGÁLATA ESETÉN

Szükséges, de nem mellékelte anyagok

- Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit (listaszám: 4J86-90)
- Abbott RealTime HCV Calibrator Kit (listaszám: 4J86-70)
- Abbott RealTime HCV Control Kit (listaszám: 4J86-80)

Abbott m2000sp készülék - Mintaelőkészítési munkaterület

- Abbott mSample Preparation System DBS Buffer Kit (listaszám: 09N02-001)
- Abbott m2000sp készülék (listaszám: 09K14-01, 09K14-02)
- Abbott mSample Preparation System (4 × 24 Preps) (listaszám: 04J70-24)
- 20-1000 µl-es mennyiség pipettázására alkalmas, kalibrált, precíziós pipetták (Az UNG használatához szükségesek lehetnek < 20 µl-es mennyiség pipettázására alkalmas, kalibrált, precíziós pipetták.)
- Szűrőbetétes pipettahegyek 20-1000 µl-es pipettákhoz (Az UNG használatához szükségesek lehetnek < 20 µl-es mennyiség pipettázására alkalmas, szűrőbetétes pipettahegyek).
- Vortex keverő
- Master Mix Tube (listaszám: 04J71-80)
- Abbott 96-Deep-Well Plate (listaszám: 04J71-30)
- 5 ml-es reakcióedények (listaszám: 04J71-20)
- 200 ml-es reakcióedények (listaszám: 04J71-60)
- Abbott 96-Well Optical Reaction Plate (listaszám: 04J71-70)
- Abbott Optical Adhesive Covers (listaszám: 04J71-75)
- Abbott Adhesive Cover Applicators (listaszám: 9K32-01)
- Abbott Splash-Free Support Base (listaszám: 9K31-01)
- Abbott RealTime HCV m2000 ROW System Combined Application CD-ROM (listaszám: 01L69-040 vagy nagyobb)
- m2000 System 13mm DBS-PoS Set (listaszám: 09N03-001)

- 1.4 mL Micro Vial 15mm Caps (listaszám: 03N20-01) (szabadon választható)
- Uracil N-Glycosylase (UNG)^a (listaszám: 6L87-02)

^aSzükség esetén az e használati útmutató **Külső forrásból származó, dU-tartalmú amplifikált termék okozta szennyeződés** címe alatt foglaltak szerint.

Abbott m2000rt készülék - Amplifikációs munkaterület

- Abbott m2000rt készülék (listaszám: 9K15-01)
- Abbott RealTime HCV m2000 ROW System Combined Application CD-ROM (listaszám: 01L69-040 vagy nagyobb)
- Abbott m2000rt Optical Calibration Kit (listaszám: 04J71-93)

Egyéb anyagok

- Biológiai biztonsági fülke, amely jóváhagyással rendelkezik fertőző anyagokkal való használatra
- Lezáráshoz való tasak a DBS-kártyához
- Deszikkáns csomag a DBS-kártyához
- Ahlstrom-Munkell TFN papírkártya és/vagy Whatman 903
- Lezáráshoz való műanyag tasak a 96 cellás reakciótálca ártalmatlanításához
- RNáz mentes víz (Eppendorf vagy ennek megfelelő)^b
- 1,7 ml-es, molekuláris biológiai vizsgálatokhoz alkalmas mikrocentrifuga-csővek (Dot Scientific, Inc. vagy ennek megfelelő termék)^b
- Vattás végű applikátorpálcák (Puritan vagy ennek megfelelő termék)^b

^b**Megjegyzés: Ez a 3 tétel A laboratórium szennyeződésének ellenőrzése cím alatt leírt eljárásokhoz használatos. Lásd az Abbott RealTime HCV teszt (listaszám: 4J86) termékismertető nyomtatványának MINŐSÉG-ELLENŐRZÉSI ELJÁRÁSOK címe alatt!**

Az eljárásra vonatkozó óvintézkedések

- A minták feldolgozása előtt figyelmesen olvassa el az ebben a használati utasításban található utasításokat!
- Az amplifikációs reagensek és a belső kontroll legfeljebb két alkalommal használhatók az ebben a használati utasításban leírtak szerint. Az Abbott RealTime HCV kalibrátorok, Negative Control, Low Positive Control és High Positive Control fialól kizárólag egyszeri használatra szolgálnak, és használat után ártalmatlanítandók.
- A szűrőbetétes pipettahegyeket vagy az egyszer használatos pipettákat a minták vagy az IC pipettázásakor kizárólag 1 alkalommal használja! A pipettatest pipettázáskor történő szennyeződésének megakadályozása érdekében ügyelni kell arra, hogy a pipettatest ne érjen hozzá a mintatartó cső vagy mintatároló belsejéhez! Ajánlott meghosszabbított, szűrőbetétes pipettahegy használata.
- Az amplifikációs termék jelenlétének azonosítására szolgáló eljárások a **MINŐSÉG-ELLENŐRZÉSI ELJÁRÁSOK** cím alatt találhatók.
- A nukleinsavval való szennyeződés kockázatának mérséklése érdekében tuberkulocid fertőtlenítőszerrel (például 1,0%-os nátrium-hipoklorittal vagy egyéb megfelelő fertőtlenítőszerrel) tisztítsa le és fertőtlenítsen azt a felületet, amelyre minta ömlött ki!
- Az Abbott RealTime HCV kalibrátorokat és kontrollokat a vizsgálandó mintákkal együtt kell előkészíteni. Az Abbott RealTime HCV kalibrátorok és kontrollok használata elengedhetetlen követelmény az Abbott RealTime HCV teszt megfelelő teljesítményének eléréséhez. Lásd a **MINŐSÉG-ELLENŐRZÉSI ELJÁRÁSOK** cím alatt!
- Az Abbott m2000sp Master Mix Addition (Referenciakeverék-hozzáadási) protokollt a minta-előkészítés befejezésétől számított 1 órán belül el kell indítani.
- Ha az Abbott m2000sp Master Mix Addition (Referenciakeverék-hozzáadási) protokoll végzése idő előtt leállításra kerül, ártalmatlanítsa a másodszor használt amplifikációs reagenseket! Az első alkalommal használt, új reagensek csomagok az e nyomtatványban leírtak szerint félretehetőek, tárolhatók és másodszor is használhatók.
- Az Abbott m2000rt protokollt a Master Mix Addition (Referenciakeverék-hozzáadási) protokoll megkezdésétől számított 50 percen belül el kell indítani. Ha az Abbott m2000rt készüléken a futtatás nem kerül elindításra 50 percen belül, illetve ha a futtatás félbeszakad vagy idő előtt leállításra kerül, helyezze be az Abbott 96-Well Optical Reaction Plate-et egy lezáráshoz való műanyag tasakba, zárja le a tasakot, és ártalmatlanítsa az Abbott m2000rt Felhasználói kézikönyvben foglaltak szerint a tálcá kezeléséhez használt kesztyűvel együtt!

FONTOS: Azokat az amplifikációs reagenseket, amelyeket másodszor is használni kíván, a Master Mix Addition (Referenciakeverék-hozzáadási) protokoll megkezdésétől számított 50 percen belül -10°C-os vagy ennél alacsonyabb hőmérsékletű tárolóba kell helyezni.

TESZTPROTOKOLL: DBS-MINTÁK VIZSGÁLATA AZ ABBOTT m2000sp ÉS AZ ABBOTT m2000rt KÉSZÜLÉK HASZNÁLATÁVAL

Az Abbott m2000sp készülékprotokoll és az Abbott m2000rt készülékprotokoll végrehajtásának részletes leírását lásd az Abbott m2000sp és az Abbott m2000rt Felhasználói kézikönyv Működtetési utasítások című fejezetében! A DBS protokollhoz 6.0 vagy nagyobb Abbott m2000sp szoftververzió szükséges. Kérjük, kövesse az Abbott m2000sp Felhasználói kézikönyvben (listaszám: 09K20; verziószám: 6 vagy nagyobb) leírtakat.

Egy futtatás során összesen 96 minta dolgozható fel. Minden egyes futtatás során vizsgálni kell egy Abbott RealTime HCV Negative Controlt, Low Positive Controlt és High Positive Controlt, ezért egy futtatás során legfeljebb 93 DBS-minta dolgozható fel, ha kalibrátorok futtatására nem kerül sor. A kalibrátorokat és kontrollokat folyadékmintákként dolgozza fel; az 1-5. lépés kizárólag a DBS-re vonatkozik. Ne dolgozzon fel plazma- vagy szérumbintákat olyan futtatás során, amelyhez DBS protokollt használ! Minden egyes DBS-mintához egyetlen Abbott Master Mix Tube-ot kell használni a teljes mintafeldolgozási eljárás során. Gondoskodjon arról, hogy a DBS-minták a feldolgozás során megfelelően fel legyenek címkézve!

1. Töltsön 1,3 ml-t az Abbott Master Mix Tube-ba az Abbott mSample Preparation System DBS Buffer Kit (listaszám: 09N02-001) részét képező mDBS pufferből!

MEGJEGYZÉS: Ehhez a lépéshez ne használjon mLysis puffert vagy egyéb reagenst!

2. Tartsa a perforált DBS-papírkártyát az Abbott Master Mix Tube fölél!
3. Nyomja ki a DBS-kört a kártyából egy tiszta pipettaheggyel - minden egyes Abbott Master Mix Tube-ba 1 DBS-kört nyomjon ki! Minden DBS-kör átmérőjének körülbelül 12 milliméternek kell lennie.

MEGJEGYZÉS: A KERESZTSZENNYEZŐDÉS ELKERÜLÉSE ÉRDEKÉBEN MINDEN DBS-MINTÁHOZ ÚJ PIPETTAHEGYET HASZNÁLJON!

Nem perforált DBS-papír esetében vágjon ki egy teljes (körülbelül 12,7 mm átmérőjű) DBS-kört minden egyes mintához, és tegye bele egy Abbott Master Mix Tube-ba!

MEGJEGYZÉS: Ügyeljen arra, hogy a vágófelület ne kerüljön közvetlen érintkezésbe a DBS-mintákkal! Ha szükséges, a helyes laboratóriumi gyakorlatnak megfelelően a minták között fertőtlenítsa a DBS-kör kivágásához használt eszközt!

4. Gondoskodjon arról, hogy a DBS-kör teljesen belemerüljön az mDBS pufferbe oly módon, hogy megütögeti a csövet vagy a pipettaheggyel belenyomja a DBS-kört a pufferbe!

MEGJEGYZÉS: Ha pipettaheggyel nyomja bele a DBS-t a pufferbe, akkor ügyeljen arra, hogy a DBS puffer mennyisége ne csökkenjen amiatt, hogy a pipettahegybe puffer kerül és/vagy a hegy szűrője magába szív némi puffert!

5. Kézzel rázza vagy körkörös mozgassa a mintatartó csöveket! Ne vortexelje a mintákat! Inkubálja 30 percig (± 2 perc) környezeti hőmérsékleten!
6. Eközben olvassa fel a tesztkontrollokat és a belső kontrollt (IC) 15-30°C-os vagy 2-8°C-os hőmérsékleten! A kalibrátorokat kizárólag kalibrációs futtatás végzése esetén olvassa fel (15-30°C-os vagy 2-8°C-os hőmérsékleten)!

MEGJEGYZÉS: A felolvasztott tesztkontrollok, IC és kalibrátorok a használatig 2-8°C-os hőmérsékleten legfeljebb 24 órán át tárolhatók.

7. Használat előtt vortexeljen minden egyes tesztkalibrátort és minden egyes kontrollt 3-szor 2-3 másodpercig! Gondoskodjon arról, hogy a vortexelés után a fiolák tartalma a fiolák alján legyen: ütögesse a fiolák alját a munkaasztalhoz, hogy a folyadék a fiolák aljára kerüljön! Ügyeljen arra, hogy a fiolákban ne keletkezzenek buborékok vagy hab; ha a fiolákban buborékok vannak, távolítsa el a buborékokat, minden egyes fiolához új, steril pipettahegyet használva!

8. Olvassa fel az amplifikációs reagenseket 15-30°C-os vagy 2-8°C-os hőmérsékleten, és tárolja 2-8°C-os hőmérsékleten, mielőtt használja őket az amplifikációs referenciakeverék-hozzáadási eljáráshoz!
9. Válassza ki a futtatás során használni kívánt új és/vagy parciális amplifikációsreagens-csomagokat! Az amplifikációsreagens-csomagokra vonatkozó készletgazdálkodási utasításokat lásd az Abbott m2000sp Felhasználói kézikönyv (listaszám: 09K20; verziószám: 6 vagy nagyobb) Működtetési utasítások című fejezetében! Az amplifikációsreagens-csomagoknak ugyanazzal a tételszámmal kell rendelkezniük. Az új amplifikációs reagenseket 15-30°C-os vagy 2-8°C-os hőmérsékleten olvassa fel, és tárolja 2-8°C-os hőmérsékleten, mielőtt használja őket az amplifikációs referenciakeverék-hozzáadási eljáráshoz!

MEGJEGYZÉS: Felolvasztás után az új amplifikációs reagensek legfeljebb 24 órán át tárolhatók 2-8°C-os hőmérsékleten, ha nem használja őket azonnal. A második alkalommal használni kívánt parciális amplifikációsreagens-csomagokat a második használatig NEM szabad 2-8°C-os hőmérsékleten tárolni, hanem a referenciakeverék-hozzáadás végrehajtásáig -10°C-os vagy ennél alacsonyabb hőmérsékleten kell tartani. Miután kiveszi őket a fagyasztóból, legfeljebb összesen 25 percig tárolhatók szobahőmérsékleten, beleértve azt az időt is, amikor a csomagokat már kivette a tárolóból, de még nem használta. A 25 perces szobahőmérsékleten való tárolási idő túllépése esetén ártalmatlanítsa a parciális amplifikációsreagens-csomagokat!

A következő táblázat a minta-előkészítésre szolgáló reagensek és belsőkontroll-fiolák szükséges darabszámát mutatja a reakciók száma alapján.

Minta-előkészítésre szolgáló reagensek és belsőkontroll-fiolák szükséges darabszáma				
Reagens	1-24 reakció	25-48 reakció	49-72 reakció	73-96 reakció
mMicroparticles	1 palack	2 palack	2 palack	2 palack
mLysis	1 palack	2 palack	3 palack	4 palack
mWash 1	1 palack	2 palack	3 palack	4 palack
mWash 2	1 palack	2 palack	3 palack	4 palack
mElution Buffer	1 palack	2 palack	3 palack	4 palack
Belső kontroll ^a	1 új fiola vagy 1 parciális fiola	1 új fiola vagy 2 parciális fiola	2 új fiola vagy 3 parciális fiola	2 új fiola vagy 4 parciális fiola

^a Az új és parciális belsőkontroll-fiolák kombinálva is használhatók.

10. Óvatosan fordítsa át az Abbott mSample Preparation palackokat, hogy homogén oldatot kapjon! Ha bármelyik reagenspalackban a kinyitáskor kristályok észlelhetők, hagyja a reagenst állni szobahőmérsékleten, amíg a kristályok el nem tűnnek! Ne használja a reagenseket addig, amíg a kristályok fel nem oldódtak!
11. Használat előtt vortexeljen minden egyes IC-fiolát 3-szor 2-3 másodpercig!
12. Egy KIZÁRÓLAG A BELSŐ KONTROLLHOZ HASZNÁLATOS kalibrált, precíziós pipettával adjon 500 µl IC-t minden mLysis puffer palackba! Keverje fel a tároló tartalmát 5-10-szeri óvatos átfordítással, ügyelve arra, hogy a keverék minél kevésbé habosodjon fel! A parciális IC-fiolák a kupakkal lezárva -10°C-os vagy ennél alacsonyabb hőmérsékleten tárolhatók a második használatig.
13. Helyezze az alacsony és a magas pozitív kontrollokat, a negatív kontrollt és a kalibrátorokat (amennyiben szükségesek) az Abbott m2000sp mintatartó állványokba!
14. Az inkubáció befejezése után kézzel rázza fel vagy körkörös mozgassa a DBS-mintát tartalmazó csöveket, majd helyezze be őket az Abbott m2000sp mintatartó állványokba!
- MEGJEGYZÉS: Gondoskodjon arról, hogy az Abbott m2000sp mintatartó állványok kifejezetten az Abbott RealTime HCV DBS eljárásához legyenek kalibrálva!**
15. A kifröccsenés elkerülése érdekében óvatosan töltsen fel a mintatartó állványokat! Ha használnál vonalkódot, a csövek címkéjén lévő vonalkódnak jobbra kell néznie a megfelelő leolvasáshoz. Ügyeljen arra, hogy a csöveket stabilan helyezze el a mintatartó állványokban, oly módon, hogy a csövek alja szilárdan az állványok aljára támaszkodjon!

16. Töltse be a feltöltött mintatartó állványokat az Abbott *m2000sp* készüléken az egymás utáni pozíciókba: az első állványt a jobb oldali legszélső pozícióba helyezze, majd az első állványtól balra helyezze el sorban a többi állványt!
17. Helyezze az 5 ml-es reakcióedényeket az Abbott *m2000sp* 1 ml-es alrendszerállványba!
18. Töltse be az Abbott *mSample Preparation System* reageneket és az Abbott 96 Deep-Well Plate-et az Abbott *m2000sp* munkaasztalára az Abbott *m2000sp* Felhasználói kézikönyv Működtetési utasítások című fejezetében leírtak szerint!
19. A Protocol (Protokoll) képernyőn válassza ki a HCV RNA DBS alkalmazásfájlt! Indítsa el a mintaextrakciós protokollt az Abbott *m2000sp* Felhasználói kézikönyv Működtetési utasítások című fejezetében leírtak szerint!
20. Vigye be a kalibrátor- (abban az esetben szükséges, ha nem került még kalibrációs görbe tárolásra az Abbott *m2000rt-n*) és a kontrolltételre vonatkozó értékeket a Sample Extraction: Worktable Setup, Calibrator and Control (Mintaextrakció: Munkaasztal-beállítások, Kalibrátor és kontroll) mezőbe! Az adott tételre vonatkozó értékek az egyes Abbott RealTime HCV kalibrátor- és kontrollkészletkártyákon találhatóak.
21. Az Abbott *m2000sp* Master Mix Addition (Referenciakeverék-hozzáadás) protokollt (28. lépés) a minta-előkészítése befejezésétől számított 1 órán belül el kell indítani.

MEGJEGYZÉS: Az amplifikációs reagenek kezelése előtt vegyen fel új kesztyűt!

22. A minta-előkészítés befejezése után töltse be az amplifikációs reageneket és a referenciakeveréket tartalmazó csövet (amennyiben szükséges) az Abbott *m2000sp* munkaasztalára! A következő táblázat az amplifikációsreagens-csomagok szükséges darabszámát mutatja a reakciók száma alapján. Ha csak 1 amplifikációsreagens-csomagot használ, nincs szükség referenciakeverék-csőre.

Az amplifikációsreagens-csomagok szükséges darabszáma^a

1-24 reakció	25-48 reakció	49-72 reakció	73-96 reakció
1 új; legfeljebb 4 parciális csomag	2 új; legfeljebb 4 parciális csomag	3 új; legfeljebb 4 parciális csomag	4 új vagy parciális csomag

^a A kiválasztott parciális csomagokkal vizsgálható maximális reakciószám meghatározásával kapcsolatos készletgazdálkodási utasításokat lásd az Abbott *m2000sp* Felhasználói kézikönyvben (listaszám: 09K20; verziószám: 6 vagy nagyobb)!

- A parciális amplifikációsreagens-csomagok kizárólag ugyanazon az Abbott *m2000sp* készüléken használhatók, amelyet a reagenscsomag első alkalommal való előkészítéséhez használt. Ha egy amplifikációsreagens-csomagot a második alkalommal egy másik készüléken használ, ez hibát eredményez, ami késleltetheti a futtatást.
- A parciális és új amplifikációsreagens-csomagok használhatók együtt.

FONTOS: A parciális amplifikációsreagens-csomagokat -10°C-os vagy ennél alacsonyabb hőmérsékleten kell tárolni közvetlenül a második alkalommal való használatig. Győződjön meg arról, hogy a referenciakeverék felolvadt-e, mielőtt a parciális csomago(ka)t betölti az Abbott *m2000sp* munkaasztalára! Miután a második alkalommal használandó parciális amplifikációsreagens-csomagokat kiveszi a -10°C-os tárolóból, 25 percen belül fel kell őket használni. A 25 perc leteltével a fel nem használt reagenscsomagokat ártalmatlanítani kell. Az összesen 25 perces szobahőmérsékleten való tárolási időtartamba beleértendő az az idő is, amikor a csomagokat már kivette a tárolóból, de még nem használta.

23. Az amplifikációs reagenek kinyitása előtt gondoskodjon arról, hogy az új amplifikációsreagens-csomagok tartalma a fiolák alján legyen: álló helyzetbe állítva ütögesse a fiolákat a munkaasztalhoz 5-10-szer!
- A második alkalommal használandó parciális amplifikációsreagens-csomagokat ne ütögesse a munkaasztalhoz, mert az ütögetés következtében a referenciakeverék egy része a kupakba kerülhet!

24. Távolítsa el a kupakokat! Ha egy új amplifikációsreagens-csomagot másodszori használat céljából eltárol, a palackokat a kupakkal vissza kell zárnia. Ha a reagenspalackok lezárásához az eredeti kupakokat szeretné használni, tegye félre az eredeti kupakokat! Ha a reagenspalackok lezárásához új kupakokat szeretne használni, az eredeti kupakokat ártalmatlaníthatja.

Ha az uracil N-glikoziláz (UNG) eljárást használja a szennyeződés kiküszöbölésére, kövesse az alábbi utasításokat!

25. Egy KIZÁRÓLAG REAGENSEKHEZ HASZNÁLATOS PIPETTÁVAL adja az UNG (listaszám: 6L87-02) meghatározott mennyiségét (1 U/μl) az új és parciális amplifikációsreagens-csomagok 3. pozíciójában lévő reagensfiolába! Kézzel keverje össze az összes parciális csomag tartalmát a pipettába való óvatos felszívással és kinyomással! Az új csomagok tartalmát ne keverje össze!
- Az alábbi táblázat segítségével határozhatja meg az új és parciális amplifikációsreagens-csomagok 3. pozíciójában lévő reagensfiolába adandó UNG mennyiségét! Az új reagenscsomagok 3. pozíciójában lévő reagensfiola a hőstabil rTth polimeráz enzimet tartalmazza. A parciális reagenscsomagok 3. pozíciójában lévő reagensfiola a referenciakeveréket tartalmazza.

Az egyes amplifikációsreagens-csomagok 3. pozíciójában lévő reagensfiolába adandó UNG mennyisége

A csomaggal még elvégezhető vizsgálatok száma	Adjon ennyi UNG-t a fiolába (μl)
1	5
2	6
3	7
4	8
5	9
6	10
7	11
8	12
9	13
10	13
11	14
12	15
13	16
14	17
15	18
16	19
17	20
18	21
19	22
20	23
21	24
22	25
23	26
24 (új csomag)	27

MEGJEGYZÉS: A 3. pozícióban lévő reagensfiolába adott UNG mennyisége a reagenscsomaggal még elvégezhető vizsgálatok számától függ, nem pedig a futtatandó minták számától. Az amplifikációsreagens-csomagokra vonatkozó készletgazdálkodási utasításokat, valamint a reagenscsomaggal még elvégezhető vizsgálatok számának megállapítására vonatkozó utasításokat lásd az Abbott *m2000sp* Felhasználói kézikönyvben!

26. A parciális amplifikációs csomagokat az új amplifikációsreagens-csomagoktól balra kell elhelyezni az Abbott *m2000sp* munkaasztalon.
27. Ügyeljen arra, hogy az amplifikációsreagens-csomagok stabilan álljanak készülékben!

28. Válassza ki a megfelelő minta-előkészítési extrakcióhoz tartozó mélycellás tálcát! Indítsa el az Abbott *m2000sp* Master Mix Addition (Referenciakeverék-hozzáadási) protokollt! Kövesse az Abbott *m2000sp* Felhasználói kézikönyv Működtetési utasítások című fejezetében leírt utasításokat!

MEGJEGYZÉS: A kezelőnek nem szabad manuálisan feltöltenie a kiürült/feltöltetlen cellákat az Abbott 96-Well Optical Reaction Plate-ben.

- A mintaextrakció befejezése után az Abbott *m2000sp* automatikusan feltölti az Abbott 96-Well Optical Reaction Plate üres celláit *mElution* pufferrel, amikor egy futtatás során 48 mintánál több minta kerül feldolgozásra. Nem végzi el azonban a tálca feltöltését, ha a futtatás során 48 vagy ennél kevesebb minta kerül feldolgozásra.
- Ha a készülék kéri, hagyja a legalább az *mElution* puffer reagenstárolóját tartalmazó (2. sz. reagensállvány, 6-os pozíció) 2. sz. reagensállványt a helyén! Amennyiben ezt a reagenstárolót már kivette, helyezzen egy *mElution* puffer címkéjű, új reagenstárolót a 2. sz. reagensállvány 6-os pozíciójába! A készülék rendszerfolyadékokat ad a reagenstárolóba, és annak tartalmával feltölti az üres cellákat. Miután a feltöltési folyamat lezárul, a készülék a referenciakeverék-hozzáadásával folytatja a folyamatot.

MEGJEGYZÉS: A készülék automatikus tálcafeltöltési funkciójának használatára vonatkozó utasítások az Abbott *m2000sp* Felhasználói kézikönyv (listaszám: 09K20; verziószám: 6 vagy nagyobb) Működtetési utasítások című 5. fejezetében, a Mintaextrakció-Zárt üzemmód cím alatt találhatók.

- Az Abbott *m2000rt* protokollt (33. lépés) a Master Mix Addition (Referenciakeverék-hozzáadási) protokoll (28. lépés) megkezdésétől számított 50 percen belül el kell indítani.

MEGJEGYZÉS: Ha a 28. lépést követően a futtatás bármilyen okból idő előtt leállításra kerül, új Abbott 96-Well Optical Reaction Plate-et kell használnia, ha az Abbott *m2000sp* Master Mix Addition (Referenciakeverék-hozzáadási) protokollt (28. lépés) megismétli.

29. Kapcsolja be és indítsa el az Abbott *m2000rt* készüléket az amplifikációs munkaterületen!

MEGJEGYZÉS: Az Abbott *m2000rt* készüléknek 15 perces bemelegedési időre van szüksége.

MEGJEGYZÉS: Vegye le a kesztyűjét, mielőtt visszatér a minta-előkészítési munkaterületre!

30. Miután az Abbott *m2000sp* készülék befejezte a minták és a referenciakeverék hozzáadását, zárja le az Abbott 96-Well Optical Reaction Plate-et az Abbott *m2000sp* Felhasználói kézikönyv Működtetési utasítások című fejezetében foglaltak szerint!
31. Helyezze a lezárt optikai reakciótálcát az Abbott Splash-Free Support Base-re az Abbott *m2000rt* készülékbe való átvitel céljából!
- Ha az uracil N-glikoziláz (UNG) eljárást használja, kövesse az alábbi utasításokat:**
32. Helyezze a lezárt optikai reakciótálcát az Abbott Splash-Free Support Base-re és inkubálja szobahőmérsékleten (15-30°C) 10 percig! A szobahőmérsékleten történő inkubálás után vigye át az Abbott Splash-Free Support Base-en lévő Abbott 96-Well Optical Reaction Plate-et az Abbott *m2000rt* készülékhez!
33. Helyezze be az Abbott 96-Well Optical Reaction Plate-et az Abbott *m2000rt* készülékbe! A Protocol (Protokoll) képernyőn válassza a HCV RNA DBS alkalmazásfájlt! Indítsa el a protokollt az Abbott *m2000rt* Felhasználói kézikönyv Működtetési utasítások című fejezetében leírtak szerint!

MEGJEGYZÉS: Ajánlott az *m2000sp* és *m2000rt* szoftver exportálási és importálási funkciójának igénybevétele a vizsgálatkérés CD-ROM vagy hálózati kapcsolat használatával való továbbításához. Ha az Abbott *m2000rt* vizsgálatkérést manuálisan hozza létre, vigye be a mintaazonosítókat a PCR tálca megfelelő pozícióihoz az Abbott *m2000sp* "PCR Plate Results" ("PCR tálca eredményei") részletes adatokat tartalmazó képernyőjén található "Wells for Selected Plate" ("Cellák a kiválasztott tálcához") táblázatnak megfelelően! Lásd az Abbott *m2000sp* Felhasználói kézikönyv 5. fejezetét!

34. Ha egy elkészített referenciakeveréket tartalmazó parciális amplifikációs reagens-csomagot másodszor is használni kíván, zárja le a 3 reagensfolyadékot a félretett vagy új kupakkal (listaszám: 3N20-01), késedelem nélkül tegye be a reagenset a -10°C-os vagy ennél alacsonyabb hőmérsékletű tárolóba, és tárolja fénytől védve, álló helyzetben! A már kifogyott vagy másodszor is használt amplifikációs reagens-csomagokat ártalmatlanítsa!

FONTOS: Azokat az amplifikációs reagenset, amelyeket másodszor is használni kíván, a Master Mix Addition (Referenciakeverék-hozzáadási) protokoll megkezdésétől számított 50 percen belül -10°C-os vagy ennél alacsonyabb hőmérsékletű tárolóba kell helyezni.

FELDOLGOZÁST KÖVETŐ ELJÁRÁSOK

- Távolítsa el az Abbott 96 Deep-Well Plate-et a munkaasztalról és ártalmatlanítsa az Abbott *m2000sp* Felhasználói kézikönyvben foglaltak szerint!
- Helyezze az Abbott 96-Well Optical Reaction Plate-et egy lezárható műanyag tasakba és ártalmatlanítsa az Abbott *m2000rt* Felhasználói kézikönyvben foglaltak szerint a tálca kezeléséhez használt kesztyűvel együtt!
- Mielőtt újra használná, tisztítsa meg az Abbott Splash-Free Support Base-t az Abbott *m2000rt* Felhasználói kézikönyvben foglaltak szerint!

MINŐSÉG-ELLENŐRZÉSI ELJÁRÁSOK

Abbott *m2000rt* optikai kalibráció

Lásd az Abbott RealTime HCV teszt (listaszám: 4J86) termékismertető nyomtatványát!

Tesztkalibrálás

Lásd az Abbott RealTime HCV teszt (listaszám: 4J86) termékismertető nyomtatványát!

Az Abbott *m2000sp* és Abbott *m2000rt* készülék használatával végzett DBS vizsgálat esetén: Az Abbott RealTime HCV kalibrálás elfogadását és tárolását követően az 6 hónapig használható. Ez idő alatt az összes, ezt követő mintát újabb kalibrálás nélkül lehet vizsgálni, kivéve, ha:

- Új tételszámú Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit kerül használatbavételre.
- Új tételszámú Abbott *mSample* Preparation System (4 x 24 Preps) kerül használatbavételre.
- Új Abbott RealTime HCV RNA DBS alkalmazásfájlt kerül telepítésre.

Az inhibíció kimutatása

Lásd az Abbott RealTime HCV teszt (listaszám: 4J86) termékismertető nyomtatványát!

Negatív és pozitív kontrollok

Lásd az Abbott RealTime HCV teszt (listaszám: 4J86) termékismertető nyomtatványát!

A laboratórium szennyeződésének ellenőrzése

Lásd az Abbott RealTime HCV teszt (listaszám: 4J86) termékismertető nyomtatványát!

A DBS-MINTÁK EREDMÉNYEI

Az Abbott *m2000rt* DBS protokoll futtatásával kapott, kiadott DBS-mintakoncentráció annak a teljesvérmintában lévő plazmának a HCV-víruskoncentrációja, amelyből a DBS-minta készült. Az Abbott *m2000rt* készülék automatikusan kijelzi az eredményeket az Abbott *m2000rt* munkaállomáson. A teszteredmények kiadhatók nemzetközi egység (IU)/ml vagy log IU/ml mértékegységben.

Eredmények értelmezése

Eredmény	Értelmezés
Not detected (Nem kimutatható)	A célszekvencia nem mutatható ki
<2.66 Log IU/mL ^a (<2,66 log IU/ml)	Kimutatható
2.66 - 8.00 Log IU/mL (2,66-8,00 log IU/ml)	
>8.00 Log IU/mL (>8,00 log IU/ml)	> ULQ ^b

^a 462 IU/ml

^b ULQ = felső meghatározási határ

AZ ELJÁRÁS KORLÁTAI

- **IN VITRO DIAGNOSZTIKAI ALKALMAZÁSRA**
- A teszt optimális teljesítménye akkor érhető el, ha a mintákat megfelelően gyűjti, tárolja és szállítja a vizsgálat helyszínére (lásd e termékismertető nyomtatvány **MINTÁK GYŰJTÉSE, TÁROLÁSA ÉS A VIZSGÁLATI HELYSZÍNRE VALÓ SZÁLLÍTÁSA** címe alatt).
- A DBS használatával végzett Abbott RealTime HCV teszthez a szükséges DBS-minták elkészítéséhez EDTA-t tartalmazó csövekbe levett teljesvérminták használhatók. Egyéb véralvadástgátlók használatát a DBS használatával végzett Abbott RealTime HCV teszt esetében nem érvényesítették.
- A DBS használatával végzett Abbott RealTime HCV tesztet kizárólag olyan személyzet használhatja, akik megfelelő képzésben részesültek a DBS-készítési és előkezelési eljárásokat, valamint a molekuláris diagnosztikai tesztek eljárásait és az Abbott m2000 készülékek használatát illetően.
- A készülékek és a teszteljárások csökkentik az amplifikációs termékkel való szennyeződés kockázatát. Mindazonáltal a kalibrátorok, a pozitív kontrollok vagy a minták által okozott nukleinsav-szennyeződést a jó laboratóriumi gyakorlat alkalmazásával és az e termékismertető nyomtatványban leírt eljárások gondos betartásával el kell kerülni.
- Ahogy minden diagnosztikai teszt esetében, a DBS használatával végzett RealTime HCV teszt eredményeit is az egyéb klinikai és laboratóriumi eredményekkel összefüggésben kell értelmezni. A „Not Detected” (Nem kimutatható) eredményt adó minták esetében nem tételezhető fel az, hogy azok HCV-RNS-re negatívak.
- A DBS-kártyák nem megfelelő elkészítése, szárítása, tárolása és kezelése pontatlan vizsgálati eredményekhez vezethet.
- Ahlstrom-Munktel TFN és Whatman 903 DBS-kártyák használhatók. Egyéb kártyák használatát az Abbott RealTime HCV teszt esetében nem érvényesítették.

KONKRÉT TELJESÍTMÉNYJELLEMZŐK DBS-MINTÁK VIZSGÁLATA ESETÉN

Kimutatási határ (LoD)

Az Abbott RealTime HCV teszt LoD-ja a DBS-mintatípus vizsgálata esetén 462 IU/ml. A LoD meghatározása a WHO HCV-re negatív teljes vérről hígított következő nemzetközi szabványából készült hígítási sor vizsgálatával történt: WHO International Standard for Hepatitis C Virus RNA. Az egyes HCV-RNS-koncentrációk vizsgálatát 4 amplifikációsreagens-tétel használatával végezték 3 napon keresztül. A DBS használatával végzett Abbott RealTime HCV teszt analitikai érzékenység terén tanúsított teljesítményére vonatkozó reprezentatív eredményeket az 1. táblázat foglalja össze.

1. táblázat: A DBS használatával végzett Abbott RealTime HCV teszt kimutatási határa (LoD)

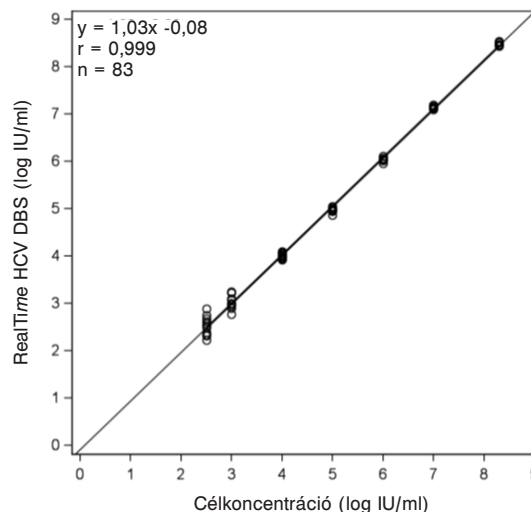
HCV-RNS (IU/ml)	Vizsgált minták száma	Kimutatott minták száma	Százalékos kimutatási arány
500	84	83	99
400	84	80	95
350	84	75	89
300	84	73	87
150	84	54	64
50	84	26	31

Az adatok Probit elemzése szerint a beszárított vérmintában 95%-os valószínűséggel kimutatott HCV-RNS-koncentráció 462 IU/ml (95%-os CI: 381-593 IU/ml) volt.

Linearitási tartomány

Az Abbott RealTime HCV teszt felső meghatározási határa (ULQ) 100 millió IU/ml, alsó meghatározási határa pedig a DBS vizsgálata esetében meghatározott LoD-dal (462 IU/ml) azonos. HCV Armored RNS HCV-re negatív teljes vérben való hígításával elkészítésre került egy 200 millió IU/ml és 316 IU/ml közötti koncentrációjú, 7 tagú DBS-panel. A DBS használatával végzett Abbott RealTime HCV teszt linearitására vonatkozó reprezentatív eredményeket az 1. ábra mutatja.

1. ábra: A DBS használatával végzett Abbott RealTime HCV teszt linearitása



A DBS használatával végzett Abbott RealTime HCV teszt a vizsgált HCV-RNS-koncentrációs tartományban (316-200 millió IU/ml, 2,5-8,3 log IU/ml) lineárisnak bizonyult.

Specifititás

A DBS használatával végzendő Abbott RealTime HCV teszt célspecifitása 99,5% vagy ennél nagyobb. A specifitást 119 HCV szeronegatív minta 2 amplifikációsreagens-tétel használatával végzett vizsgálatával határozták meg. A teljes specifitás 100%-os (119/119) volt.

Precízió

A precíziót egy 316 IU/ml és 200 millió IU/ml közötti HCV-RNS-célkoncentrációjú, 6 tagú DBS-panel vizsgálatával értékelték. Az 5 log IU/ml-nél (100 000 IU/ml) alacsonyabb koncentrációjú paneltagokat HCV-re pozitív klinikai minták HCV-re negatív teljes vérről való hígításával, míg az 5 log IU/ml-nél (100 000 IU/ml) nagyobb koncentrációjú paneltagokat HCV Armored RNS HCV-re negatív teljes vérről való hígításával készítették. Mindegyik paneltagot 5 példányban vizsgálták, naponta egyszer, 5 napon keresztül, 3 Abbott m2000sp/rt készülékpáron, 3 amplifikációsreagens-tétel használatával. Meghatározták a futtatáson belüli, futtatások közti és tesztek közti (futtatáson belüli és futtatások közti) szórás (SD). A DBS használatával végzendő Abbott RealTime HCV tesztet úgy tervezték, hogy tesztek közti szórása (SD) legfeljebb 0,25 log IU/ml HCV-RNS legyen 10000-100 millió IU/ml HCV-koncentrációjú minták esetében. A DBS használatával végzett Abbott RealTime HCV teszt precíziójára vonatkozó reprezentatív eredményeket a 2. táblázat foglalja össze.

2. táblázat: A DBS használatával végzett Abbott RealTime HCV teszt precíziója

Paneltag	N	Átlagkoncentráció (IU/ml)	Átlagkoncentráció (log IU/ml)	Futtatáson belüli SD ^{a,e}	Futtatások közötti SD ^a	Tesztek közötti SD ^{a,b}	Tételek/Készülékek közötti SD ^a	Teljes ^{c,e}
1	63 ^d	420	2,62	0,26	0,07	0,27	0,00	0,27
2	75	1435	3,16	0,23	0,00	0,23	0,09	0,25
3	75	13211	4,12	0,06	0,04	0,07	0,05	0,09
4	75	395427	5,60	0,04	0,03	0,05	0,02	0,05
5	75	14008770	7,15	0,12	0,04	0,13	0,05	0,14
6	75	316713566	8,50	0,04	0,03	0,05	0,05	0,07

^a A szórásértékek (SD) mértékegysége log IU/ml.

^b A tesztek közötti érték magában foglalja a futtatáson belüli és futtatások közötti értéket is.

^c A teljes SD magában foglalja a futtatáson belüli, a futtatások közötti, valamint a tételek/készülékek közötti SD-t is.

^d Az 1. paneltag átlagkoncentrációja a LLoQ-nál kisebb. A precízióra vonatkozó becslések a számításba bevont példányok értékén alapulnak.

^e A futtatáson belüli SD más néven Ismételhetőség. A teljes SD más néven Reprodukálhatóság.

Az 1. paneltag (LLoQ-hoz közeli) ismételhetősége 0,26 log IU/ml, reprodukálhatósága 0,27 log IU/ml volt, míg a 2. paneltag (LLoQ közeli) ismételhetősége 0,23 log IU/ml, reprodukálhatósága pedig 0,25 log IU/ml volt. Az 5. paneltag (ULoQ közeli) ismételhetősége 0,12 log IU/ml, reprodukálhatósága 0,14 log IU/ml, míg a 6. paneltag (ULoQ közeli) ismételhetősége 0,04 log IU/ml, reprodukálhatósága pedig 0,07 log IU/ml volt.

Korreláció

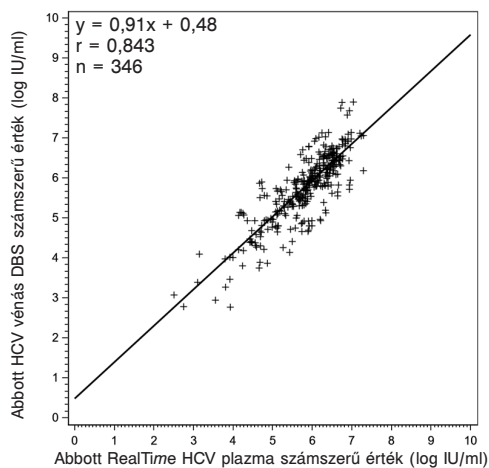
A számszerű HCV-RNS-értékek a beszárított vérminta használatával végzett Abbott RealTime HCV teszt és a plazma használatával végzett, CE-jelöléssel rendelkező, viszonyítási teszt (Abbott RealTime HCV teszt) alkalmazásával kerültek összehasonlításra. Az elemzésbe összesen 346 alanytól származó plazma- és DBS-minták (Grúziában, Kamerunban és Görögországban gyűjtött és vizsgált minták) kerültek bevonásra. A DBS használatával végzett Abbott RealTime HCV teszttel vénás vérből előállított DBS-t és (ujjszúrással nyert) kapilláris vérből előállított DBS-t egyaránt vizsgálták. A tesztek dinamikus tartományába eső minták számszerű eredményeit a legkisebb négyzetek lineáris regressziós módszerrel és a Bland-Altman torzítási módszerrel elemezték (kapilláris DBS vs. plazma N=346, vénás DBS vs. plazma N=346, és kapilláris DBS vs. vénás DBS N=345). A kapilláris DBS és a plazma közötti korreláció vizsgálata esetében a korrelációs együttható 0,843, a meredekség 0,91 (95% CI 0,85-0,97), a kezdőérték pedig 0,48 log IU/ml (95%-os CI: 0,12-0,84) volt (**2. ábra**). A vénás DBS és a plazma közötti korreláció vizsgálata esetében a korrelációs együttható 0,840, a meredekség 0,94 (95%-os CI: 0,88-1,00), a kezdőérték pedig 0,31 log IU/ml (95%-os CI: -0,07-0,69) volt (**3. ábra**). A kapilláris DBS és a vénás DBS közötti korreláció vizsgálata esetében a korrelációs együttható 0,943, a meredekség 0,91 (95%-os CI: 0,87-0,94), a kezdőérték pedig 0,53 log IU/ml (95%-os CI: 0,33-0,72) volt (**4. ábra**). Továbbá ugyanezekhez az összehasonlításokhoz a Bland-Altman görbéket az **5.**, **6.** és **7. ábra** mutatja. A kapilláris DBS és a plazma közötti átlagos eltérés -0,05 log IU/ml volt. A vénás DBS és a plazma közötti átlagos eltérés -0,04 log IU/ml volt. A kapilláris DBS és a vénás DBS közötti átlagos eltérés -0,02 log IU/ml volt.

A kapilláris DBS és a plazma közötti, előrejelzett eltérés a LLoQ és ULoQ célszinteken kerültek értékelésre. Ezenkívül a vénás DBS és a plazma közötti becsült eltérés is értékelésre került a LLoQ és ULoQ célszinteken. Az előrejelzett eltérés összefoglalását lásd a **3. táblázatban!**

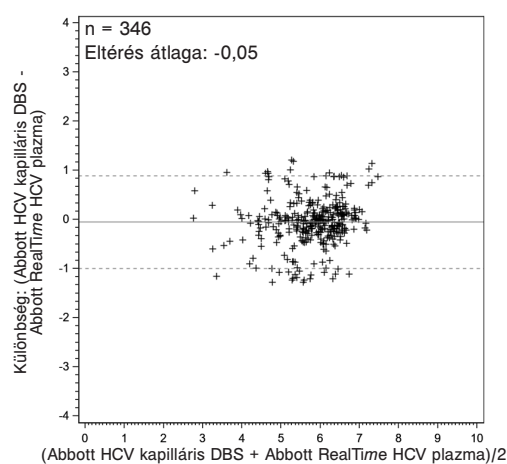
3. táblázat: Előrejelzett eltérés a (kapilláris vagy vénás) DBS és a plazma között, a LLoQ és az ULoQ szintjén

Összehasonlítás	Szint	Vírusterhelés célszintje (log IU/ml)	Előrejelzett eltérés (log IU/ml)
Kapilláris DBS vs. plazma	LLoQ	2,66	(0,24)
	ULoQ	8,00	(-0,26)
Vénás DBS vs. plazma	LLoQ	2,66	(0,15)
	ULoQ	8,00	-0,17

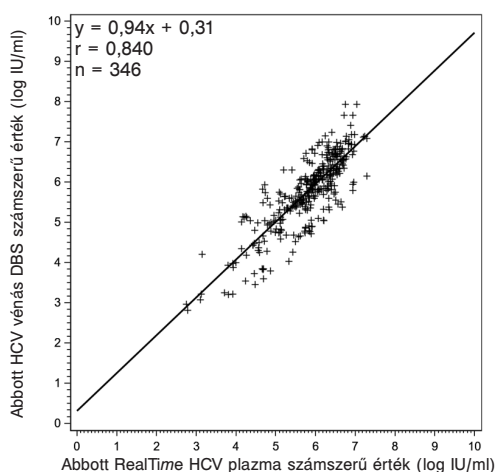
2. ábra. Kapilláris DBS és plazma



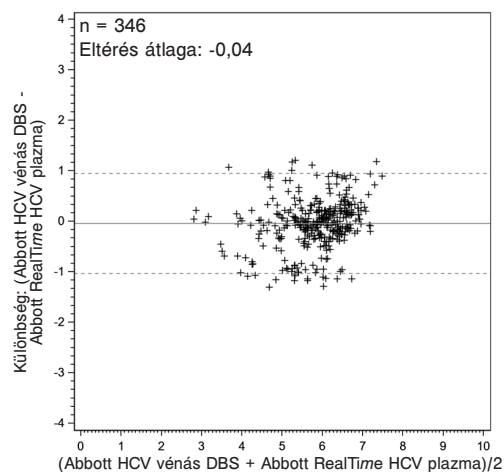
5. ábra. Kapilláris DBS vs. plazma



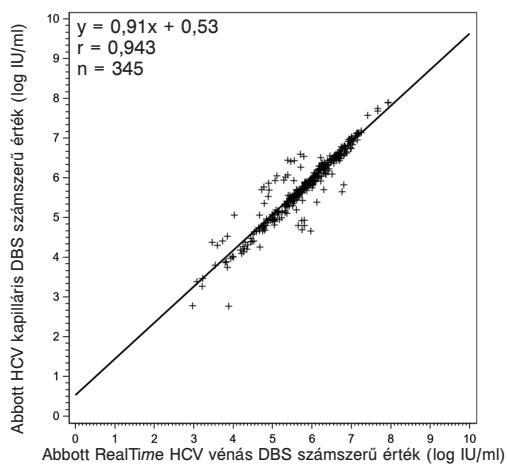
3. ábra. Vénás DBS és plazma



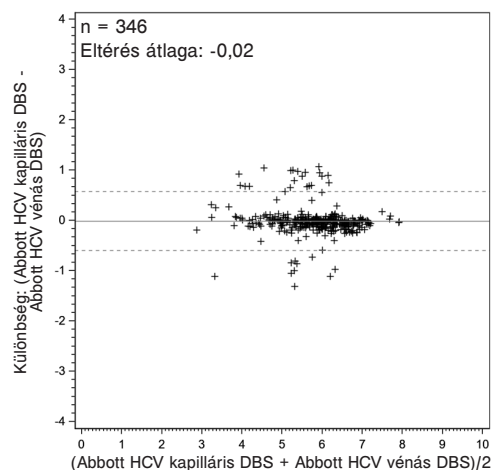
6. ábra. Vénás DBS vs. plazma



4. ábra. Kapilláris DBS és vénás DBS



7. ábra. Kapilláris DBS vs. vénás DBS



IRODALOMJEGYZÉK

1. Gower E, Estes C, Blach S, Razavi-Shearer K, Razavi H. Global epidemiology and genotype distribution of the hepatitis C virus infection. *J Hepatol.* 2014;61(1 Suppl):S45-S57. doi:10.1016/j.jhep.2014.07.027
2. Guidelines for the screening, care and treatment of persons with chronic hepatitis C infection. World Health Organization (WHO); updated April 2016. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/205035>
3. AASLD/IDSA HCV guidance panel. *Recommendations for testing, managing, and treating hepatitis C.* AASLD/IDSA; updated October 24, 2022. <https://www.hcvguidelines.org/>
4. European Association for the Study of the Liver. EASL Recommendations on Treatment of Hepatitis C 2018. *J Hepatol.* 2018;69(2):461-511. doi:10.1016/j.jhep.2018.03.026
5. Miller MH, Agarwal K, Austin A, et al. Review article: 2014 UK consensus guidelines - hepatitis C management and direct-acting anti-viral therapy. *Aliment Pharmacol Ther.* 2014;39(12):1363-1375. doi:10.1111/apt.12764
6. Davis GL, Esteban-Mur R, Rustgi V, et al. Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin for the treatment of relapse of chronic hepatitis C. International Hepatitis Interventional Therapy Group. *N Engl J Med.* 1998;339(21):1493-1499. doi:10.1056/NEJM199811193392102
7. Manns MP, McHutchison JG, Gordon SC, et al. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial. *Lancet.* 2001;358(9286):958-965. doi:10.1016/s0140-6736(01)06102-5
8. Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR, et al. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med.* 2002;347(13):975-982. doi:10.1056/NEJMoa020047
9. Hadziyannis SJ, Sette H Jr, Morgan TR, et al. Peginterferon-alpha2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose. *Ann Intern Med.* 2004;140(5):346-355. doi:10.7326/0003-4819-140-5-200403020-00010
10. Orlent H, Deltenre P, Francque S, et al. Update of the Belgian Association for the Study of the Liver guidelines for the treatment of chronic hepatitis C genotype 1 with protease inhibitors. *Acta Gastroenterol Belg.* 2012;75(2):245-259.
11. Halfon P, Bourlière M, Pénaranda G, Khiri H, Ouzan D. Real-time PCR assays for hepatitis C virus (HCV) RNA quantitation are adequate for clinical management of patients with chronic HCV infection. *J Clin Microbiol.* 2006;44(7):2507-2511. doi:10.1128/JCM.00163-06
12. Kowdley KV, Nelson DR, Lalezari JP, et al. On-treatment HCV RNA as a predictor of sustained virological response in HCV genotype 3-infected patients treated with daclatasvir and sofosbuvir. *Liver Int.* 2016;36(11):1611-1618. doi:10.1111/liv.13165
13. Yoshida EM, Sulkowski MS, Gane EJ, et al. Concordance of sustained virological response 4, 12, and 24 weeks post-treatment with sofosbuvir-containing regimens for hepatitis C virus. *Hepatology.* 2015;61(1):41-45. doi:10.1002/hep.27366
14. WHO Guidelines on Hepatitis B and C Testing. World Health Organization (WHO); 2017. <https://www.who.int/publications/i/item/9789241549981>
15. Saldanha J, Heath A, Aberham C, et al. World Health Organization collaborative study to establish a replacement WHO international standard for hepatitis C virus RNA nucleic acid amplification technology assays. *Vox Sang.* 2005;88(3):202-204. doi:10.1111/j.1423-0410.2005.00606.x

TECHNIKAI SEGÍTSÉGNYÚJTÁS

Technikai segítségért hívja az Abbott Technical Services-t (Amerikai Egyesült Államokban: 1-800-553-7042, Amerikai Egyesült Államokon kívül: +49-6122-580), vagy látogasson el az Abbott honlapjára: www.molecular.abbott!

A BIZTONSÁGOSSÁGRÓL ÉS TELJESÍTŐKÉPESSÉGRŐL KÉSZÍTETT ÖSSZEFOGLALÓRA VONATKOZÓ NYILATKOZAT

Az ennek az eszköznek a biztonságosságáról és teljesítőképességéről készített összefoglaló (A biztonságosságra és a teljesítőképességre vonatkozó összefoglaló [SSP]) a következő weboldalon érhető el: <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>. Az orvostechikai eszközök európai adatbázisának (EUDAMED) létrehozását követően az SSP-k ezen a weboldalon találhatók meg. Az eszközt az eszköz külső csomagolásán található UDI-DI (UDI eszközazonosító) segítségével keresheti meg.

Az Abbott RealTime HCV-t az Európai Unióba az Abbott Diagnostics GmbH (székhely: Max-Planck-Ring 2, 65205 Wiesbaden, Germany) importálja.



Abbott Molecular Inc.
1300 East Touhy Avenue
Des Plaines, IL 60018 USA



Abbott GmbH
Max-Planck-Ring 2
65205 Wiesbaden, Germany

© 2020, 2024 Abbott. Minden jog fenntartva.

51-608440/R3

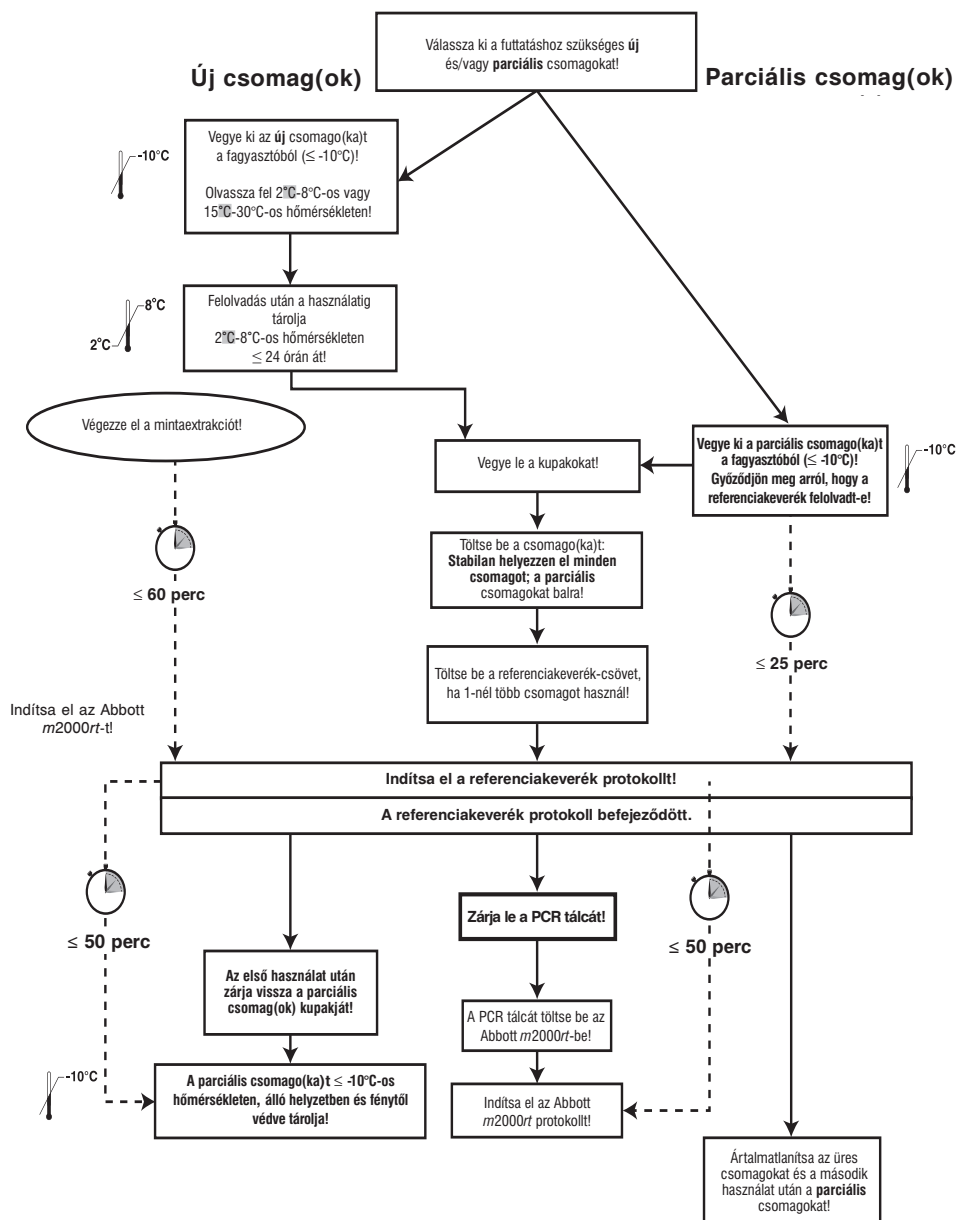
Augusztus 2024.

1. MELLÉKLET - AZ ABBOTT REALTIME MTB HCV AMPLIFIKÁCIÓS REAGENS MEGHOSSZABBÍTOTT HASZNÁLATÁT BIZTOSÍTÓ FUNKCIÓ ÁTTEKINTÉSE

Az amplifikációs reagens meghosszabbított használatát biztosító funkció lehetővé teszi az amplifikációsreagens-csomag és a belső kontroll (IC) összesen 2 alkalommal való használatát. Azokra az amplifikációsreagens-csomagokra, amelyek a referenciakeverék elkészítése céljából még nem kerültek használatra, új amplifikációsreagens-csomagokként hivatkozunk. A már egyszer használt, az elkészített referenciakeveréket már tartalmazó amplifikációsreagens-csomagokra **parciális** amplifikációsreagens-csomagokként hivatkozunk. További részletes információkat lásd e nyomtatványban!

Tárolási feltételek (amplifikációsreagens-csomag és belsőkontroll-fiolák)		
A csomag típusa	Tárolási hőmérséklet	Tárolási időtartam
Új csomagok	-10°C vagy ennél alacsonyabb	A címkén feltüntetett dátumig
Új IC	-10°C vagy ennél alacsonyabb	A címkén feltüntetett dátumig
Parciális csomagok	-10°C vagy ennél alacsonyabb (fénytől védve)	Legfeljebb 14 na az első használatot követően
Parciális IC	-10°C vagy ennél alacsonyabb	Legfeljebb 14 nap az első használatot követően

- Ha a szennyeződés kiküszöbölése céljára az UNG eljárást használja, a vonatkozó utasításokat lásd a Tesztprotokoll cím alatti 25. és 32. lépésben!



- A meghosszabbított használatra alkalmas amplifikációsreagens-csomagoknak a vonalkód felett 6 jegyű sorozatszámmal kell rendelkezniük.
- A **parciális** amplifikációsreagens-csomagok a második alkalommal kizárólag azon a készüléken használhatók, amelyen első alkalommal használták őket. Amennyiben másik készüléken használja őket, ez feldolgozási hibát eredményezhet, ami kiséleltetheti a mintafuttatást.
- A **parciális** és az **új** amplifikációsreagens-csomagok használhatók együtt. A készülékbe futtatás céljából behelyezett összes amplifikációsreagens-csomagnak ugyanazzal a tételszámmal kell rendelkeznie.

Abbott RealTime HCV

Kurumuş Kan Damlası (DBS) için Ek

tr

GTIN

REF

04J86-010

IVD

51-608440/R3

REF 04J86-010

51-608440/R3

NOT: Değişiklikler Koyu Renkle Gösterilmiştir

Kullanılan Sembollerin Anlamları	
	Küresel Ticari Ürün Numarası
	Referans Numarası
	İn Vitro Diagnostik Tıbbi Cihaz
	İzin Verilen Maksimum Süre
	Üst Sıcaklık Sınırı
	Sıcaklık Sınırı
	Avrupa Topluluğu/Avrupa Birliğinde Yetkili Temsilci
	Üretici

ULUSLARARASI MÜŞTERİ HİZMETLERİ: ABBOTT TEMSİLCİNİZLE GÖRÜŞÜN

Kullanmadan önce bu prospektüs dikkatle okunmalıdır. Prospektüs talimatlarına uygun hareket edilmelidir. Bu prospektüsteki talimatlardan herhangi bir sapma olursa analiz sonuçlarının güvenilirliği garanti edilemez.

Bu Kullanım Talimatları (IFU), Abbott RealTime HCV analizi (Liste No. 4J86) prospektüsü, özellikle Kurumuş Kan Damlası (DBS) numune türü için ek niteliğindedir.

KULLANICI BİLDİRİMİ

Bu cihazla ilgili olarak ortaya çıkan tüm ciddi olaylar, üreticiye ve kullanıcının ve/veya hastanın bulunduğu üye ülkenin yetkili makamına bildirilmelidir. Üreticiye bildirimde bulunmak için bu talimatların **müşteri hizmetleri veya** teknik destek bölümünde verilen iletişim bilgilerine bakın.

AD

Abbott RealTime HCV

DBS İÇİN KULLANIM AMACI

Abbott RealTime HCV analizi, HCV enfekte kişilerden kurumuş kan damlası (DBS) olarak (yani venipunktür veya kapiller kan yoluyla) kartlara alınan tam kan damlasında hepatit C viral RNA'nın (HCV RNA) tayinine yönelik bir in vitro ters transkripsiyon polimeraz zinciri reaksiyonu (RT-PCR) analizidir. Abbott RealTime HCV analizi, antiviral tedavi uygulanan HCV enfekte hastaların yönetiminde yardımcı olarak kullanılmak üzere tasarlanmıştır. Abbott RealTime HCV analizi, HCV için kan, plazma, serum veya doku bağışçısı taramasına yönelik değildir veya HCV enfeksiyonunun varlığını teyit etmek üzere tanı testi olarak kullanılmamalıdır.

HEDEFLenen KULLANICI

Abbott RealTime HCV testi için hedeflenen kullanıcılar laboratuvar personeldir.

TESTİN ÖZETİ VE AÇIKLAMASI

Hepatit C virüsü (HCV) karaciğer hastalığının ana nedenlerinden biridir. Nüfusun yaklaşık %1.1'inin kronik olarak hepatit C¹ ile enfekte olduğu ve her yıl hepatit C ile ilgili karaciğer hastalığından yaklaşık 700,000 kişinin öldüğü tahmin edilmektedir.² HCV, pozitif dizili bir RNA virüsüdür ve temel olarak intravenöz ilaç kullanımı ve kan ürünleri yoluyla bulaşır. HCV enfekte bireylerin yaklaşık %55 ila %85'inde kronik hepatit gelişirken kronik enfekte bireylerin yaklaşık %30'unda siroz meydana gelir.¹ Siroz

olan hastalarda hepatosellüler karsinomun yıllık insidansı %2 ile 4 arasındadır.¹

Periferik kandaki HCV RNA seviyesinin kantitatif ölçümünün, çeşitli anti-HCV tedavilerinin yönetiminde önemli bir parametre olduğu gösterilmiştir.⁶⁻¹³ Doğrudan etki eden antiviral rejimlerin gelişmesiyle HCV enfeksiyonunun tedavileri de önemli ölçüde ilerlemiştir. Anti-HCV tedavilerinin amacı, saptanabilir HCV RNA'nın sürekli yokluğu ile tanımlanan sürdürülebilir virolojik yanıt (SVR) elde etmektir.²⁻⁵ HCV viral yük ölçümleri, tedavi süresini ve yanıt doğrultusunda düzenlenen tedaviyi kişiselleştirmek veya antiviral tedavinin sürdürülebilir veya sürdürülebilir olmayan virolojik yanıtını belirlemek ve tahmin etmek için kullanılır.²⁻⁵ Dünya genelindeki HCV yükünün büyük bir kısmı düşük ve orta gelirli ülkelerde (LMIC'ler) bulunmaktadır.¹⁴ Kaynakları kısıtlı olan bu bölgelerde aktif HCV enfeksiyonlu hastaların tanımlanması çok sınırlıdır. Kurumuş Kan Damlası (DBS) halinde alınan tam kan, HCV RNA testi için serum veya plazmaya alternatif olarak kullanılabilir. DBS, serum veya plazma numunelerinin alınması, işlenmesi, saklanması ve sevkıyatı ile ilgili birçok lojistik ve teknik sınırlamayı ortadan kaldıran uygun bir seçenektir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) Hepatit C Testi Kılavuzları, kaynakların sınırlı olduğu bölgelerde HCV virolojik testlerinde DBS kullanımına ilişkin önerileri içermektedir.¹⁴

DBS için Abbott RealTime HCV analizi, DBS'de HCV RNA'nın tayini için homojen gerçek zamanlı floresan saptamasıyla birlikte ters transkripsiyon polimeraz zinciri reaksiyonu (RT-PCR) teknolojisini kullanır. HCV genomunun korunmuş bir bölgesinin seçilmesi, 1 ile 6 arasındaki genotiplerin saptanmasını sağlar. Analiz, Hepatit C Virüsü RNA'sına (NIBSC Kodu 96/798)¹⁵ Yönelik 2. WHO Uluslararası Standardına göre standardize edilmiştir ve sonuçlar uluslararası birim/mL (IU/mL) cinsinden veya logaritma tabanlı 10 eşdeğeri olarak raporlanır.

PROSEDÜRÜN BİYOLÖJİK PRENSİPLERİ

DBS için Abbott RealTime HCV analizi 3 reaktif kiti gerektirir:

- Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit
- Abbott RealTime HCV Control Kit
- Abbott RealTime HCV Calibrator Kit

DBS için Abbott RealTime HCV analizi, insan DBS numunelerindeki HCV RNA genomundan amplifiye ürün üretmek için RT-PCR'i kullanır. DBS için Abbott RealTime HCV analizinin adımları analiz öncesi DBS işlemi, numune hazırlama, RT-PCR toplanması, amplifikasyon, saptama ve sonuç raporlamadan oluşur. Analiz öncesi DBS işlemi, numune **Abbott m2000sp** sistemine yüklenmeden önce Abbott mSample Preparation System DBS Buffer Kit kullanılarak gerçekleştirilir. Analiz öncesi DBS işleminin ardından sonraki tüm adımlar **Abbott m2000sp** ve **Abbott m2000rt** sistemleri tarafından otomatik olarak yürütülür. Numune hazırlama, RT-PCR toplanması, amplifikasyon ve saptama hakkında daha fazla detay için Abbott RealTime HCV analizi (Liste No. 4J86) prospektüsüne bakın.

AMPLİFİKASYON REAKTİFİ GENİŞLETİLMİŞ KULLANIM

İsteğe bağlı amplifikasyon reaktifi genişletilmiş kullanım özelliği, amplifikasyon reaktif paketlerinin ve IC'nin toplam 2 kez kullanılmasını sağlar. Hazırlanmış master mix içeren amplifikasyon reaktif paketleri, -10°C veya altında, kapakları kapatılmış ve ışıktan korunmuş halde ikinci kullanımdan önce 14 güne kadar saklanabilir. Dahili kontrol (IC), kapalı şekilde -10°C veya altında, ikinci kullanımdan önce 14 güne kadar saklanabilir. İkinci kullanım, reaktifin son kullanma tarihini geçmemelidir. Bu IFU belgesinin Ek 1 bölümünde bu özelliğe genel bir bakış sunulmuştur.

Bu IFU boyunca, henüz kullanılmamış amplifikasyon reaktif paketleri ve IC, yeni (yani ilk kullanım) amplifikasyon reaktif paketleri ve IC olarak adlandırılacaktır. Bir kez kullanılmış ve hazırlanmış master mix içeren amplifikasyon reaktif paketleri, kısmi amplifikasyon reaktif paketleri olarak adlandırılacaktır. Bir kez kullanılan IC flakonları, kısmi IC flakonları olarak adlandırılacaktır.

NÜKLEİK ASİT KONTAMİNASYONUNUN ÖNLENMESİ

Bkz. Abbott RealTime HCV analizi (Liste No. 4J86) prospektüsü.

REAKTİFLER

Bkz. Abbott RealTime HCV analizi (Liste No. 4J86) prospektüsü.

UYARILAR VE ÖNLEMLER

IVD

İn Vitro Diagnostik Kullanım İçindir

DBS için Abbott RealTime HCV analizi, HCV için kan, plazma, serum veya doku bağışçısı taramasına yönelik değildir veya HCV enfeksiyonunun varlığını teyit etmek üzere tanı testi olarak kullanılmamalıdır.

GÜVENLİK ÖNLEMLERİ

Bkz. Abbott RealTime HCV analizi (Liste No. 4J86) prospektüsü. DBS için Abbott RealTime HCV analizi yalnızca **Abbott m2000sp** ve **Abbott m2000rt** cihazlarını kullanır.

ÖZEL ÖNLEMLER

DBS Numunelerine Yönelik Kullanım Önlemleri

DBS için Abbott RealTime HCV analizi yalnızca **NUMUNE ALMA, SAKLAMA VE TEST MERKEZİNE NAKLİ** bölümünde açıklandığı şekilde kullanılan ve saklanan tam kan veya DBS numuneleriyle birlikte kullanım içindir.

Bkz. Abbott RealTime HCV analizi (Liste No. 4J86) prospektüsü.

DBS'ye özgü kullanım önlemleri:

- Nem giderici içeren torbada saklamadan önce DBS kartlarının tamamen kuruduğundan emin olun. DBS'ye yönelik uygun olmayan damla alma, kurutma, saklama ve muamele işlemi uygulanması hatalı test sonuçlarına neden olabilir.
- Taşıma yoluyla kontaminasyonu önlemek için damlanın bulunduğu noktayı delikli DBS kartından dışarı iterken her DBS numunesi için yeni bir pipet ucu kullanın. Delikli olmayan bir DBS kartı kullanılıyorsa noktayı kesmek için kullanılan aletin DBS numunesiyle temas etmeden önce ve sonra dekontamine edildiğinden emin olun.

Çalışma Alanları

Abbott m2000sp ve **Abbott m2000rt** kullanılırken Numune Hazırlama Alanı ve Amplifikasyon Alanı olmak üzere yalnızca iki özel alan önerilir.

Bkz. Abbott RealTime HCV analizi (Liste No. 4J86) prospektüsü.

Aerosol Kontaminasyonu

Bkz. Abbott RealTime HCV analizi (Liste No. 4J86) prospektüsü.

Kontaminasyon ve İnhibisyon

Bkz. Abbott RealTime HCV analizi (Liste No. 4J86) prospektüsü.

Harici dU-İçeren Amplifiye Edilmiş Ürünle Kontaminasyon

Amplifiye ürünün PCR sonrası işlenmesini içeren HCV amplifikasyon analizlerini kullanan veya kullanmış olan laboratuvarlar, dU içeren amplifiye ürünle kontamine olabilir. Bu tür kontaminasyon, DBS için Abbott RealTime HCV analizinde yanlış sonuçlara yol açabilir. Abbott RealTime HCV analizi (Liste No. 4J86) prospektüsünün **Laboratuvarda Kontamine Olmuş Ürün Varlığını İzleme** bölümüne bakın. Negatif kontroller sürekli reaktif olduğunda veya dU içeren HCV amplifiye ürünle kontaminasyonun meydana gelme olasılığı bulunduğu, dekontaminasyonu başarısız olursa laboratuvarın urasil-N-glikosilaz (UNG) kontaminasyon kontrol prosedürünü kullanması önerilir.

SAKLAMA TALİMATLARI

Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit (Liste No. 4J86-90)

-  **Yeni ve Kısmi** Abbott RealTime HCV Amplifikasyon Reaktif Paketi ve Dahili Kontrol (IC) flakonları kullanılmadığında -10°C veya altında saklanmalıdır. Kullanımda olan Abbott RealTime HCV Amplifikasyon Reaktif Paketinin; numuneler, kalibratörler ve kontrollerle doğrudan temas etmemesi için özen gösterilmelidir.
- Kısmi** amplifikasyon reaktif paketleri ve IC, ilk kullanımdan sonra -10°C veya altında, kapağı kapalı şekilde, dik konumda ve ışıktan korunarak saklanmalıdır. Hazırlanmış master mix içeren **kısmi** amplifikasyon reaktif paketleri bu şekilde saklanırsa ilk kullanımdan sonraki 14 gün içinde ikinci kez kullanılabilir. Kapağı kapalı şekilde, -10°C veya altında saklanması halinde IC de çözüldükten sonraki 14 gün içinde ikinci kez kullanılabilir. 2 kullanımdan sonra kısmi amplifikasyon reaktif paketleri ve IC atılmalıdır. İkinci kullanımı, reaktifin son kullanma tarihini geçmemelidir.

Abbott RealTime HCV Control Kit (Liste No. 4J86-80)

-  Abbott RealTime HCV Negatif ve Pozitif Kontrolleri -10°C veya altında saklanmalıdır.

Abbott RealTime HCV Calibrator Kit (Liste No. 4J86-70)

-  Abbott RealTime HCV Calibrator A ve Calibrator B, -10°C veya altında saklanmalıdır.

SEVKİYAT KOŞULLARI

Bkz. Abbott RealTime HCV analizi (Liste No. 4J86) prospektüsü.

REAKTİFLERDE İNSTABİLİTE VEYA BOZULMA GÖSTERGESİ

Bkz. Abbott RealTime HCV analizi (Liste No. 4J86) prospektüsü.

ÇİHAZ PROSEDÜRÜ

Analizi gerçekleştirmeden önce Abbott *m2000sp* ve Abbott *m2000rt* sistemlerine Abbott RealTime HCV *m2000* ROW System Combined Application CD-ROM'undan (Liste No. 01L69-040 veya üzeri) DBS için Abbott RealTime HCV uygulama dosyası yüklenmelidir. Uygulama dosyasının kurulumu hakkında ayrıntılı bilgi için bkz. Abbott *m2000sp* ve Abbott *m2000rt* Kullanım Kılavuzları, Çalıştırma Talimatları.

NUMUNE ALMA, SAKLAMA VE TEST MERKEZİNE NAKLİ

Numune Alma ve Saklama

- DBS'yi hazırlamak için parmak ucundan alınan kan numunesini veya EDTA tam kan numunesini kullanın. EDTA tam kan numunesi, saklama ve sevkiyat sırasında kontrollü sıcaklık koşullarında tutulmalıdır (2°C ile 8°C arasında 48 saate kadar veya 30°C'yi aşmayan ortam sıcaklığında 24 saate kadar).
- Bir tüpe alınan EDTA tam kan numunesi, damla alma öncesinde yavaşça ters çevrilerek iyice karıştırılmalıdır. Ahlstrom-Munktel TFN kağıt kart veya Whatman 903'teki 12 milimetrik (yarım inç) daireler tamamen kaplanacak şekilde kan damlası alın. Tamamen kaplanmasını sağlamak için her bir dairede en az 70 µL kan (yaklaşık 3 ila 5 kan damlası) kullanılması önerilir.
- Kartı ortam sıcaklığında en az 3 saat boyunca kurumaya bırakın. Her bir kartı, nem giderici paketler (en az 2 - 3 nem giderici paket) içeren kilitlenebilir bir torbaya koyun.
- DBS numune kartları, analiz işleminden önce aşağıdaki tabloda belirtilen koşullar altında saklanabilir.

DBS Numune Kartının Saklanması

Koşul	Maksimum Saklama Süresi
Ortam neminde 2°C ila 30°C	18 hafta
Ortam neminde ≤37°C	12 hafta
Ortam neminde ≤45°C	8 hafta
Yüksek nemde (≤ %85) ≤38°C	4 hafta
Ortam neminde -25°C ila -15°C	18 hafta
Ortam neminde -70°C veya altında	18 hafta

Numunenin Taşınması

Numunelerin sevkiyatını yukarıdaki **Numune Alma ve Saklama** bölümünde önerilen saklama sıcaklığına ve süresine uygun şekilde yapın. Yerel ve uluslararası sevkiyatlar için numuneler; klinik, tanısal veya biyolojik numunelerin taşınmasını kapsayan geçerli ulusal, federal ve uluslararası düzenlemelere uygun şekilde paketlenmeli ve etiketlenmelidir.

DBS İÇİN ABBOTT REALTIME HCV ANALİZ PROSEDÜRÜ

Gerekli Olan Ancak Ürünle Birlikte Verilmeyen Malzemeler

- Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit (Liste No. 4J86-90)
- Abbott RealTime HCV Calibrator Kit (Liste No. 4J86-70)
- Abbott RealTime HCV Control Kit (Liste No. 4J86-80)

Abbott m2000sp Cihazı Numune Hazırlama Alanı İçin

- Abbott *mSample* Preparation System DBS Buffer Kit (Liste No. 09N02-001)
- Abbott *m2000sp* cihazı (Liste No. 09K14-01, 09K14-02)
- Abbott *mSample* Preparation System (4 × 24 Preparat) (Liste No. 04J70-24)
- 20 ila 1000 µL uygulama yapabilen kalibre edilmiş hassas pipetler (UNG kullanılıyorsa < 20 µL uygulama yapabilen kalibre edilmiş hassas pipetler gerekebilir.)

- 20 ila 1000 µL pipetler için aerosol bariyerli pipet uçları (UNG kullanılıyorsa < 20 µL uygulama yapabilen aerosol bariyerli pipet uçları gerekebilir.)
- Vorteks Karıştırıcı
- Master Mix Tube (Liste No. 04J71-80)
- Abbott 96-Deep-Well Plate (Liste No. 04J71-30)
- 5 mL Reaction Vessels (Liste No. 04J71-20)
- 200 mL reagent vessels (Liste No. 04J71-60)
- Abbott 96-Well Optical Reaction Plate (Liste No. 04J71-70)
- Abbott Optical Adhesive Covers (Liste No. 04J71-75)
- Abbott Adhesive Cover Applicators (Liste 9K32-01)
- Abbott Splash-Free Support Base (Liste No. 9K31-01)
- Abbott RealTime HCV m2000 ROW System Combined Application CD-ROM (Liste No. 01L69-040 veya üzeri)
- m2000 System 13 mm DBS-PoS Set (Liste No. 09N03-001)
- 1.4 mL Micro Vial 15 mm Caps (Liste No. 03N20-01) isteğe bağlı
- Uracil N-Glycosylase (UNG)^a (Liste No. 6L87-02)

^a Gerekirse bu IFU belgesinin **Harici dU-İçeren Amplifiye Edilmiş Ürünle Kontaminasyon** bölümüne uygun olarak.

Abbott m2000rt Cihazı Amplifikasyon Alanı İçin

- Abbott m2000rt cihazı (Liste No. 9K15-01)
- Abbott RealTime HCV m2000 ROW System Combined Application CD-ROM (Liste No. 01L69-040 veya üzeri)
- Abbott m2000rt Optical Calibration Kit (Liste No. 04J71-93)

Diğer Malzemeler

- Bulaşıcı malzemelerle çalışmak için onaylanmış biyolojik güvenlik dolabı
- DBS kartı için kilitlenebilir torba
- DBS kartı için nem giderici paketi
- Ahlstrom-Munktel TFN kağıt kart ve/veya Whatman 903
- 96 kuyucuklu reaksiyon plakasının atılması için kilitlenebilir plastik torba
- RNAz içermeyen su (Eppendorf veya eşdeğeri)^b
- 1.7 mL moleküler biyoloji sınıfı mikrosantrifüj tüpleri (Dot Scientific, Inc. veya eşdeğeri)^b
- Pamuk Uçlu Aplikatörler (Puritan veya eşdeğeri)^b

^bNot: Bu 3 ürün, **Laboratuvarında Kontamine Olmuş Ürün Varlığını İzleme prosedüründe kullanılır. Abbott RealTime HCV tetkiki (Liste No. 4J86) prospektüsündeki KALİTE KONTROL PROSEDÜRLERİ** bölümüne bakın.

Prosedür Önlemleri

- Örnekleri işlemeyen önce bu IFU belgesindeki talimatları dikkatle okuyun.
- Amplifikasyon reaktifleri ve dahili kontrol, bu IFU belgesinde açıklandığı gibi 2 defaya kadar kullanılabilir. Abbott RealTime HCV Calibrators, Negative Control, Low Positive Control ve High Positive Control flakonları yalnızca tek kullanımlıktır ve kullanıldıktan sonra atılmalıdır.
- Numuneleri veya IC'yi pipetlerken aerosol bariyerli pipet uçlarını veya tek kullanımlık pipetleri yalnızca 1 kez kullanın. Pipetleme yaparken pipet haznesinin kontaminasyonunu önlemek için pipet haznesinin, numune tüpünün veya kabının içine temas etmemesine dikkat edilmelidir. Genişletilmiş aerosol bariyerli pipet uçlarının kullanılması önerilir.
- Amplifikasyon ürününün varlığı için izleme prosedürleri **KALİTE KONTROL PROSEDÜRLERİ** bölümünde bulunabilir.
- Nükleik asit kontaminasyonu riskini azaltmak için dökülen numuneleri %1.0 sodyum hipoklorit gibi tüberkülozid dezenfektan veya başka uygun bir dezenfektan kullanarak temizleyin ve dezenfekte edin.
- Abbott RealTime HCV Calibrators ve Controls, test edilecek numunelerle birlikte hazırlanmalıdır. Abbott RealTime HCV Controls ve Calibrators kullanılması, Abbott RealTime HCV analizinin performansı için gereklidir. Bkz. **KALİTE KONTROL PROSEDÜRLERİ** bölümü.
- Abbott m2000sp Master Mix Addition protokolü, Numune Hazırlama işlemi tamamlandıktan sonraki 1 saat içerisinde başlatılmalıdır.
- Abbott m2000sp master mix addition protokolü iptal edilirse ikinci kez kullanılan amplifikasyon reaktiflerini atın. İlk kez kullanılan yeni reaktif paketleri, bu kılavuzda açıklandığı gibi korunabilir ve daha sonra kullanılmak üzere saklanabilir.

- **Abbott m2000rt** protokolü, Master Mix Addition protokolü başlatıldıktan sonraki 50 dakika içerisinde başlatılmalıdır. Abbott m2000rt cihazındaki çalışma 50 dakika içinde başlatılmazsa veya kesintiye uğrarsa ya da iptal edilirse Abbott 96-Well Optical Reaction Plate'i kilitlenebilir plastik torbaya koyun ve plakayı tutmak için kullanılan eldivenlerle birlikte Abbott m2000rt Kullanım Kılavuzuna uygun şekilde atın.

ÖNEMLİ: İkinci kez kullanılacak amplifikasyon reaktifleri, master mix addition protokolünün başlatılmasından itibaren 50 dakika içinde -10°C veya altında saklanmalıdır.

ANALİZ PROTOKOLÜ: ABBOTT m2000sp VE ABBOTT m2000rt CİHAZLARINI KULLANAN DBS NUMUNELERİ

Abbott m2000sp ve Abbott m2000rt cihaz protokolünün nasıl gerçekleştirileceği hakkında ayrıntılı açıklama için bkz. Abbott m2000sp ve Abbott m2000rt İşletim Kılavuzları, Çalıştırma Talimatları bölümleri. DBS protokolü için Abbott m2000sp Software Version 6.0 veya üzeri gereklidir. Lütfen Abbottm2000sp Kullanım Kılavuzuna (Liste 09K20 sürüm 6 veya üzeri) uyun.

Her çalışmada toplam 96 numune işlenebilir. Her çalışmaya Abbott RealTime HCV Negatif Kontrol, Düşük Pozitif Kontrol ve Yüksek Pozitif Kontrol eklenmiştir; bu sayede kalibratörler dahil edilmediğinde her çalışmada maksimum 93 DBS numunesi işlenebilir. Kalibratörleri ve Kontrolleri doğrudan sıvı numune olarak işleyin; 1 ila 5. adımlar yalnızca DBS içindir. DBS protokolünün kullandığı hiçbir çalışmada plazma veya serum numunelerini işlemeyin. Her DBS numunesi için numune işleme prosedürünün tamamında tek bir Abbott Master Mix Tube kullanılmalıdır. İşleme boyunca DBS numunelerinin etiketlendiğinden emin olun.

1. Abbott Master Mix Tube'u, Abbott mSample Preparation system DBS Buffer Kit'ten (Liste No. 09N02-001) 1.3 mL'lik mDBS tamponu ile doldurun.

NOT: Bu adım için mLysis Buffer veya başka herhangi bir reaktif kullanmayın

2. Delikli DBS kağıt kartı Abbott Master Mix Tube üzerinde tutun.
3. Her Abbott Master Mix Tube için 1 DBS dairesi ve temiz bir pipet ucu kullanarak DBS dairesini karttan dışarı itin. Her DBS yaklaşık bir 12 milimetre (yarım inç) çapında olmalıdır.

NOT: ÇAPRAZ KONTAMİNASYONU ÖNLEMEK AMACIYLA HER DBS NUMUNESİ İÇİN YENİ BİR PİPET UCU KULLANIN.

Alternatif olarak, delikli olmayan DBS kağıdından her numune için 1 DBS'nin tamamını (yaklaşık yarım inç çapında) kesin ve bir Abbott Master Mix Tube içerisine aktarın.

NOT: Kesme yüzeyinin DBS numuneleriyle doğrudan temas etmesine izin vermeyin. Gerekirse, iyi laboratuvar uygulamaları doğrultusunda, numuneler arasında DBS'leri kesmek için kullanılan aleti dekontamine edin.

4. DBS'yi tampon içerisine itmek üzere tüpe hafifçe vurarak veya pipet ucunu kullanarak DBS dairesinin mDBS Buffer içerisine tamamen daldırıldığından emin olun.

NOT: DBS'yi tampon içerisine itmek için bir pipet ucu kullanılırsa pipet ucunun sıvı tutması ve/veya uç filtresinin tamponu absorbe etmesi nedeniyle pipet ucunun, DBS tampon hacmi kaybına neden olmadığından emin olun.

5. Numune tüplerini elle sallayın veya çalkalayın. Numuneleri vortekslemeyin. Ortam sıcaklığında 30 dakika (± 2 dakika) inkübe edin.
6. Bu esnada, analiz kontrollerini ve dahili kontrolü (IC) 15°C ila 30°C'de veya 2°C ila 8°C'de çözündürün. Kalibratörleri yalnızca bir kalibrasyon çalışması gerçekleştiriliyorsa 15°C ila 30°C'de veya 2°C ila 8°C'de çözündürün.

NOT: Çözündürmenin ardından analiz kontrolleri, IC ve kalibratörler, kullanımdan önce 2°C ila 8°C'de 24 saate kadar saklanabilir.

7. Kullanmadan önce her bir analiz kalibratörünü ve her bir kontrolü 3 defa 2-3 saniye boyunca vorteksleyin. Sıvının flakonların dibine ulaşması için flakonlara tezgah üzerinde hafifçe vurarak her bir flakon içeriğinin dibe çökmesini sağlayın. Kabarcık veya köpük oluşmadığından emin olun; varsa her flakon için yeni bir uç kullanarak steril bir pipet ucu ile çıkarın.
8. Amplifikasyon reaktiflerini 15°C ila 30°C veya 2°C ila 8°C'de çözündürün ve amplifikasyon master mix prosedürü için gerekli olana kadar 2°C ila 8°C'de saklayın.
9. Çalışmada kullanılacak yeni ve/veya kısmi amplifikasyon reaktif paketlerini seçin. Amplifikasyon reaktif paketi envanter yönetimiyle ilgili talimatlar için bkz. Abbott m2000sp Kullanım Kılavuzu (Liste No. 09K20 sürüm 6 veya üzeri), Çalıştırma Talimatları bölümü. Amplifikasyon reaktif paketlerinin aynı lot numarasına sahip olması gerekir.

Yeni amplifikasyon reaktiflerini 15°C ila 30°C veya 2°C ila 8°C'de çözündürün ve amplifikasyon master mix prosedürü için gerekli olana kadar 2°C ila 8°C'de saklayın.

NOT: Çözdürmenin ardından yeni amplifikasyon reaktifleri hemen kullanılmayacaksa 2°C ila 8°C'de 24 saate kadar saklanabilir. İkinci kez kullanılacak kısmi amplifikasyon reaktif paketleri, kullanım öncesinde 2°C ila 8°C'de SAKLANMAMALIDIR. Master mix ekleme işlemi için gerekli olana kadar -10°C veya altında saklanmalıdır. Dondurucudan çıkarıldıktan sonra kümülatif oda sıcaklığına maruz kalma süresi 25 dakikayı aşmamalıdır. Buna paketlerin depodan çıkarıldığı ancak kullanılmadığı durumlar da dahildir. 25 dakika asılırsa kısmi amplifikasyon reaktif paketlerini atın.

Aşağıdaki tabloda reaksiyon sayısına bağlı olarak gereken numune hazırlama reaktiflerinin ve dahili kontrol flakonlarının sayısı gösterilmektedir.

Numune Hazırlama Reaktifleri ve Dahili Kontrol Gereklilikleri				
Reaktif	1 ila 24 Reaksiyon	25 ila 48 Reaksiyon	49 ila 72 Reaksiyon	73 ila 96 Reaksiyon
mMicroparticles	1 şişe	2 şişe	2 şişe	2 şişe
mLysis	1 şişe	2 şişe	3 şişe	4 şişe
mWash 1	1 şişe	2 şişe	3 şişe	4 şişe
mWash 2	1 şişe	2 şişe	3 şişe	4 şişe
mElution Buffer	1 şişe	2 şişe	3 şişe	4 şişe
Dahili Kontrol ^a	1 yeni flakon veya 1 kısmi flakon	1 yeni flakon veya 2 kısmi flakon	2 yeni flakon veya 3 kısmi flakon	2 yeni flakon veya 4 kısmi flakon

^a Dahili Kontrol için yeni ve kısmi flakonlar bir arada kullanılabilir.

- Homojen bir çözelti elde etmek için Abbott mSample Preparation şişelerini yavaşça ters yüz edin. Açıldıklarında reaktif şişelerinin herhangi birinde kristaller görülürse reaktifi ekilibre etmek için kristaller kaybolana kadar oda sıcaklığında bekletin. Kristaller çözünene kadar reaktifleri kullanmayın.
 - Kullanmadan önce her bir IC'yi 3 kez 2-3 saniye boyunca vorteksleyin.
 - Her bir mLysis Buffer şişesine 500 µL IC eklemek için **YALNIZCA DAHİLİ KONTROLE ÖZEL** olan kalibre edilmiş hassas bir pipet kullanın. Köpüklenmeyi en aza indirmek için kabı 5 ila 10 kez yavaşça ters yüz ederek karıştırın. Kısmi IC flakonlarına yeniden kapak takılabilir ve flakonlar, ikinci kullanım için -10°C veya altında saklanabilir.
 - Düşük ve yüksek pozitif kontrolleri, negatif kontrolü ve kalibratörleri (varsa) Abbott m2000sp numune raflarına yerleştirin.
 - İnkübasyon tamamlandıktan sonra DBS numune tüplerini elle sallayın veya çalkalayın ve ardından bunları Abbott m2000sp numune raflarına yerleştirin.
- NOT: Abbott m2000sp numune raflarının, DBS için Abbott RealTime HCV prosedürüne yönelik özel olarak kalibre edildiğinden emin olun.**
- Sıçramayı önlemek için numune raflarını dikkatli bir şekilde yükleyin. Varsa tüp etiketlerindeki barkodlar tarama için sağa bakmalıdır. Her bir tüpün numune rafına, tüpün alt kısmı rafın içeride kalan dibine isabet edecek şekilde sabit olarak yerleştirildiğinden emin olun.
 - Doldurulan numune raflarını Abbott m2000sp cihazına, ilk raf çalışma tezgahında en sağda ve diğer raflar sırayla ilk rafın soluna doğru olacak şekilde birbirini izleyen numune rafı konumlarına yerleştirin.
 - 5 mL'lik Reaction Vessel'leri Abbott m2000sp 1 mL subsystem carrier içerisine yerleştirin.
 - Abbott mSample Preparation System reaktiflerini ve Abbott 96 Deep-Well Plate'i Abbott m2000sp çalışma tezgahına Abbott m2000sp Kullanım Kılavuzu, Çalıştırma Talimatları bölümünde belirtildiği şekilde yükleyin.
 - Protocol (Protokol) ekranından HCV RNA DBS uygulama dosyasını seçin. Numune ekstraksiyonu protokolünü Abbott m2000sp Kullanım Kılavuzu, Çalıştırma Talimatları bölümünde belirtildiği şekilde başlatın.
 - Sample Extraction (Numune Ekstraksiyonu): Worktable Setup (Çalışma Tezgahı Kurulumu), Calibrator (Kalibratör) ve Control (Kontrol) alanlarında kalibratör (Abbott m2000rt'de bir kalibrasyon eğrisi kaydedilmemişse gereklidir) ve kontrol lotuna özgü değerleri

girin. Lota özgü değerler her Abbott RealTime HCV Calibrator ve Control Kit Card içerisinde belirtilir.

- Abbott m2000sp Master Mix Addition protokolü (28. adım) Numune Hazırlama işleminin tamamlanmasının ardından 1 saat içerisinde başlatılmalıdır.

NOT: Amplifikasyon reaktiflerine dokunmadan önce eldivenlerinizi değiştirin.

- Numune hazırlama işlemi tamamlandıktan sonra amplifikasyon reaktiflerini ve master mix tüpünü (gerekirse) Abbott m2000sp çalışma tezgahına yükleyin. Aşağıdaki tabloda reaksiyon sayısına bağlı olarak gereken amplifikasyon reaktif paketlerinin sayısı gösterilmektedir. Yalnızca 1 amplifikasyon reaktif paketi kullanılıyorsa master mix tüpü gerekmez.

Amplifikasyon Reaktif Paketi Gereklilikleri ^a			
1 ila 24 Reaksiyon	25 ila 48 Reaksiyon	49 ila 72 Reaksiyon	73 ila 96 Reaksiyon
Yeni ise 1; kısmi paketlerde 4 adede kadar	Yeni ise 2; kısmi paketlerde 4 adede kadar	Yeni ise 3; kısmi paketlerde 4 adede kadar	4 yeni veya kısmi paket

^a Seçilen kısmi paketlerle test edilebilecek maksimum reaksiyon sayısını belirlemek üzere envanter yönetimi hakkında talimatlar için bkz. Abbott m2000sp Kullanım Kılavuzu (Liste No. 09K20 sürüm 6 veya üzeri).

- Kısmi amplifikasyon reaktif paketleri yalnızca reaktif paketinin ilk hazırlığı için kullanılan aynı Abbott m2000sp cihazında kullanılabilir. Amplifikasyon reaktif paketinin farklı bir cihazda ikinci kez kullanılması, hataya yol açarak çalışmanın gecikmesine neden olabilir.
- Kısmi ve yeni amplifikasyon reaktif paketleri birlikte kullanılabilir.

ÖNEMLİ: Kısmi amplifikasyon reaktif paketleri, ikinci kullanımdan hemen öncesine kadar -10°C veya altında saklanmalıdır. Abbott m2000sp çalışma tezgahına kısmi paketler yerleştirmeden önce master mix'in çözündürüldüğünü doğrulayın. İkinci kez kullanılan kısmi amplifikasyon reaktif paketleri -10°C veya daha soğuk depodan çıkarıldıktan sonra 25 dakika içerisinde kullanılmalı; aksi durumda atılmalıdır. Bu, paketlerin depodan çıkarıldığı ancak kullanılmadığı durumlar da dahil olmak üzere kümülatif oda sıcaklığı maruziyeti için geçerlidir.

- Amplifikasyon reaktiflerini açmadan önce flakonlara tezgah üzerinde 5-10 kez dik konumda hafifçe vurarak yeni amplifikasyon reaktif paketlerinin içeriğinin, flakonların dibine çöktüğünden emin olun.
 - İkinci kez kullanılan kısmi amplifikasyon reaktif paketlerine vurmayın. Aksi takdirde kapakta master mix hacmi kaybı oluşur.
 - Kapakları çıkarın. Yeni bir amplifikasyon reaktif paketi ikinci kullanım için saklanacaksa flakonlara saklanmak üzere yeniden kapak takılması gerekir. Reaktif flakonlarına tekrar kapak takmak için orijinal kapakları yeniden kullanmayı planlıyorsanız orijinal kapakları saklayın. Reaktif flakonlarına tekrar kapak takmak için yeni kapaklar kullanmayı planlıyorsanız orijinal kapakları atabilirsiniz.
- Kontaminasyon kontrolü için Urasil N-glikosilaz (UNG) kullanılıyorsa aşağıdaki talimatları izleyin.**

- Yeni ve kısmi amplifikasyon reaktif paketlerinin 3. konumundaki reaktif flakonuna belirtilen 1 U/µL hacminde UNG (Liste No. 6L87-02) eklemek için **YALNIZCA REAKTİF KULLANIMINA ÖZEL PİPET** kullanın. Tüm kısmi paketler için yukarı ve aşağı doğru yavaşça pipetleyerek manuel karıştırma uygulayın. Yeni paketleri karıştırmayın.
- Yeni ve kısmi amplifikasyon reaktif paketlerinin 3. konumundaki reaktif flakonuna eklenecek UNG hacmini belirlemek için aşağıdaki tabloyu kullanın. Yeni reaktif paketinin 3. konumundaki reaktif flakonunda termostabil rTth polimeraz enzimi bulunur. Kısmi reaktif paketinin 3. konumundaki reaktif flakonunda master mix bulunur.

Her Amplifikasyon Reaktif Paketinin 3. Konumundaki Reaktif Flakonuna Eklenecek UNG Hacmi	
Pakette Kalan Testler	Bu Hacimde UNG Ekleyin (µL)
1	5
2	6
3	7
4	8
5	9
6	10
7	11
8	12
9	13
10	13
11	14
12	15
13	16
14	17
15	18
16	19
17	20
18	21
19	22
20	23
21	24
22	25
23	26
24 (yeni paket)	27

NOT: 3. Konumdaki reaktif flakonuna eklenen UNG hacmi, çalıştırılan numune sayısına değil, reaktif paketinde kalan test sayısına bağlıdır. Amplifikasyon reaktif paketi envanter yönetimi ve reaktif paketinde kalan test sayısını belirleme ile ilgili talimatlar için Abbott m2000sp Kullanım Kılavuzuna bakın.

26. Kısmi amplifikasyon paketleri, Abbott m2000sp çalışma tezgahında yeni amplifikasyon reaktif paketlerinin soluna yüklenir.
27. Amplifikasyon reaktif paketlerinin cihaza sıkıca oturduğundan emin olun.
28. İlgili numune hazırlama ekstraksiyon işlemine uygun olan derin kuyucuklu plakayı seçin. Abbott m2000sp Master Mix Addition protokolünü başlatın. Abbott m2000sp Kullanım Kılavuzu, Çalıştırma Talimatları bölümünde belirtilen talimatları izleyin.

NOT: Operatör, Abbott 96-Well Optical Reaction Plate içerisindeki boş/doldurulmamış kuyucukları elle doldurmamalıdır.

- Numune ekstraksiyonu tamamlandıktan sonra Abbott m2000sp, bir çalışma dahilinde işlenen 48'den fazla numune olduğunda Abbott 96-Well Optical Reaction Plate içerisindeki boş kuyucukları, mElution Buffer ile otomatik olarak doldurur. 48 veya daha az numune içeren çalışmalar için plaka doldurma gerçekleştirilmez.
- Cihaz tarafından istenirse minimum düzeyde mElution Buffer için reaktif kabı içeren Reagent Carrier 2 yerinde kalmalıdır (Reagent Carrier 2, konum 6). Bu reaktif kabı çıkarıldıysa mElution Buffer etiketi olan yeni bir reaktif kabını Reagent Carrier 2, konum 6'ya yerleştirin. Sistem sıvısı reaktif kabına eklenir ve boş kuyucukları doldurmak için kullanılır. Bu işlem tamamlandığında sistem, master mix ekleme aşamasıyla devam eder.

NOT: Otomatik plaka doldurma özelliğinin kullanımına yönelik sistem talimatları, Abbott m2000sp Kullanım Kılavuzu (Liste No. 09K20 sürüm 6 veya üzeri), Bölüm 5, Çalıştırma Talimatları, Numune Ekstraksiyonu Kapalı Modu başlığında yer alır.

- Abbott m2000rt protokolü (33. adım) Master Mix Addition protokolü (28. adım) başlatıldıktan sonraki 50 dakika içerisinde başlatılmalıdır.

NOT: Çalışma, 28. adım sonrasında herhangi bir nedenle iptal edilirse Abbott m2000sp Master Mix Addition Protokolü (28. adım) tekrarlanacaksa yeni bir Abbott 96-Well Optical Reaction Plate kullanılmalıdır.

29. Amplifikasyon Alanında Abbott m2000rt cihazını açın ve başlatın.

NOT: Abbott m2000rt'nin ısınması 15 dakika sürer.

NOT: Numune hazırlama alanına geri dönmeye önce eldivenlerinizi çıkarın.

30. Abbott m2000sp cihazı, numuneleri ve master mix eklemeyi tamamladıktan sonra Abbott 96-Well Optical Reaction Plate'i, Abbott m2000sp Kullanım Kılavuzu, Çalıştırma Talimatları bölümüne uygun şekilde kapatın.
31. Kapalı optik reaksiyon plakasını Abbott m2000rt cihazına aktarmak üzere Abbott Splash-Free Support Base içerisine yerleştirin.
Urasil N-glikosilaz (UNG) kullanılıyorsa aşağıdaki talimatları izleyin:
32. Kapalı optik plakayı Abbott Splash-Free Support Base'e aktarın ve 10 dakika boyunca oda sıcaklığında (15°C ila 30°C) inkübe edin. Oda sıcaklığındaki inkübasyondan sonra Abbott Splash-Free Support Base'deki Abbott 96-Well Optical Reaction Plate'i Abbott m2000rt cihazına aktarın.
33. Abbott 96-Well Optical Reaction Plate'i Abbott m2000rt cihazına yerleştirin. Protocol (Protokol) ekranından HCV RNA DBS uygulama dosyasını seçin. Abbott m2000rt Kullanım Kılavuzu, Çalıştırma Talimatları bölümünde belirtildiği şekilde protokolü başlatın.

NOT: Test isteğinin, m2000sp ve m2000rt yazılımının içe ve dış aktarma özellikleriyle ağ bağlantısı üzerinden veya CD-ROM kullanılarak aktarılması önerilir. Abbott m2000rt test isteği manuel olarak oluşturuluyorsa Abbott m2000sp üzerindeki "PCR Plate Results" (PCR Plakası Sonuçları) ayrıntılı ekranında bulunan "Wells for Selected Plate" (Seçili Plaka İçin Kuyucuklar) izgarasına göre ilgili PCR tepsisi konumlarına numune kimliklerini girin. Bkz. Abbott m2000sp Kullanım Kılavuzu, Bölüm 5.

34. Hazırlanan kısmi amplifikasyon reaktif paketi ikinci kez kullanılacaksa saklanmış veya yeni kapakları (Liste No. 3N20-01) 3 reaktif flakonuna takın ve reaktifleri hemen -10°C veya altında, ışıktan korunacak şekilde ve dik konumda saklayın. Tükenmiş veya iki kez kullanılmış amplifikasyon reaktif paketlerini atın.

ÖNEMLİ: İkinci kez kullanılacak amplifikasyon reaktifleri, master mix addition protokolünün başlatılmasından itibaren 50 dakika içinde -10°C veya altında saklanmalıdır.

İŞLEME SONRASI PROSEDÜRLERİ

1. Abbott 96 Deep-Well Plate'i çalışma tezgahından çıkarın ve Abbott m2000sp Kullanım Kılavuzuna uygun olarak atın.
2. Abbott 96-Well Optical Reaction Plate'i kilitlenebilir plastik torbaya koyun ve Abbott m2000rt Kullanım Kılavuzuna uygun olarak plakayı tutmak için kullanılan eldivenlerle birlikte atın.
3. Abbott Splash-Free Support Base'i bir sonraki kullanımdan önce Abbott m2000rt Kullanım Kılavuzuna uygun olarak temizleyin.

KALİTE KONTROL PROSEDÜRLERİ

Abbott m2000rt Optik Kalibrasyon

Bkz. Abbott RealTime HCV analizi (Liste No. 4J86) prospektüsü.

Analiz Kalibrasyonu

Bkz. Abbott RealTime HCV analizi (Liste No. 4J86) prospektüsü.

Abbott m2000sp ve Abbott m2000rt kullanılarak yapılan DBS testi için: Bir Abbott RealTime HCV kalibrasyonu kabul edilip saklandığında 6 ay süreyle kullanılabilir. Bu süre boyunca tüm sonraki numuneler aşağıdaki durumlar oluşmadıkça başka bir kalibrasyon yapılmadan test edilebilir:

- Yeni lot numarasına sahip bir Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit'in kullanılması.
- Yeni lot numarasına sahip bir Abbott mSample Preparation System'in (4 x 24 Preparat) kullanılması.
- Yeni bir Abbott RealTime HCV RNA DBS uygulama dosyasının yüklenmesi.

İnhibisyonun saptanması

Bkz. Abbott RealTime HCV tetkiki (Liste No. 4J86) prospektüsü.

Negatif ve Pozitif Kontroller

Bkz. Abbott RealTime HCV tetkiki (Liste No. 4J86) prospektüsü.

Laboratuvarda Kontamine Olmuş Ürün Varlığını İzleme

Bkz. Abbott RealTime HCV tetkiki (Liste No. 4J86) prospektüsü.

DBS NUMUNELERİ İÇİN SONUÇLAR

Abbott m2000rt DBS protokol çalışmasına göre rapor edilen DBS numune konsantrasyonu sonucu, DBS numunesinin elde edildiği tam kan numunesinin plazmasındaki HCV viral konsantrasyonunu temsil eder. Abbott m2000rt cihazı, Abbott m 2000rt iş istasyonunda sonuçları otomatik olarak raporlar. Analiz sonuçları Uluslararası Birimler IU/mL veya Log IU/mL cinsinden raporlanabilir.

Sonuçların Yorumlanması

Sonuç	Yorumlama
Saptanamadı	Hedef saptanamadı
<2.66 Log IU/mL ^a	Saptandı
2.66 ila 8.00 Log IU/mL	
>8.00 Log IU/mL	> ULQ ^b

^a 462 IU/mL

^b ULQ = tayinin üst sınırı

PROSEDÜRÜN SINIRLAMALARI

- **İN VİTRO DIAGNOSTİK KULLANIM İÇİNDİR**
- Bu testin optimum performansı için numunelerin uygun şekilde alınması, saklanması ve test alanına taşınması gereklidir (bkz. bu prospektüsün **NUMUNE ALMA, SAKLAMA VE TEST MERKEZİNE NAKLİ** bölümü).
- EDTA tüplerinde alınan tam kan numuneleri, DBS için Abbott RealTime HCV analiziyle test edilen DBS üretmek için kullanılabilir. Diğer antikoagülanların kullanımı, DBS için Abbott RealTime HCV analiziyle doğrulanmamıştır.
- DBS için Abbott RealTime HCV analizi yalnızca DBS hazırlama ve ön işleme prosedürleri, moleküler tanı analizi ve Abbott m2000 sistemi konusunda eğitim almış personel tarafından kullanılabilir.
- Cihazlar ve analiz prosedürleri, amplifikasyon ürünüyle kontaminasyon riskini azaltır. Ancak kalibratörlerden, pozitif kontrollerden veya numunelerden kaynaklanan nükleik asit kontaminasyonu, iyi laboratuvar uygulamalarıyla ve bu prospektüs bölümünde belirtilen prosedürlere dikkatle uyarak kontrol edilmelidir.
- Her tanı testinde olduğu gibi, DBS için Abbott RealTime HCV analizinden elde edilen sonuçlar da diğer klinik bulgular ve laboratuvar bulgularıyla birlikte yorumlanmalıdır. "Saptanamadı" sonucuna sahip bir numunenin HCV RNA için negatif olduğu varsayılmaz.
- DBS kartlarına yönelik uygun olmayan numune alma, kurutma, saklama ve muamele işlemi uygulanması hatalı test sonuçlarına neden olabilir.
- Ahlstrom-Munkell TFN ve Whatman 903 DBS kartları kullanılabilir. Diğer kartların kullanımı, Abbott RealTime HCV analizi ile doğrulanmamıştır.

DBS NUMUNELERİ İÇİN SPESİFİK PERFORMANS ÖZELLİKLERİ

Saptama Sınırı (LoD)

Abbott RealTime HCV analizinin LoD değeri, DBS numune türünde 462 IU/mL'dir. LoD, HCV negatif tam kanda seyreltilmiş Hepatit C Virüsü RNA'sı için Dünya Sağlık Örgütü Uluslararası Standardında belirtilen dilüsyon serisiyle hazırlanan DBS numunelerinin test edilmesiyle belirlenmiştir. Her HCV RNA konsantrasyonu için test işlemi 3 gün boyunca 4 adet amplifikasyon reaktifi lotuyla gerçekleştirilmiştir. DBS için Abbott RealTime HCV analizinin analitik duyarlılık performansını temsil eden sonuçlar **Tablo 1**'de özetlenmiştir.

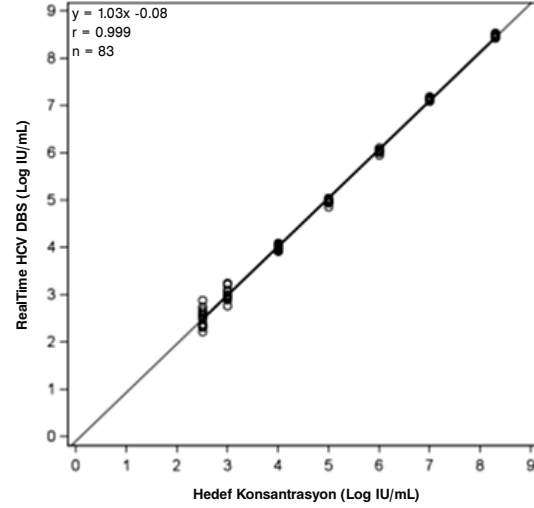
Tablo 1. DBS için Abbott RealTime HCV Saptama Sınırı (LoD)			
HCV RNA (IU/mL)	Test Edilen Sayı	Saptanan Sayı	Saptanan Yüzde
500	84	83	99
400	84	80	95
350	84	75	89
300	84	73	87
150	84	54	64
50	84	26	31

Verilerin Probit analizinde, kurumuş kan damlasında %95 olasılıkla saptanan HCV RNA konsantrasyonunun 462 IU/mL (%95 CI 381 ila 593 IU/mL) olduğu belirlenmiştir.

Doğrusal Aralık

Abbott RealTime HCV analizi için tayinin üst sınırı (ULQ) 100 milyon IU/mL'dir ve tayinin alt sınırı DBS iddiasına yönelik LoD (462 IU/mL) değerine eşittir. HCV negatif tam kanda 200 milyon IU/mL ile 316 IU/mL aralığındaki konsantrasyonlara seyreltilmiş HCV zırlı RNA ile 7 üyeli DBS paneli hazırlanmıştır. DBS için Abbott RealTime HCV testi doğrusal olduğunu temsil eden sonuçlar **Şekil 1**'de gösterilmektedir.

Şekil 1. DBS için Abbott RealTime HCV Analizi Doğrusallığı



DBS için Abbott RealTime HCV analizinin, test edilen HCV RNA konsantrasyonları aralığında (316 ila 200 milyon IU/mL, 2.5 ila 8.3 Log IU/mL) doğrusal olduğu gösterilmiştir.

Özgüllük

DBS için Abbott RealTime HCV analizinin hedef özgüllüğü %99.5'e eşit veya daha büyüktür. Özgüllük, 2 adet amplifikasyon reaktifi lotunda 119 HCV sero-negatif numune analiz edilerek belirlenmiştir. Genel özgüllük %100 (119/119) olarak bulunmuştur.

Hassasiyet

Hassasiyet, 316 milyon IU/mL ile 200 milyon IU/mL HCV RNA konsantrasyon aralığını kapsamayı hedefleyen 6 üyeli DBS paneli test edilerek değerlendirilmiştir. 5 Log IU/mL'den (100.000 IU/mL) daha düşük konsantrasyonlara sahip panel üyeleri, HCV negatif tam kanda seyreltilmiş HCV pozitif klinik numune ile hazırlanırken 5 Log IU/mL'den (100.000 IU/mL) daha yüksek konsantrasyonlara sahip panel üyeleri, HCV negatif tam kanda seyreltilmiş HCV zırlı RNA ile hazırlanmıştır. Her bir panel üyesi, 3 amplifikasyon reaktif lotuyla 3 adet Abbott m2000sp/rt çiftinde 5 gün boyunca günde 5 tekrar halinde test edildi. Çalışma içi, çalışma arası ve analizler arası (çalışma içi ve çalışma arası) standart sapmalar (SD) belirlenmiştir. DBS için Abbott RealTime HCV analizi, 10.000 ila 100 milyon IU/mL HCV konsantrasyonu içeren numuneler için 0.25 Log IU/mL HCV RNA'ya eşit veya daha az standart sapma (SD) sağlamak üzere tasarlanmıştır. DBS için Abbott RealTime HCV analizinin hassasiyetini temsil eden sonuçlar **Tablo 2**'de özetlenmiştir.

Tablo 2. DBS için Abbott RealTime HCV Analizi Hassasiyeti

Panel Üyesi	N	Ortalama Konsantrasyon (IU/mL)	Ortalama Konsantrasyon (Log IU/mL)	Çalışma İçi Bileşen SD'si ^{a,e}	Çalışma Arası Bileşen SD'si ^a	Analizler Arası SD ^{a,b}	Lot/Cihaz Arası Bileşen SD'si ^a	Toplam ^{c,e}
1	63 ^d	420	2.62	0.26	0.07	0.27	0.00	0.27
2	75	1,435	3.16	0.23	0.00	0.23	0.09	0.25
3	75	13,211	4.12	0.06	0.04	0.07	0.05	0.09
4	75	395,427	5.60	0.04	0.03	0.05	0.02	0.05
5	75	14,008,770	7.15	0.12	0.04	0.13	0.05	0.14
6	75	316,713,566	8.50	0.04	0.03	0.05	0.05	0.07

^a Standart sapmalar (SD) Log IU/mL cinsindendir.

^b Analizler Arası; Çalışma İçi ve Çalışma Arası bileşenleri içerir.

^c Toplam; Çalışma İçi, Çalışma Arası ve Lot/Cihaz Arası bileşenleri içerir.

^d Panel üyesi 1'in ortalama konsantrasyonu LoD'nin altındadır. Hassasiyet hesaplamaları, tayin edilen tekrarlarla dayalıdır.

^e Çalışma İçi SD aynı zamanda Tekrarlanabilirlik olarak da bilinir. Toplam SD aynı zamanda Yeniden Üretilirlik olarak da bilinir.

Panel Üyesi 1 (LLoQ yakınında) için Tekrarlanabilirlik ve Yeniden Üretilirlik sırasıyla 0.26 Log IU/mL ve 0.27 Log IU/mL; Panel Üyesi 2 (LLoQ yakınında) için ise sırasıyla 0.23 Log IU/mL ve 0.25 Log IU/mL'dir. Panel Üyesi 5 (ULoQ yakınında) için Tekrarlanabilirlik ve Yeniden Üretilirlik sırasıyla 0.12 Log IU/mL ve 0.14 Log IU/mL; Panel Üyesi 6 (ULoQ yakınında) için ise sırasıyla 0.04 Log IU/mL ve 0.07 Log IU/mL'dir.

Korelasyon

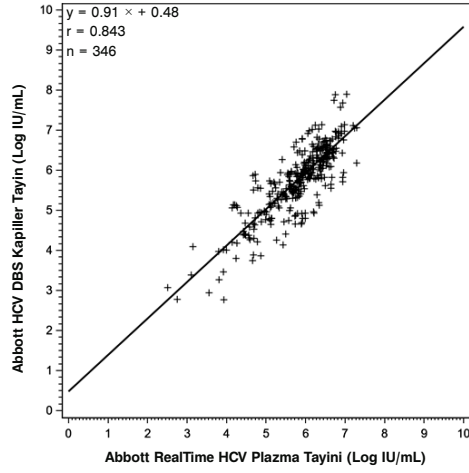
HCV RNA tayini için karşılaştırma, kurumuş kan damlaları kullanılarak yapılan Abbott RealTime HCV analizi ile insan plazması kullanılarak yapılan CE işaretli karşılaştırmalı analiz Abbott RealTime HCV testi arasında yapılmıştır. Analize toplam 346 gönüllüye ait (Gürcistan, Kamerun ve Yunanistan'da numune alınan ve test edilen) plazma ve DBS numuneleri dahil edilmiştir. Venöz kandan hazırlanan DBS ve kapiller kandan (parmakten alınan) hazırlanan DBS numunelerinin her ikisi de DBS için Abbott RealTime HCV analizi ile test edilmiştir. Analizlerin dinamik aralıkları içinde yer alan numunelerden elde edilen kantitatif sonuçlar, en küçük karelere yönelik lineer regresyon yöntemi ve Bland-Altman yanlışlık yöntemi (plazmaya karşı kapiller DBS N=346, plazmaya karşı venöz DBS N=346 ve venöz DBS'ye karşı kapiller DBS N=345) ile analiz edilmiştir. Plazma ve kapiller DBS arasındaki korelasyon için korelasyon katsayısı 0.843; eğim 0.91 (%95 GA 0.85 ila 0.97) ve kesişim 0.48 Log IU/mL (%95 GA 0.12 ila 0.84) (**Şekil 2**) olarak bulunmuştur. Plazma ve venöz DBS arasındaki korelasyon için korelasyon katsayısı 0.840; eğim 0.94 (%95 GA 0.88 ila 1.00) ve kesişim 0.31 Log IU/mL (%95 GA -0.07 ila 0.69) (**Şekil 3**) olarak bulunmuştur. Venöz DBS ve kapiller DBS arasındaki korelasyon için korelasyon katsayısı 0.943; eğim 0.91 (%95 GA 0.87 ila 0.94) ve kesişim 0.53 Log IU/mL (%95 GA 0.33 ila 0.72) (**Şekil 4**) olarak bulunmuştur. Ayrıca bu karşılaştırmaların Bland-Altman grafikleri **Şekil 5**, **Şekil 6** ve **Şekil 7**'de verilmiştir. Plazma ve kapiller DBS arasındaki ortalama yanlışlık farkı -0.05 Log IU/mL olmuştur. Plazma ve venöz DBS arasındaki ortalama yanlışlık farkı -0.04 Log IU/mL olmuştur. Venöz DBS ve kapiller DBS arasındaki ortalama yanlışlık farkı -0.02 Log IU/mL olmuştur.

Plazma ve Kapiller DBS arasındaki tahmini yanlışlık, LLoQ ve ULoQ hedef seviyelerinde değerlendirilmiştir. Ayrıca Plazma ve Venöz DBS arasındaki tahmini yanlışlık da LLoQ ve ULoQ hedef seviyelerinde değerlendirilmiştir. Tahmini yanlışlık özeti için bkz. **Tablo 3**.

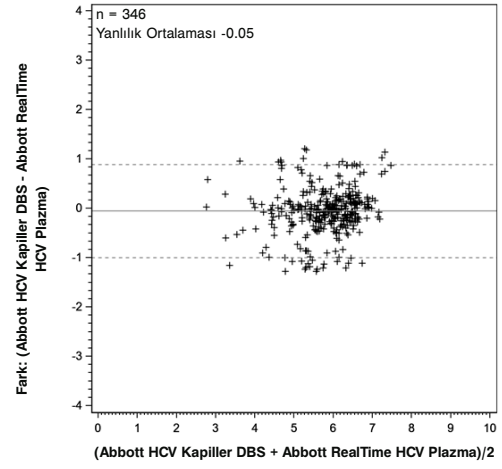
Tablo 3. LLoQ ve ULoQ Seviyesinde DBS (Kapiller veya Venöz) ve Plazma Arasındaki Tahmini Yanlışlık

Karşılaştırma	Seviye	Viral Yük Hedef Seviyesi (Log IU/mL)	Tahmini Yanlışlık (Log IU/mL)
Plazma'ya karşı Kapiller DBS	LLoQ	2.66	0.24
	ULoQ	8.00	-0.26
Plazma'ya karşı Venöz DBS	LLoQ	2.66	0.15
	ULoQ	8.00	-0.17

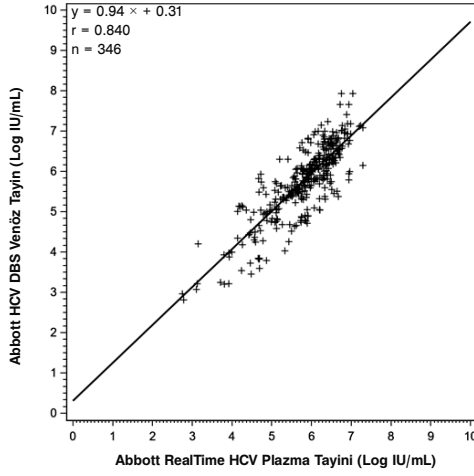
Şekil 2. Kapiller DBS ve Plazma



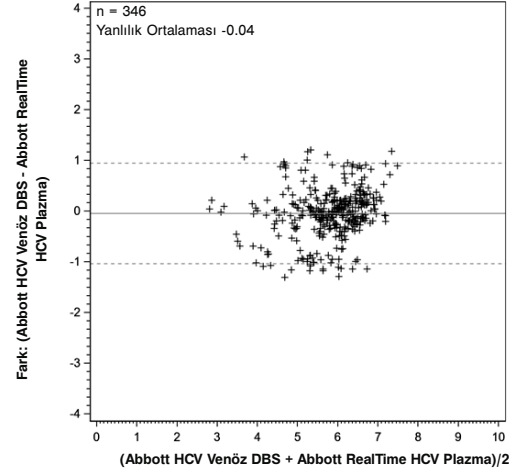
Şekil 5. Plazmaya Karşı Kapiller DBS



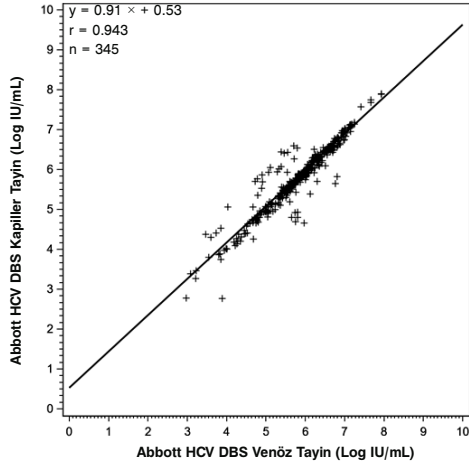
Şekil 3. Venöz DBS ve Plazma



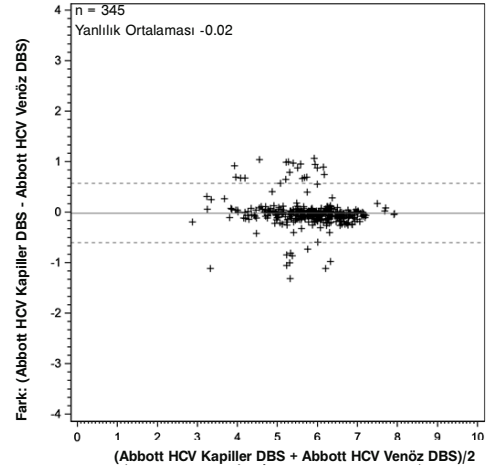
Şekil 6. Plazmaya Karşı Venöz DBS



Şekil 4. Kapiller DBS ve Venöz DBS



Şekil 7. Venöz DBS'ye Karşı Kapiller DBS



REFERANSLAR

1. Gower E, Estes C, Blach S, Razavi-Shearer K, Razavi H. Global epidemiology and genotype distribution of the hepatitis C virus infection. *J Hepatol.* 2014;61(1 Suppl):S45-S57. doi:10.1016/j.jhep.2014.07.027
2. Guidelines for the screening, care and treatment of persons with chronic hepatitis C infection. World Health Organization (WHO); updated April 2016. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/205035>
3. AASLD/IDSA HCV guidance panel. *Recommendations for testing, managing, and treating hepatitis C.* AASLD/IDSA; updated October 24, 2022. <https://www.hcvguidelines.org/>
4. European Association for the Study of the Liver. EASL Recommendations on Treatment of Hepatitis C 2018. *J Hepatol.* 2018;69(2):461-511. doi:10.1016/j.jhep.2018.03.026
5. Miller MH, Agarwal K, Austin A, et al. Review article: 2014 UK consensus guidelines - hepatitis C management and direct-acting anti-viral therapy. *Aliment Pharmacol Ther.* 2014;39(12):1363-1375. doi:10.1111/apt.12764
6. Davis GL, Esteban-Mur R, Rustgi V, et al. Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin for the treatment of relapse of chronic hepatitis C. International Hepatitis Interventional Therapy Group. *N Engl J Med.* 1998;339(21):1493-1499. doi:10.1056/NEJM199811193392102
7. Manns MP, McHutchison JG, Gordon SC, et al. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial. *Lancet.* 2001;358(9286):958-965. doi:10.1016/s0140-6736(01)06102-5
8. Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR, et al. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med.* 2002;347(13):975-982. doi:10.1056/NEJMoa020047
9. Hadziyannis SJ, Sette H Jr, Morgan TR, et al. Peginterferon-alpha2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose. *Ann Intern Med.* 2004;140(5):346-355. doi:10.7326/0003-4819-140-5-200403020-00010
10. Orlent H, Deltenre P, Francque S, et al. Update of the Belgian Association for the Study of the Liver guidelines for the treatment of chronic hepatitis C genotype 1 with protease inhibitors. *Acta Gastroenterol Belg.* 2012;75(2):245-259.
11. Halfon P, Bourlière M, Pénaranda G, Khiri H, Ouzan D. Real-time PCR assays for hepatitis C virus (HCV) RNA quantitation are adequate for clinical management of patients with chronic HCV infection. *J Clin Microbiol.* 2006;44(7):2507-2511. doi:10.1128/JCM.00163-06
12. Kowdley KV, Nelson DR, Lalezari JP, et al. On-treatment HCV RNA as a predictor of sustained virological response in HCV genotype 3-infected patients treated with daclatasvir and sofosbuvir. *Liver Int.* 2016;36(11):1611-1618. doi:10.1111/liv.13165
13. Yoshida EM, Sulkowski MS, Gane EJ, et al. Concordance of sustained virological response 4, 12, and 24 weeks post-treatment with sofosbuvir-containing regimens for hepatitis C virus. *Hepatology.* 2015;61(1):41-45. doi:10.1002/hep.27366
14. WHO Guidelines on Hepatitis B and C Testing. World Health Organization (WHO); 2017. <https://www.who.int/publications/i/item/9789241549981>
15. Saldanha J, Heath A, Aberham C, et al. World Health Organization collaborative study to establish a replacement WHO international standard for hepatitis C virus RNA nucleic acid amplification technology assays. *Vox Sang.* 2005;88(3):202-204. doi:10.1111/j.1423-0410.2005.00606.x

TEKNİK DESTEK

Teknik destek için www.molecular.abbott adresinden Abbott web sitesini ziyaret edin veya yerel temsilcinizle irtibata geçin.

GÜVENLİK VE PERFORMANS ÖZETİ BEYANI

Bu cihazın güvenlik ve performansına ilişkin bir özet (SSP), <https://ec.europa.eu/tools/eudamed> adresinde mevcuttur. European Database on Medical Devices lansmanı ardından SSP'ye bu adresten erişilebilir. Cihazın dış ambalajında yer alan UDI-DI bilgisini kullanarak cihazı arayabilirsiniz.

Abbott RealTime HCV, Avrupa Birliğine Max-Planck-Ring 2, 65205 Wiesbaden, Germany adresinde bulunan Abbott Diagnostics GmbH tarafından ithal edilir.



Abbott Molecular Inc.
1300 East Touhy Avenue
Des Plaines, IL 60018 USA



Abbott GmbH
Max-Planck-Ring 2
65205 Wiesbaden, Germany

© 2020, 2024 Abbott. Tüm Hakları Saklıdır.

51-608440/R3

Ağustos 2024

Abbott RealTime HCV

Tillegg for Dried Blood Spot (DBS)

no

GTIN

REF

04J86-010

IVD

51-608440/R3

REF 04J86-010

51-608440/R3

MERK: Endringer er markert

Forklaring av brukte symboler

GTIN

Global Trade Item Number

REF

Referansenummer

IVD

In vitro-diagnostisk medisinsk utstyr



Maksimal tillatt tid



Øvre temperaturgrense



Temperaturgrense

EC REP

Autorisert representant i Det europeiske fellesskap / EU



Produsent

INTERNASJONAL KUNDESERVICE: RING ABBOTT-REPRESENTANTEN

Dette pakningsvedlegget må leses nøye før bruk. Instruksjonene i pakningsvedlegget må følges. Prøveresultatene kan ikke garanteres å være pålitelige hvis det forekommer avvik fra instruksjonene i dette pakningsvedlegget.

Denne bruksanvisningen er et tillegg til pakningsvedlegget for Abbott RealTime HCV-analysen (listenr. 4J86), spesifikt for prøvetype med Dried Blood Spot (DBS).

MERKNAD TIL BRUKER

Hvis det oppstår en alvorlig hendelse i forbindelse med dette utstyret, skal hendelsen rapporteres til produsenten og til relevant vedkommende myndighet i medlemsstaten der brukeren og/eller pasienten er etablert. For rapportering til produsenten finnes det kontaktinformasjon i avsnittet om kundeservice eller teknisk hjelp i disse instruksjonene.

NAVN

Abbott RealTime HCV

BRUKSOMRÅDE FOR DBS

Abbott RealTime HCV-analysen er en in vitro-analyse av revers transkriptase og polymerasekjedereaksjon (RT-PCR) for kvantitering av hepatitt C-virus-RNA (HCV RNA) i fullblod som tørkede bloddråper (DBS) på kort (dvs. innhentet via venepunktur eller kapillærblod) fra HCV-infiserte personer. Abbott RealTime HCV-analysen er beregnet for bruk som et hjelpemiddel i behandlingen av HCV-infiserte pasienter som gjennomgår antiviral behandling. Abbott RealTime HCV-analysen er ikke for screening av blod, plasma, serum eller vevsdonorer for HCV og skal ikke brukes som en diagnostisk test for å bekrefte tilstedeværelse av HCV-infeksjon.

TILTENKT BRUKER

Tiltentke brukere av Abbott RealTime HCV-analysen er laboratoriepersonell.

SAMMENDRAG OG FORKLARING AV TESTEN

Hepatitt C-virus (HCV) er én av de viktigste årsakene til leversykdom. Det er anslått at ca. 1,1 % av befolkningen er kronisk infisert med hepatitt C¹, og ca. 700 000 personer dør hvert år av hepatitt C-relatert leversykdom.² HCV er et positivt RNA-virus og overføres hovedsakelig gjennom intravenøs medisiner og gjennom blodprodukter. Ca. 55 til 85 % av HCV-infiserte personer utvikler kronisk hepatitt, og opptil 30 % av kronisk infiserte personer utvikler cirrhose.¹ Forekomsten av hepatocellulært

karsinom er 2 til 4 % per år hos pasienter med cirrhose.¹

Kvantitativ måling av HCV-RNA-nivået i perifert blod har vist seg å være en avgjørende parameter i behandlingen av diverse anti-HCV-behandlinger.⁶⁻¹³ Med direkte inngripende antivirale regimer er behandlingene for HCV-infeksjon dramatisk forbedret. Målet med anti-HCV-behandlinger er å oppnå vedvarende virologisk respons (SVR), vist som fortsatt fravær av påviselig HCV RNA.²⁻⁵ Målinger av HCV-virusmengde er brukt til å individualisere behandlingsvarighet og responsveiledet behandling, eller til å fastslå og forutsi vedvarende eller ikke-vedvarende virologisk respons av antiviral behandling.²⁻⁵

Majoriteten av global HCV-byrde er funnet i land med lav og middels inntekt (LMIC).¹⁴ Identifikasjon av pasienter med aktiv HCV-infeksjon er svært begrenset i disse ressursbegrensede områdene. Fullblodprøve av tørket bloddråpe (DBS) kan brukes som et alternativ til serum eller plasma for HCV RNA-testing. DBS er et gjennomførbart alternativ som eliminerer mange logistiske og tekniske begrensninger i forbindelse med serum- eller plasmaprøvetaking, behandling, oppbevaring og forsendelse. Retningslinjer for hepatitt C-testing fra Verdens helseorganisasjon (WHO) inkluderer anbefalinger for bruk av DBS i HCV virologiske tester i ressursbegrensede områder.¹⁴

Abbott RealTime HCV-analysen for DBS bruker teknologien revers transkriptase og polymerasekjedereaksjon (RT-PCR) kombinert med homogen fluorescerende deteksjon i sanntid for kvantitering av HCV RNA i DBS. Valget av et konservert område av HCV-genomet gir deteksjon av genotyper 1 til 6. Analysen er standardisert mot WHO 2nd International Standard for Hepatitis C Virus RNA (NIBSC-kode 96/798)¹⁵, og resultatene er rapportert i internasjonale enheter/ml (IE/ml) eller tilsvarende logaritme med 10 som grunntall.

PROSEDYRENS BIOLOGISKE PRINSIPPER

Abbott RealTime HCV-analysen for DBS krever tre reagenssett:

- Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit
- Abbott RealTime HCV Control Kit
- Abbott RealTime HCV Calibrator Kit

Abbott RealTime HCV-analysen for DBS bruker RT-PCR til å generere amplifisert produkt fra HCV RNA-genomet i humane DBS-prøver. Trinnene i Abbott RealTime HCV-analysen for DBS består av preanalytisk DBS-behandling, prøveklargjøring, RT-PCR-enhet, amplifikasjon, deteksjon og resultatrapportering. Preanalytisk DBS-behandling utføres med Abbott mSample Preparation System DBS Buffer Kit før prøven lastes på Abbott m2000sp-systemet. Etter den preanalytiske DBS-behandlingen utføres alle etterfølgende trinn automatisk av Abbott m2000sp- og Abbott m2000rt-systemene.

Du finner ytterligere informasjon om prøveklargjøring, RT-PCR-enhet, amplifikasjon og deteksjon i pakningsvedlegget for Abbott RealTime HCV-analysen (listenr. 4J86).

AMPLIFIKASJONSREAGENS TIL FORLENGET BRUK

Den valgfrie funksjonen for amplifikasjonsreagens til forlenget bruk gjør det mulig å bruke amplifikasjonsreagenspakker og IC totalt to ganger. Amplifikasjonsreagenspakker som inneholder klargjort Master Mix, kan oppbevares ved -10 °C eller kaldere, lukket og beskyttet mot lys i opptil 14 dager før andre gangs bruk. Den interne kontrollen (IC) kan oppbevares lukket ved -10 °C eller kaldere i opptil 14 dager før andre gangs bruk. Andre gangs bruk skal ikke overskride reagensens utløpsdato.

Du finner en oversikt over denne funksjonen i vedlegg 1 i denne bruksanvisningen.

Gjennom hele denne bruksanvisningen blir amplifikasjonsreagenspakker og IC som ennå ikke er brukt, referert til som nye amplifikasjonsreagenspakker og IC (dvs. første gangs bruk). Amplifikasjonsreagenspakker som er brukt én gang, og som inneholder klargjort Master Mix, blir referert til som delvis amplifikasjonsreagenspakker. IC-hetteglass som er brukt én gang, kalles delvis IC-hetteglass.

FORHINDRING AV NUKLEINSYREKONTAMINERING

Se pakningsvedlegget for Abbott RealTime HCV-analyse (listenr. 4J86).

REAGENSER

Se pakningsvedlegget for Abbott RealTime HCV-analyse (listenr. 4J86).

ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER

IVD

Til in vitro-diagnostisk bruk

Abbott RealTime HCV-analysen for DBS er ikke for screening av blod, plasma, serum eller vevsdonorer for HCV og skal heller ikke brukes som en diagnostisk test for å bekrefte tilstedeværelse av HCV-infeksjon.

SIKKERHETSTILTAK

Se pakningsvedlegget for Abbott RealTime HCV-analyse (listenr. 4J86).

Abbott RealTime HCV-analyse for DBS bruker kun Abbott m2000sp- og Abbott m2000rt-instrumenter.

SPESIELLE FORHOLDSREGLER

Forholdsregler ved håndtering av DBS-prøver

Abbott RealTime HCV-analysen for DBS skal kun brukes med fullblod- eller DBS-prøver som er håndtert og lagret som beskrevet i avsnittet **PRØVETAKING, OPPBEVARING OG TRANSPORT TIL TESTOMRÅDET**.

Se pakningsvedlegget for Abbott RealTime HCV-analyse (listenr. 4J86).

Spesifikke forholdsregler for håndtering av DBS:

- Påse at DBS-kort er helt tørre før oppbevaring i pose med tørkemidler. Uegnet spotting, tørking, oppbevaring og håndtering av DBS kan føre til unøyaktige testresultater.
- Bruk en ny pipettespiss for hver DBS-prøve når du skyver dråpen fra det perforerte DBS-kortet, for å unngå overføring av kontaminering. Hvis det brukes et ikke-perforert DBS-kort, må du påse at verktøyet som brukes til å skjære ut dråpen, dekontamineres før og etter kontakt med DBS-prøven.

Arbeidsområder

Kun to dedikerte områder, prøveklargjøringsområde og amplifikasjonsområde, anbefales når Abbott m2000sp og Abbott m2000rt brukes.

Se pakningsvedlegget for Abbott RealTime HCV-analyse (listenr. 4J86).

Aerosolkontaminering

Se pakningsvedlegget for Abbott RealTime HCV-analyse (listenr. 4J86).

Kontaminering og hemming

Se pakningsvedlegget for Abbott RealTime HCV-analyse (listenr. 4J86).

Kontaminering fra eksternt dU-inneholdende amplifisert produkt

Laboratorier som bruker eller har brukt HCV-amplifikasjonstester som inkluderer post-PCR-behandling av det amplifiserte produktet, kan kontamineres med dU-inneholdende amplifiserte produkter. Slik kontaminering kan føre til unøyaktige resultater i Abbott RealTime HCV-analysen for DBS. Se avsnittet **Overvåke laboratoriet for tilstedeværelse av kontaminering** i pakningsvedlegget for Abbott RealTime HCV-analyse (listenr. 4J86). Når negative kontroller er vedvarende reaktive eller der det er sannsynlig at kontaminering med det dU-inneholdende HCV-amplifiserte produktet har forekommet, anbefales det at laboratoriet bruker kontrollprosedyre for kontaminering av uracil-N-glykosylase (UNG) hvis dekontaminering av laboratoriet mislykkes.

INSTRUKSJONER FOR OPPBEVARING

Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit (listenr. 4J86-90)

- **Nye og delvise** Abbott RealTime HCV-amplifikasjonsreagenspakker og intern kontroll-hetteglass (IC) må oppbevares ved -10°C eller kaldere når de ikke er i bruk. Det må tas hensyn til at Abbott RealTime HCV-amplifikasjonsreagenspakken som er i bruk, skal holdes borte fra direkte kontakt med prøver, kalibratorer og kontroller.
- **Delvise** amplifikasjonsreagenspakker og IC må oppbevares ved -10°C eller kaldere, lukket, oppreist og beskyttet mot lys etter første gangs bruk. Hvis de oppbevares på denne måten, kan **delvise** amplifikasjonsreagenspakker med klargjort Master Mix brukes en andre gang innen 14 dager etter første gangs bruk. IC kan også brukes en andre gang innen 14 dager etter opptining, hvis den oppbevares lukket ved -10°C eller kaldere. Etter to gangers bruk skal delvise amplifikasjonsreagenspakker og IC kasseres. Andre gangers bruk skal ikke overskride reagensens utløpsdato.

Abbott RealTime HCV Control Kit (listenr. 4J86-80)



- Abbott RealTime HCV negative og positive kontroller må oppbevares ved -10°C eller kaldere.

Abbott RealTime HCV Calibrator Kit (listenr. 4J86-70)



- Abbott RealTime HCV Calibrator A og Calibrator B må oppbevares ved -10°C eller kaldere.

TRANSPORTBETINGELSER

Se pakningsvedlegget for Abbott RealTime HCV-analyse (listenr. 4J86).

INDIKASJON PÅ USTABILITET ELLER FORRINGELSE AV REAGENSER

Se pakningsvedlegget for Abbott RealTime HCV-analyse (listenr. 4J86).

INSTRUMENTPROSEDYRE

Abbott RealTime HCV for DBS-programfil må installeres på Abbott m2000sp- og Abbott m2000rt-systemer fra Abbott RealTime HCV m2000 ROW System Combined Application CD-ROM (listenr. 01L69-040 eller nyere) før analysen utføres. Hvis du vil ha detaljert informasjon om installasjon av programfiler, kan du se i avsnittet Betjeningsanvisninger i brukerhåndboken for Abbott m2000sp og Abbott m2000rt.

PRØVETAKING, OPPBEVARING OG TRANSPORT AV PRØVER TIL TESTSTEDET

Prøvetaking og oppbevaring

- Bruk fingerstikk eller EDTA-fullblod til å klargjøre DBS. EDTA-fullblod skal opprettholdes under kontrollerte temperaturforhold under oppbevaring og forsendelse (2 til 8°C i opptil 48 timer, eller ved omgivelsestemperatur som ikke overskrider 30°C i opptil 24 timer).
- EDTA-fullblod som innhentes i et rør, skal blandes godt ved å snu røret forsiktig før spotting. Plasser blodet i sirkelene på 12 millimeter på Ahlstrom-Munktel TFN-papirkort eller Whatman 903, og påse at hele sirkelen er dekket. Det anbefales at minst $70\text{ }\mu\text{l}$ blod (ca. 3–5 bloddråper) brukes for hver sirkel for å sikre full dekk.
- Lufttørk kortet ved omgivelsestemperatur i minst 3 timer. Pakk hvert kort i en lukkbar pose med tørkemiddelpakker (minst to til tre tørkemiddelpakker).
- DBS-prøvekort kan oppbevares under forholdene som er angitt i tabellen nedenfor, før analyseprosessen.

Oppbevaring av DBS-prøvekort

Forhold	Maksimal lagringstid
2 til 30°C ved romfuktighet	18 uker
$\leq 37^{\circ}\text{C}$ ved romfuktighet	12 uker
$\leq 45^{\circ}\text{C}$ ved romfuktighet	8 uker
$\leq 38^{\circ}\text{C}$ ved høy luftfuktighet ($\leq 85\%$)	4 uker
-25°C til -15°C ved romfuktighet	18 uker
-70°C eller kaldere ved romfuktighet	18 uker

Transport av prøver

Send prøver i henhold til den anbefalte temperaturen og tiden for oppbevaring som er angitt i avsnittet **Prøvetaking og oppbevaring** ovenfor. For forsendelser innenlands eller utenlands skal prøver pakkes og merkes i samsvar med gjeldende nasjonale og internasjonale forskrifter som dekker transport av kliniske, diagnostiske eller biologiske prøver.

ABBOTT REALTIME HCV-ANALYSEPROSEDYRE FOR DBS

Nødvendige materialer som ikke følger med

- Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit (listenr. 4J86-90)
- Abbott RealTime HCV Calibrator Kit (listenr. 4J86-70)
- Abbott RealTime HCV Control Kit (listenr. 4J86-80)

Prøveklargjøringsområde for Abbott m2000sp Instrument

- Abbott mSample Preparation System DBS Buffer Kit (listenr. 09N02-001)
- Abbott m2000sp Instrument (listenr. 09K14-01, 09K14-02)
- Abbott mSample Preparation System (4 × 24 Preps) (listenr. 04J70-24)
- Kalibrerte presisjonspipetter som kan tilføre $20\text{--}1000\text{ }\mu\text{l}$ (kalibrerte presisjonspipetter som kan tilføre $< 20\text{ }\mu\text{l}$, kan være nødvendig ved bruk av UNG.)
- Pipettespisser med aerosolbarriere på $20\text{--}1000\text{ }\mu\text{l}$ (pipettespisser med aerosolbarriere som kan tilføre $< 20\text{ }\mu\text{l}$, kan være nødvendig ved bruk av UNG.)

- Vortex-mikser
- Master Mix Tube (listenr. 04J71-80)
- Abbott 96-Deep-Well Plate (listenr. 04J71-30)
- 5 ml reaksjonsbeholdere (listenr. 04J71-20)
- 200 ml reagensbeholdere (listenr. 04J71-60)
- Abbott 96-Well Optical Reaction Plate (listenr. 04J71-70)
- Abbott Optical Adhesive Covers (listenr. 04J71-75)
- Abbott Adhesive Cover Applicators (listenr. 9K32-01)
- Abbott Splash-Free Support Base (listenr. 9K31-01)
- Abbott RealTime HCV m2000 ROW System Combined Application CD-ROM (listenr. 01L69-040 eller nyere)
- m2000 System 13mm DBS-PoS Set (listenr. 09N03-001)
- 1,4 ml mikrohetteglass, 15 mm lokk (listenr. 03N20-01), tilleggsutstyr
- Uracil N-Glykosylase (UNG)^a (listenr. 6L87-02)

^aVed behov, i henhold til avsnittet **Kontaminering fra eksternt dU-inneholdende amplifisert produkt** i denne bruksanvisningen.

Amplifikasjonsområde for Abbott m2000rt Instrument

- Abbott m2000rt Instrument (listenr. 9K15-01)
- Abbott RealTime HCV m2000 ROW System Combined Application CD-ROM (listenr. 01L69-040 eller nyere)
- Abbott m2000rt Optical Calibration Kit (listenr. 04J71-93)

Annet materiale

- Biologisk sikkerhetskabinett som er godkjent for arbeid med smittefarlige materialer
- Lukkbar pose for DBS-kort
- Tørkemiddelpakke for DBS-kort
- Ahlstrom-Munktel TFN-papirkort og/eller Whatman 903
- Lukkbar plastpose for kassering av 96-brønners reaksjonsplate
- RNase-fritt vann (Eppendorf eller tilsvarende)^b
- 1,7 ml mikrosentrifugerør med molekylærbiologisk kvalitet (Dot Scientific, Inc. eller tilsvarende)^b
- Applikatorer med bomullsspiss (Puritan eller tilsvarende)^b

^b**Merk:** Disse tre elementene brukes i prosedyren for Overvåking av laboratoriet for tilstedeværelse av kontaminering. Se avsnittet **PROSEDYRER FOR KVALITETSKONTROLL i Abbott RealTime HCV-analysen (listenr. 4J86).**

Prosedyretiltak

- Les instruksjonene i denne bruksanvisningen nøye før du behandler prøver.
- Amplifikasjonsreagenser og intern kontroll kan brukes opptil to ganger, som beskrevet i denne bruksanvisningen. Hetteglass for Abbott RealTime HCV Calibrators, negativ kontroll, lav positiv kontroll og høy positiv kontroll er kun beregnet for engangsbruk og skal kasseres etter bruk.
- Bruk pipettespiss med aerosolbarriere eller engangspipetter kun én gang ved pipettering av prøver eller IC. For å unngå kontaminering til pipettesylinderen under pipettering må det utvises forsiktighet, slik at pipettesylinderen ikke berører innsiden av prøverøret eller beholderen. Bruk av forlengede pipettespiss med aerosolbarriere anbefales.
- Du finner overvåkingsprosedyrer for tilstedeværelse av amplifikasjonsproduktet i avsnittet **PROSEDYRER FOR KVALITETSKONTROLL.**
- Rengjør og desinfiser søl av prøver ved å inkludere bruken av et tuberkulocid desinfiseringsmiddel som 1,0 % natriumhypokloritt eller annet egnet desinfiseringsmiddel for å redusere risikoen for nukleinsyrekontaminering.
- Abbott RealTime HCV-kalibratorene og -kontrollene må klargjøres i forbindelse med prøvene som skal testes. Bruk av Abbott RealTime HCV-kontroller og -kalibrаторer er en vesentlig del av ytelsen til Abbott RealTime HCV-analysen. Se avsnittet **PROSEDYRER FOR KVALITETSKONTROLL.**
- Abbott m2000sp Master Mix Addition-protokollen må startes innen 1 time etter at prøveklargjøring er fullført.
- Hvis Abbott m2000sp Master Mix Addition-protokollen avbrytes, må amplifikasjonsreagensene som ble brukt for andre gang, kasseres. Nye reagenspakker som brukes for første gang, kan lagres og oppbevares for senere bruk som beskrevet i denne håndboken.
- Abbott m2000rt-protokollen må startes innen 50 minutter etter oppstart av Master Mix Addition-protokollen. Hvis Abbott m2000rt Instrument ikke startes innen 50 minutter, eller forstyrres eller avbrytes, må du forsegle Abbott 96-Well Optical Reaction Plate i en lukkbar pose og kassere den i henhold til brukerhåndboken for Abbott m2000rt sammen med hanskene som ble brukt til å håndtere platen.

VIKTIG: Amplifikasjonsreagenser som skal brukes en andre gang, må oppbevares ved –10 °C eller kaldere innen 50 minutter etter oppstart av Master Mix Addition-protokollen.

ANALYSEPROTOKOLL: DBS-PRØVER VED BRUK AV ABBOTT m2000sp- OG ABBOTT m2000rt-INSTRUMENTENE

Hvis du vil ha en detaljert beskrivelse av hvordan du utfører en Abbott m2000sp- og Abbott m2000rt-instrumentprotokoll, kan du se i avsnittene Betjeningsanvisninger i brukerhåndbøkene for Abbott m2000sp og Abbott m2000rt. DBS-protokollen krever Abbott m2000sp med programvareversjon 6.0 eller nyere. Følg brukerhåndboken for Abbott m2000sp (liste 09K20 versjon 6 eller nyere).

Det kan behandles totalt 96 prøver i hver kjøring. En Abbott RealTime HCV Negative Control, Low Positive Control og High Positive Control er inkludert i hver kjøring, slik at maksimalt 93 DBS-prøver kan behandles per kjøring når kalibrаторer ikke er inkludert. Behandle kalibrаторer og kontroller direkte som væskeprøver. Trinn 1 til 5 er kun for DBS. Plasma- eller serumprøver skal ikke behandles i noen som helst kjøring der DBS-protokollen brukes. For hver DBS-prøve skal det brukes ett Abbott Master Mix Tube for hele prøvebehandlingsprosedyren. Påse at DBS-prøver er merket gjennom hele prosessen.

1. Fyll Abbott Master Mix Tube med 1,3 ml mDBS-buffer fra Abbott mSample Preparation System DBS Buffer Kit (listenr. 09N02-001).

MERK: Bruk ikke mLysis Buffer eller andre reagenser i dette trinnet

2. Hold det perforerte DBS-papirkortet over Abbott Master Mix Tube.
3. Skyv DBS-sirkelen ut av kortet med en ren pipettespiss, 1 DBS-sirkel per Abbott Master Mix Tube. Hver DBS skal ha en diameter på ca. 12 millimeter.

MERK: BRUK EN NY PIPETTESPISS FOR HVER DBS-PRØVE FOR Å UNNGÅ KRYSSKONTAMINERING.

Alternativt, fra ikke-perforert DBS-papir, skjær ut 1 hel DBS (ca. 12 millimeter i diameter) for hver prøve, og overfør til et Abbott Master Mix Tube.

MERK: Unngå direkte kontakt mellom skjæreoverflaten og DBS-prøver. Dekontaminer verktøyet som brukes til å kutte DBS mellom prøver, hvis nødvendig, i henhold til gode rutiner for laboratorier.

4. Påse at DBS-sirkelen er helt nedsenket i mDBS Buffer ved å dunke lett på røret eller bruke pipettespissen til å skyve DBS inn i bufferen.

MERK: Hvis en pipettespiss brukes til å skyve DBS inn i bufferen, må du påse at pipettespissen ikke fører til tap av DBS-buffervolum som følge av oppdemming av væske i spissen og/eller absorpsjon av bufferen av spissfilteret.

5. Rist eller roter prøverørene manuelt. Ikke ha prøvene i vortex. Inkuber i 30 minutter (± 2 minutter) ved omgivelsestemperatur.
6. Tin samtidig analysekontrollene og intern kontroll (IC) ved 15 til 30 °C eller ved 2 til 8 °C. Kalibratorene skal bare tines ved 15 til 30 °C eller ved 2 til 8 °C hvis du utfører en kalibrering.

MERK: Etter tining kan analysekontroller, IC og kalibrаторer oppbevares ved 2 til 8 °C i opptil 24 timer før bruk.

7. Ha hver analysekalibrатор og hver kontroll i vortex tre ganger i 2–3 sekunder før bruk. Påse at innholdet i hvert hetteglass er i bunnen ved å dunke hetteglassene lett mot benken for å få væske til bunnen av hetteglasset. Påse at det ikke dannes bobler eller skum. Hvis det er til stede, må du fjerne det med en steril pipettespiss, og med en ny spiss for hvert hetteglass.
8. Tin amplifikasjonsreagenser ved 15 til 30 °C eller ved 2 til 8 °C, og oppbevar dem ved 2 til 8 °C frem til amplifikasjonsprosedyren med Master Mix.
9. Velg nye og/eller delvise amplifikasjonsreagenspakker som skal brukes i kjøringen. Du finner instruksjoner om lagerstyring for amplifikasjonsreagenspakke i avsnittet Betjeningsanvisninger i brukerhåndboken for Abbott m2000sp (listenr. 09K20, versjon 6 eller nyere). Amplifikasjonsreagenspakker må ha samme partnummer. Tin nye amplifikasjonsreagenser ved 15 til 30 °C eller ved 2 til 8 °C, og oppbevar dem ved 2 til 8 °C frem til amplifikasjonsprosedyren med Master Mix er nødvendig.

MERK: Etter tining kan de nye amplifikasjonsreagensene oppbevares ved 2 til 8 °C i opptil 24 timer hvis de ikke brukes umiddelbart. Delvise amplifikasjonsreagenspakker som brukes en andre gang, skal IKKE oppbevares ved 2 til 8 °C før bruk. Disse skal oppbevares ved –10 °C eller kaldere frem til tilføyelsen av Master Mix er nødvendig. Når de er tatt ut av fryseren, skal kumulativ eksponering i romtemperatur ikke overskride 25 minutter, inkludert tilfeller der pakker tas ut av oppbevaring, men ikke brukes. Hvis 25 minutter overskrides, skal de delvise amplifikasjonsreagenspakkene kasseres.

Tabellen nedenfor viser antallet reagenser for prøveklargjøring og hetteglass for intern kontroll som er nødvendig, basert på antall reaksjoner.

Krav til reagenser for prøveklargjøring og intern kontroll				
Reagens	1 til 24 reaksjoner	25 til 48 reaksjoner	49 til 72 reaksjoner	73 til 96 reaksjoner
<i>m</i> Microparticles	1 flaske	2 flasker	2 flasker	2 flasker
<i>m</i> Lysis	1 flaske	2 flasker	3 flasker	4 flasker
<i>m</i> Wash 1	1 flaske	2 flasker	3 flasker	4 flasker
<i>m</i> Wash 2	1 flaske	2 flasker	3 flasker	4 flasker
<i>m</i> Elution Buffer	1 flaske	2 flasker	3 flasker	4 flasker
Intern kontroll ^a	1 nytt hetteglass eller 1 delvis hetteglass	1 nytt hetteglass eller 2 delvis hetteglass	2 nye hetteglass eller 3 delvis hetteglass	2 nye hetteglass eller 4 delvis hetteglass

^aEn kombinasjon av nye og delvis hetteglass for intern kontroll kan brukes.

- Vend Abbott *m*Sample Preparation-flaskene forsiktig for å påse en homogen løsning. Hvis det observeres krystaller i noen av reagensflaskene ved åpning, må reagensen være i romtemperatur til krystallene forsvinner. Reagensene skal ikke brukes før krystallene er oppløst.
- Ha hver IC i vortex tre ganger i 2–3 sekunder før bruk.
- Bruk en kalibrert presisjonspipette som **KUN ER DEDIKERT TIL INTERN KONTROLL**, til å tilsette 500 µl med IC i hver flaske med *m*Lysis Buffer. Bland ved å vende beholderen forsiktig 5–10 ganger for å redusere skumdannelse. For andre gangs bruk kan lokket settes tilbake på delvis hetteglass med IC, og de kan oppbevares ved –10 °C eller kaldere.
- Plasser de lave og høye positive kontrollene, den negative kontrollen og kalibratorene, hvis aktuelt, i Abbott *m*2000sp-prøvestativene.
- Når inkubasjonen er fullført, skal DBS-prøverørene ristes eller roteres manuelt, og deretter plasseres i Abbott *m*2000sp-prøvestativene.
MERK: Påse at Abbott *m*2000sp-prøvestativene er kalibrert spesifikt for Abbott RealTime HCV-proseduren for DBS.
- Last prøvestativene forsiktig for å unngå sprut. Hvis strekkoder brukes på røretikettene, må de vende mot høyre for skanning. Påse at hvert rør plasseres sikkert i prøvestativet, slik at bunnen av røret når bunnen på innsiden av stativet.
- Last inn fylte prøvestativ på Abbott *m*2000sp i etterfølgende posisjoner for prøvestativ, med det første stativet lengst til høyre på arbeidsbordet, og eventuelle ekstra stativ gradvis til venstre for det første stativet.
- Plasser reaksjonsbeholderne på 5 ml i Abbott *m*2000sp-subsystembærerene på 1 ml.
- Last inn Abbott *m*Sample Preparation System-reagenser og Abbott 96 Deep-Well Plate på Abbott *m*2000sp-arbeidsbordet som beskrevet i avsnittet Betjeningsanvisninger i brukerhåndboken for Abbott *m*2000sp.
- Velg programfilen HCV RNA DBS fra Protokoll-skjermbildet. Start protokollen for uthenting av prøve slik det er beskrevet i avsnittet Betjeningsanvisninger i brukerhåndboken for Abbott *m*2000sp.
- Angi kalibratoren (nødvendig hvis en kalibreringskurve ikke er lagret på Abbott *m*2000rt), og kontroller de partispesifikke verdiene i prøveuthenting: Feltene Arbeidsbordoppsett, Kalibrator og Kontroll. Partispesifikke verdier spesifiseres på hvert Abbott RealTime HCV-kalibreringskort og -kontrollsett.
- Abbott *m*2000sp Master Mix Addition-protokoll (trinn 28) må startes innen 1 time etter at prøveklargjøring er fullført.
MERK: Bytt hansker før du håndterer amplifikasjonsreagensene.
- Last amplifikasjonsreagensene og amplifikasjonsblandingsrøret (hvis nødvendig) inn på Abbott *m*2000sp-arbeidsbordet etter at prøveprepareringen er fullført. Følgende tabell viser antall amplifikasjonsreagenspakker som er nødvendige basert på antall reaksjoner. Hvis det bare brukes én amplifikasjonsreagenspakke, er det ikke nødvendig med et amplifikasjonsblandingsrør.

Krav til amplifikasjonsreagenspakke^a

1–24 reaksjoner	25–48 reaksjoner	49–72 reaksjoner	73–96 reaksjoner
1 hvis ny, opptil 4 med delvis pakninger	2 hvis ny, opptil 4 med delvis pakninger	3 hvis ny, opptil 4 med delvis pakninger	4 nye eller delvis pakker

^a Se brukerhåndboken for Abbott *m*2000sp (listenr. 09K20 versjon 6 eller høyere) hvis du trenger instruksjoner om lagerstyring for å bestemme største antall reaksjoner som kan testes med de delvis pakkene som er valgt.

- Delvis amplifikasjonsreagenspakker kan bare brukes på samme Abbott *m*2000sp-instrument som brukes til preparering av reagenspakken første gang. Hvis du bruker en amplifikasjonsreagenspakke for andre gang på et annet instrument, vil det føre til en feil som kan forsinke kjøringen.
- Delvis og nye amplifikasjonsreagenspakker kan brukes sammen.

VIKTIG: Delvis amplifikasjonsreagenspakker bør lagres ved

–10 °C eller kaldere til like før andre gangs bruk. Kontroller at amplifikasjonsblandingen tines før du plasserer delvis pakker på Abbott *m*2000sp-arbeidsbordet. Når delvis amplifikasjonsreagenspakker fjernes fra lagring ved –10 °C eller kaldere, må de brukes på nytt innen 25 minutter eller kastes. Dette gjelder den kumulative romtemperatursponeringen, herunder tilfeller hvor pakkene fjernes fra lagring, men ikke brukes.

- Kontroller at innholdet i nye amplifikasjonsreagenspakker er i bunnen av hetteglassene før du åpner amplifikasjonsreagensene ved å banke på hetteglassene i stående posisjon på benken 5–10 ganger.
 - Ikke bank på delvis amplifikasjonsreagenspakker som brukes en gang til. Banking kan føre til tap av volum i Master Mix-volumet i lokket.
- Ta av lokkene. Hvis en ny amplifikasjonsreagenspakke skal lagres for andre gangs bruk, må det settes lokk på hetteglassene igjen for lagring. Hvis du planlegger å bruke originallokkene på nytt på hetteglassene med reagens, må du ta vare på originallokkene. Hvis du planlegger å bruke nye lokk på hetteglassene med reagens, kan originallokkene kastes.
Følg instruksjonene nedenfor hvis uracil-N-glykosylase (UNG) brukes til kontamineringskontroll.
- Bruk en PIPETTE SOM KUN ER DEDIKERT TIL REAGENSBRUK til å tilsette spesifisert volum på 1 E/µL UNG (listenr. 6L87-02) i hetteglasset med reagens i posisjon 3 i nye og delvis amplifikasjonsreagenspakker. Bland manuelt ved å pipettere forsiktig opp og ned for alle delvis pakker. Ikke bland nye pakker.
 - Bruk tabellen nedenfor til å bestemme volumet med UNG som skal tilsettes i hetteglasset med reagens i posisjon 3 i nye og delvis amplifikasjonsreagenspakker. Hetteglasset med reagens i posisjon 3 i en ny reagenspakke inneholder det termostabile rTth-polymeraseenzymet. Reagenshetteglasset i posisjon 3 i en delvis reagenspakke inneholder amplifikasjonsblandingen.

Volum med UNG som skal tilsettes i hetteglasset med reagens i posisjon 3 i hver amplifikasjonsreagenspakke	
Tester igjen i pakken	Tilsett dette volumet med UNG (µl)
1	5
2	6
3	7
4	8
5	9
6	10
7	11
8	12
9	13
10	13
11	14
12	15
13	16
14	17
15	18
16	19
17	20
18	21
19	22
20	23
21	24
22	25
23	26
24 (ny pakke)	27

MERK: Volumet med UNG som tilsettes i hetteglasset med reagens i posisjon 3, avhenger av antallet tester som er igjen i reagenspakningen, og ikke antallet prøver som kjøres. Se brukerhåndboken for Abbott *m2000sp* hvis du vil ha instruksjoner om lagerstyring av amplifikasjonsreagenspakker, og hvordan du finner ut hvor mange tester som er igjen i en reagenspakke.

26. Delvis amplifikasjonspakker lastes inn til venstre for nye amplifikasjonsreagenspakker på Abbott *m2000sp*-arbeidsbordet.
27. Kontroller at amplifikasjonsreagenspakkene sitter godt på instrumentet.
28. Velg den aktuelle dybbrønnsplaten som samsvarer med den tilsvarende prøveprepareringsekstraksjonen. Start protokollen for Abbott *m2000sp* Master Mix Addition. Følg instruksjonene som beskrevet i avsnittet Operating Instructions i brukerhåndboken for Abbott *m2000sp*.

MERK: Operatøren må ikke fylle tomme/ikke-fylte brønner manuelt i Abbott 96-Well Optical Reaction Plate.

- Når prøveekstraksjon er fullført, fyller Abbott *m2000sp* automatisk eventuelle tomme brønner i Abbott 96-Well Optical Reaction Plate med *mElution Buffer* når det er mer enn 48 prøver som er behandlet i en kjøring. Platefylling utføres ikke for kjøring med 48 prøver eller færre.
- Hvis instrumentet gir beskjed om det, skal reagensholder 2 være på plass, og den skal minst inneholde reagensbeholderen for *mElution Buffer* (reagensholder 2, sted 6). Hvis denne reagensbeholderen er lastet ut, plasserer du en ny reagensbeholder med *mElution Buffer*-etikett i reagensholder 2, sted 6. Systemvæske tilsettes reagensbeholderen og brukes til å fylle tomme brønner. Når denne prosessen er fullført, fortsetter systemet med amplifikasjonsblandingstilsetningen.

MERK: Systemets bruksanvisning for bruk av den automatiserte platefyllingsfunksjonen finnes i brukerhåndboken for Abbott *m2000sp* (listenr. 09K20 versjon 6 eller høyere), avsnitt 5, Operating Instructions, Sample Extraction-Closed Mode.

- Abbott *m2000rt*-protokollen (trinn 33) må startes innen 50 minutter etter oppstart av protokollen for Master Mix Addition (trinn 28).

MERK: Hvis kjøringen avbrytes av en eller annen grunn etter trinn 28, må det brukes en ny Abbott 96-Well Optical Reaction Plate hvis protokollen for Abbott *m2000sp* Master Mix Addition (trinn 28) skal gjentas.

29. Slå på og start Abbott *m2000rt*-instrumentet i området Amplification.

MERK: Abbott *m2000rt* trenger 15 minutter på å bli varm.

MERK: Ta av hanskene før du går tilbake til prøveprepareringsområdet.

30. Forsegl Abbott 96-Well Optical Reaction Plate etter at Abbott *m2000sp*-instrumentet har fullført tilsetning av prøver og amplifikasjonsblanding i henhold til avsnittet Operating Instructions i brukerhåndboken for Abbott *m2000sp*.

31. Plasser den forseglede optiske reaksjonsplaten i Abbott Splash-Free Support Base for overføring til Abbott *m2000rt*-instrumentet.

Hvis uracil-N-glykosylase (UNG) brukes, må du følge instruksjonene nedenfor:

32. Overfør den forseglede optiske platen til Abbott Splash-Free Support Base, og inkuber ved romtemperatur (15 til 30 °C) i 10 minutter. Etter inkubering ved romtemperatur overføres Abbott 96-Well Optical Reaction Plate på Abbott Splash-Free Support Base til Abbott *m2000rt*-instrumentet.

33. Plasser Abbott 96-Well Optical Reaction Plate i Abbott *m2000rt*-instrumentet. Velg HCV-RNA-DBS-applikasjonsfilen fra skjermbildet Protocol. Start protokollen som beskrevet i avsnittet Operating Instructions i brukerhåndboken for Abbott *m2000rt*.

MERK: Prøvebestillingsoverføring ved hjelp av CD-ROM eller nettverkstilkobling med eksport- og importfunksjoner i *m2000sp*- og *m2000rt*-programvaren anbefales. Hvis du oppretter testbestillingen på Abbott *m2000rt* manuelt, må du angi prøve-ID-er i de tilsvarende PCR-brettposisjonene ifølge rutenettet «Wells for Selected Plate» på det detaljerte skjermbildet med «PCR Plate Results» på Abbott *m2000sp*. Se avsnitt 5 i driftshåndboken for Abbott *m2000sp*.

34. Hvis du skal bruke en preparert delvis amplifikasjonsreagenspakke en gang til, kan du sette lokk på de tre hetteglassene med reagens med de lagrede lokkene eller de nye lokkene (listenr. 3N20-01) og raskt lagre reagensene ved –10 °C eller kaldere, beskyttet mot lys og stående. Kast alle amplifikasjonsreagenspakker som er oppbrukt, eller som har blitt brukt to ganger.

VIKTIG: Amplifikasjonsreagenser som skal brukes en gang til, må lagres ved –10 °C eller kaldere innen 50 minutter etter oppstart av protokollen for amplifikasjonsblandingstilsetning.

PROSEDYRER ETTER BEHANDLING

1. Ta ut Abbott 96 Deep-Well Plate fra arbeidsbordet og kast den i henhold til brukerhåndboken for Abbott *m2000sp*.
2. Plasser Abbott 96-Well Optical Reaction Plate i en forseglbar plastpose og kast den i henhold til brukerhåndboken for Abbott *m2000rt* sammen med hanskene som ble brukt til å håndtere platen.
3. Rengjør Abbott Splash-Free Support Base før neste gangs bruk i henhold til brukerhåndboken for Abbott *m2000rt*.

PROSEDYRER FOR KVALITETSKONTROLL

Optisk kalibrering av Abbott *m2000rt*

Se pakningsvedlegg for Abbott RealTime HCV-analyse (listenr. 4J86).

Kalibrering av analysen

Se pakningsvedlegg for Abbott RealTime HCV-analyse (listenr. 4J86).

For DBS-testing ved hjelp av Abbott *m2000sp* og Abbott *m2000rt*: Når en Abbott RealTime HCV-kalibrering er godtatt og lagret, kan den brukes i 6 måneder. I løpet av denne tiden kan alle påfølgende prøver testes uten ytterligere kalibrering, med mindre:

- Det brukes en Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit med et nytt partinummer.
- Det brukes et Abbott *mSample Preparation System* (4 x 24 Preps) med et nytt partinummer.
- En ny Abbott RealTime HCV-RNA-DBS-applikasjonsfil er installert.

Påvisning av hemming

Se pakningsvedlegg for Abbott RealTime HCV-analyse (listenr. 4J86).

Negative og positive kontroller

Se pakningsvedlegg for Abbott RealTime HCV-analyse (listenr. 4J86).

Overvåking av laboratoriet for tilstedeværelse av kontaminering

Se pakningsvedlegg for Abbott RealTime HCV-analyse (listenr. 4J86).

RESULTATER FOR DBS-PRØVER

Det rapporterte DBS-prøvekonsentrasjonsresultatet fra Abbott m2000rt DBS-protokollkjøringen representerer HCV-viruskonsentrasjonen i plasma for fullblodsprøven som DBS-prøven er hentet fra. Abbott m2000rt-instrumentet rapporterer automatisk resultatene på Abbott m2000rt-arbeidsstasjonen. Analyseresultater kan rapporteres i internasjonale enheter IE/ml eller log IE/ml.

Tolkning av resultater

Resultat	Tolkning
Ikke påvist	Mål ikke påvist
< 2,66 log IE/ml ^a	Påvist
2,66–8,00 log IE/ml.	
> 8,00 log IE/ml	> ULQ ^b

^a 462 IE/ml

^b ULQ = øvre kvantifiseringsgrense

PROSEDYRENS BEGRENSNINGER

- **TIL IN VITRO-DIAGNOSTIKK**
- Optimal ytelse for denne testen krever egnet prøvetaking, -lagring og -transport til teststedet (se avsnittet **PRØVETAKING, -LAGRING OG -TRANSPORT TIL TESTSTEDET** i dette pakningsvedlegget).
- Fullblodsprøver som samles inn i EDTA-rør, kan brukes til å generere DBS som testes med Abbott RealTime HCV-analysen for DBS. Bruk av andre antikoagulantia er ikke validert med Abbott RealTime HCV-analysen for DBS.
- Bruk av Abbott RealTime HCV-analysen for DBS er begrenset til personell som har fått opplæring i prosedyrene for DBS-preparering og forbehandling, en molekylær diagnostisk analyse og Abbott m2000-systemet.
- Instrumentene og analyseprosedyrene reduserer risikoen for kontaminering fra amplifikasjonsprodukt. Nukleinsyrekontaminering fra kalibratorene, positive kontroller eller prøver må imidlertid kontrolleres med god laboratoriepraksis og omhyggelig overholdelse av prosedyrene som er angitt i dette pakningsvedlegget.
- Som med alle diagnostiske tester bør resultater fra Abbott RealTime HCV-analysen for DBS tolkes sammen med andre kliniske funn og laboratoriefunn. En prøve med resultatet «Not Detected» kan ikke antas å være negativ for HCV-RNA.
- Feil innsamling, tørking, lagring og håndtering av DBS-kort kan føre til unøyaktige testresultater.
- Ahlstrom-Munktell TFN- og Whatman 903 DBS-kort kan brukes. Bruk av andre kort er ikke validert med Abbott RealTime HCV-analysen.

SPESIFIKKE YTELSESEGNSKAPER FOR DBS-PRØVER

Påvisningsgrense (LoD)

LoD i Abbott RealTime HCV-analysen er 462 IE/ml med DBS-prøvetypen. LoD ble bestemt ved å teste DBS-prøver preparert med en fortynningsserie av WHO International Standard for hepatitt C-virus-RNA fortynnet i HCV-negativt fullblod. Testing for hver HCV-RNA-konsentrasjon ble utført med fire partier amplifikasjonsreagenser i løpet av tre dager. Resultatene, som er representative for den analytiske sensitivitetsytelsen til Abbott RealTime HCV-analysen for DBS, er sammenfattet i **tabell 1**.

Tabell 1. Abbott RealTime HCV for DBS-påvisningsgrense (LoD)

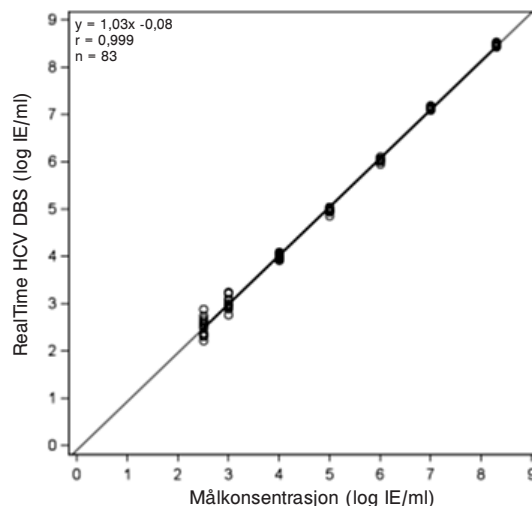
HCV-RNA (IE/ml)	Antall testede	Antall påviste	Prosent påviste
500	84	83	99
400	84	80	95
350	84	75	89
300	84	73	87
150	84	54	64
50	84	26	31

Probit-analyse av dataene viste at konsentrasjonen av HCV-RNA påvist fra tørket blodflekk med 95 % sannsynlighet var 462 IE/ml (95 % CI 381–593 IE/ml).

Lineært område

Den øvre kvantifiseringsgrensen (ULQ) for Abbott RealTime HCV-analysen er 100 millioner IE/ml, og den nedre kvantifiseringsgrensen tilsvarende LoD (462 IE/ml) for DBS-kravet. Et 7-medlemmers DBS-panel ble preparert med HCV-pansret RNA fortynnet til konsentrasjoner fra 200 millioner IE/ml til 316 IE/ml i HCV-negativt fullblod. Resultatene, som er representative for lineariteten til Abbott RealTime HCV-analysen for DBS, vises i **figur 1**.

Figur 1. Lineariteten til Abbott RealTime HCV-analyse for DBS



Abbott RealTime HCV-analysen for DBS er påvist å være lineær i området for de testede HCV-RNA-konsentrasjonene (316–200 millioner IE/ml, 2,5–8,3 log IE/ml).

Spesifisitet

Målspesifisiteten til Abbott RealTime HCV-analysen for DBS er større enn eller lik 99,5 %. Spesifisitet ble bestemt ved å analysere 119 HCV-seronegative prøver mellom to partier amplifikasjonsreagenser. Den totale spesifisiteten var 100 % (119/119).

Presisjon

Presisjon ble evaluert ved å teste et 6-medlemmers DBS-panel som skulle dekke HCV-RNA-konsentrasjonsområdet fra 316 IE/ml til 200 millioner IE/ml. Panelmedlemmer med konsentrasjoner under 5 log IE/ml (100 000 IE/ml) ble preparert med HCV-positiv klinisk prøve fortynnet i HCV-negativt fullblod, mens panelmedlemmer med konsentrasjoner over 5 log IE/ml (100 000 IE/ml) ble preparert med HCV-pansret RNA fortynnet i HCV-negativt fullblod. Hvert panelmedlem ble testet i fem replikater én gang per dag i fem dager, på tre Abbott m2000sp/rt-par med tre amplifikasjonsreagenspartier. Standardavvik (SD) innen kjøring, mellom kjøring og mellom analyser (innen kjøring og mellom kjøring) ble bestemt. Abbott RealTime HCV-analysen for DBS ble utviklet for å oppnå et standardavvik (SD) mellom analyser på mindre enn eller lik 0,25 log IE/ml HCV-RNA for prøver som inneholder HCV-konsentrasjoner fra 10 000 til 100 millioner IE/ml. Resultatene, som er representative for presisjonen til Abbott RealTime HCV-analysen for DBS, er sammenfattet i **tabell 2**.

Tabell 2. Abbott RealTime HCV-analyse for DBS-presisjon

Panelmedlem	N	Gjennomsnittlig konsentrasjon (IE/ml)	Gjennomsnittlig konsentrasjon (log IE/ml)	SD ^{a,e} innen kjøring	SD ^a mellom kjøring	SD ^{a,b} mellom analyser	SD ^a mellom partier/instrumenter	Sum ^{c,e}
1	63 ^d	420	2,62	0,26	0,07	0,27	0,00	0,27
2	75	1435	3,16	0,23	0,00	0,23	0,09	0,25
3	75	13 211	4,12	0,06	0,04	0,07	0,05	0,09
4	75	395 427	5,60	0,04	0,03	0,05	0,02	0,05
5	75	14 008 770	7,15	0,12	0,04	0,13	0,05	0,14
6	75	316 713 566	8,50	0,04	0,03	0,05	0,05	0,07

^aStandardavvik (SD) er i log IE/ml.

^bMellom analyser omfatter innen kjøring og mellom kjøring.

^cSum omfatter innen kjøring, mellom kjøring og mellom partier.

^dGjennomsnittlig konsentrasjon av panelmedlem 1 er under LoD. Presisjonsestimatene er basert på replikatene som kvantifiseres.

^eSD innen kjøring er også kjent som repeterbarhet. Total SD kalles også reproducerbarhet.

Repeterbarhet og reproducerbarhet for panelmedlem 1 (nær LLoQ) var henholdsvis 0,26 log IE/ml og 0,27 log IE/ml, og for panelmedlem 2 (nær LLoQ) var det henholdsvis 0,23 log IE/ml og 0,25 log IE/ml. Repeterbarhet og reproducerbarhet for panelmedlem 5 (nær ULQ) var henholdsvis 0,12 log IE/ml og 0,14 log IE/ml, og for panelmedlem 6 (nær ULQ) var det henholdsvis 0,04 log IE/ml og 0,07 log IE/ml.

Korrelasjon

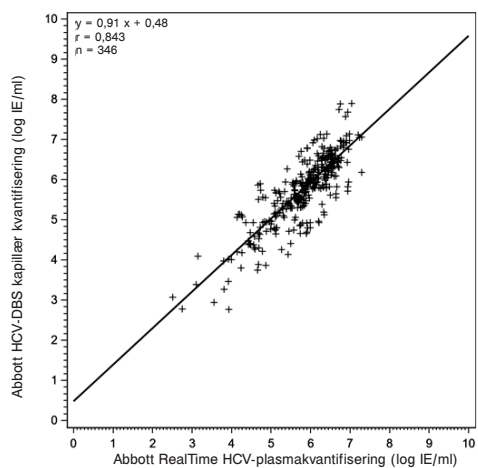
HCV-RNA-quantifisering ble sammenlignet mellom Abbott RealTime HCV-analysen ved hjelp av tørkede blodflekker og den CE-merkede komparatoranalysen, Abbott RealTime HCV-testing ved hjelp av humant plasma. Plasma- og DBS-prøver fra totalt 346 forsøkspersoner (samlet inn og testet i Georgia, Kamerun og Hellas) inngikk i analysen. Både DBS preparert fra veneblod og DBS fremstilt fra kapillærblod (fingerstikk) ble testet av Abbott RealTime HCV-analysen for DBS. De kvantitative resultatene fra prøver som falt innenfor analysenes dynamiske områder, ble analysert av minste kvadraters lineære regresjonsmetode og Bland-Altman-skjevhetmetoden (DBS kapillær vs. plasma N = 346, DBS venøs vs. plasma N = 346 og DBS kapillær vs. DBS venøs N = 345). For korrelasjon mellom DBS kapillær og plasma var korrelasjonskoeffisienten 0,843, stigningstallet var 0,91 (95 % CI 0,85–0,97), og skjæringspunktet var 0,48 log IE/ml (95 % CI 0,12–0,84)(**figur 2**). For korrelasjon mellom DBS venøs og plasma var korrelasjonskoeffisienten 0,840, stigningstallet var 0,94 (95 % CI 0,88–1,00), og skjæringspunktet var 0,31 log IE/ml (95 % CI –0,07–0,69)(**figur 3**). For korrelasjon mellom DBS kapillær og DBS venøs var korrelasjonskoeffisienten 0,943, stigningstallet var 0,91 (95 % CI 0,87–0,94), og skjæringspunktet var 0,53 log IE/ml (95 % CI 0,33–0,72)(**figur 4**). I tillegg vises Bland-Altman-plott for de samme sammenligningene i **figur 5**, **figur 6** og **figur 7**. Gjennomsnittlig forskjell i skjevhet mellom DBS kapillær og plasma var –0,05 log IE/ml. Gjennomsnittlig forskjell i skjevhet mellom DBS venøs og plasma var –0,04 log IE/ml. Gjennomsnittlig forskjell i skjevhet mellom DBS kapillær og DBS venøs var –0,02 log IE/ml.

Forventet skjevhet mellom DBS kapillær og plasma ble evaluert ved LLoQ- og ULQ-målnivåene. I tillegg ble forventet skjevhet mellom DBS venøs og plasma evaluert ved LLoQ- og ULQ-målnivåene. Sammendrag av forventet skjevhet finnes i **tabell 3**.

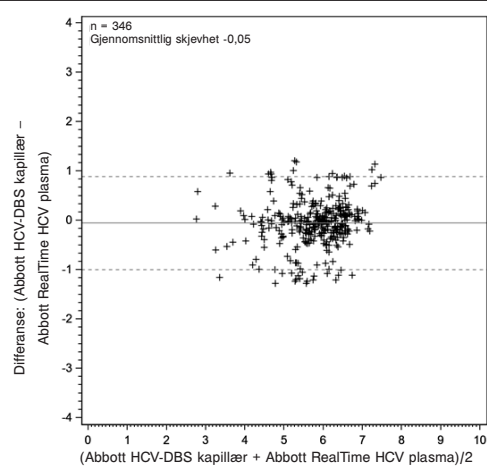
Tabell 3. Forventet skjevhet mellom DBS (kapillær eller venøs) og plasma ved LLoQ og ULQ

Sammenligning	Nivå	Målnivå for virusmengde (log IE/ml)	Antatt skjevhet (log IE/ml)
DBS kapillær vs. plasma	LLoQ	2,66	0,24
	ULQ	8,00	-0,26
DBS venøs vs. plasma	LLoQ	2,66	0,15
	ULQ	8,00	-0,17

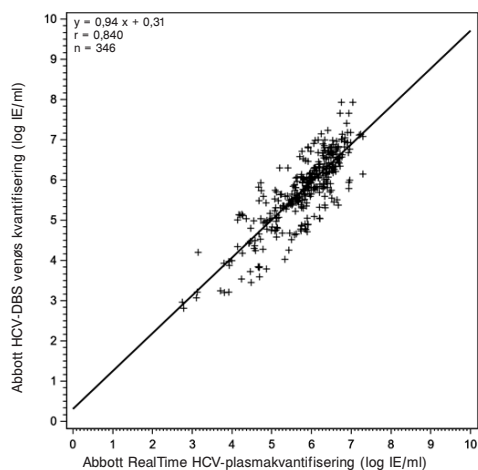
Figur 2. DBS kapillær og plasma



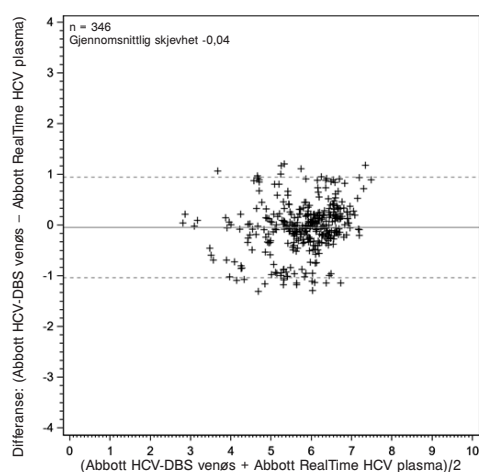
Figur 5. DBS kapillær vs. plasma



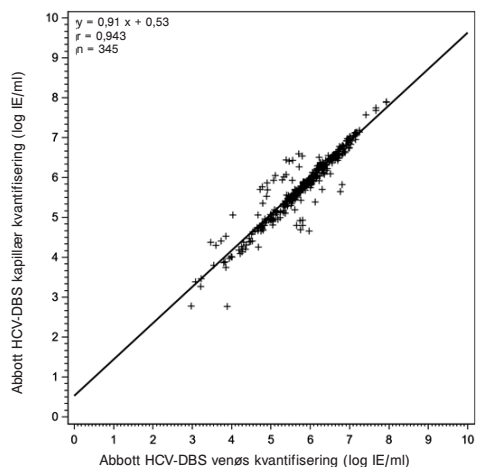
Figur 3. DBS venøs og plasma



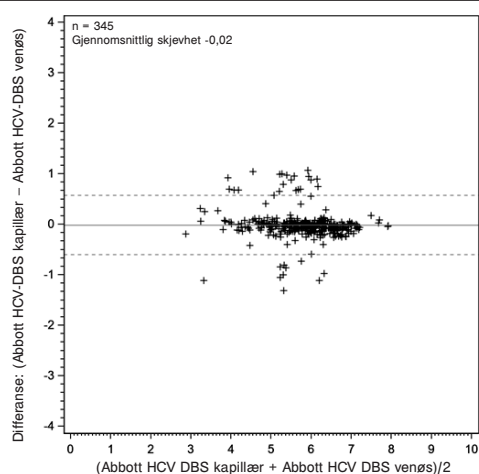
Figur 6. DBS venøs vs. plasma



Figur 4. DBS kapillær og DBS venøs



Figur 7. DBS kapillær vs. DBS venøs



BIBLIOGRAFI

1. Gower E, Estes C, Blach S, Razavi-Shearer K, Razavi H. Global epidemiology and genotype distribution of the hepatitis C virus infection. *J Hepatol.* 2014;61(1 Suppl):S45-S57. doi:10.1016/j.jhep.2014.07.027
2. Guidelines for the screening, care and treatment of persons with chronic hepatitis C infection. World Health Organization (WHO); updated April 2016. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/205035>
3. AASLD/IDSA HCV guidance panel. *Recommendations for testing, managing, and treating hepatitis C.* AASLD/IDSA; updated October 24, 2022. <https://www.hcvguidelines.org/>
4. European Association for the Study of the Liver. EASL Recommendations on Treatment of Hepatitis C 2018. *J Hepatol.* 2018;69(2):461-511. doi:10.1016/j.jhep.2018.03.026
5. Miller MH, Agarwal K, Austin A, et al. Review article: 2014 UK consensus guidelines - hepatitis C management and direct-acting anti-viral therapy. *Aliment Pharmacol Ther.* 2014;39(12):1363-1375. doi:10.1111/apt.12764
6. Davis GL, Esteban-Mur R, Rustgi V, et al. Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin for the treatment of relapse of chronic hepatitis C. International Hepatitis Interventional Therapy Group. *N Engl J Med.* 1998;339(21):1493-1499. doi:10.1056/NEJM199811193392102
7. Manns MP, McHutchison JG, Gordon SC, et al. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial. *Lancet.* 2001;358(9286):958-965. doi:10.1016/s0140-6736(01)06102-5
8. Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR, et al. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med.* 2002;347(13):975-982. doi:10.1056/NEJMoa020047
9. Hadziyannis SJ, Sette H Jr, Morgan TR, et al. Peginterferon-alpha2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose. *Ann Intern Med.* 2004;140(5):346-355. doi:10.7326/0003-4819-140-5-200403020-00010
10. Orlent H, Deltenre P, Francque S, et al. Update of the Belgian Association for the Study of the Liver guidelines for the treatment of chronic hepatitis C genotype 1 with protease inhibitors. *Acta Gastroenterol Belg.* 2012;75(2):245-259.
11. Halfon P, Bourlière M, Pénaranda G, Khiri H, Ouzan D. Real-time PCR assays for hepatitis C virus (HCV) RNA quantitation are adequate for clinical management of patients with chronic HCV infection. *J Clin Microbiol.* 2006;44(7):2507-2511. doi:10.1128/JCM.00163-06
12. Kowdley KV, Nelson DR, Lalezari JP, et al. On-treatment HCV RNA as a predictor of sustained virological response in HCV genotype 3-infected patients treated with daclatasvir and sofosbuvir. *Liver Int.* 2016;36(11):1611-1618. doi:10.1111/liv.13165
13. Yoshida EM, Sulkowski MS, Gane EJ, et al. Concordance of sustained virological response 4, 12, and 24 weeks post-treatment with sofosbuvir-containing regimens for hepatitis C virus. *Hepatology.* 2015;61(1):41-45. doi:10.1002/hep.27366
14. WHO Guidelines on Hepatitis B and C Testing. World Health Organization (WHO); 2017. <https://www.who.int/publications/i/item/9789241549981>
15. Saldanha J, Heath A, Aberham C, et al. World Health Organization collaborative study to establish a replacement WHO international standard for hepatitis C virus RNA nucleic acid amplification technology assays. *Vox Sang.* 2005;88(3):202-204. doi:10.1111/j.1423-0410.2005.00606.x

TEKNISK HJELP

Hvis du trenger teknisk hjelp, kan du ringe Abbott Technical Services på 1-800-553-7042 (i USA) eller + 49-6122-580 (utenfor USA), eller gå til Abbotts nettsted på www.molecular.abbott.

ERKLÆRING OM SAMMENDRAG AV SIKKERHET OG YTELSE

Et sammendrag av sikkerhet og ytelse (SSP = summary of safety and performance) for dette utstyret er tilgjengelig på <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>. Dette er plasseringen av SSP etter lanseringen av den europeiske databasen for medisinsk utstyr. Søk etter utstyret ved å bruke UDI-DI-en som står på utstyrets ytre emballasje.

Abbott RealTime HCV importeres til EU av Abbott Diagnostics GmbH, Max-Planck-Ring 2, 65205 Wiesbaden, Germany



Abbott Molecular Inc.
1300 East Touhy Avenue
Des Plaines, IL 60018 USA



Abbott GmbH
Max-Planck-Ring 2
65205 Wiesbaden, Germany

© 2020, 2024 Abbott. Alle rettigheter forbeholdt.

51-608440/R3

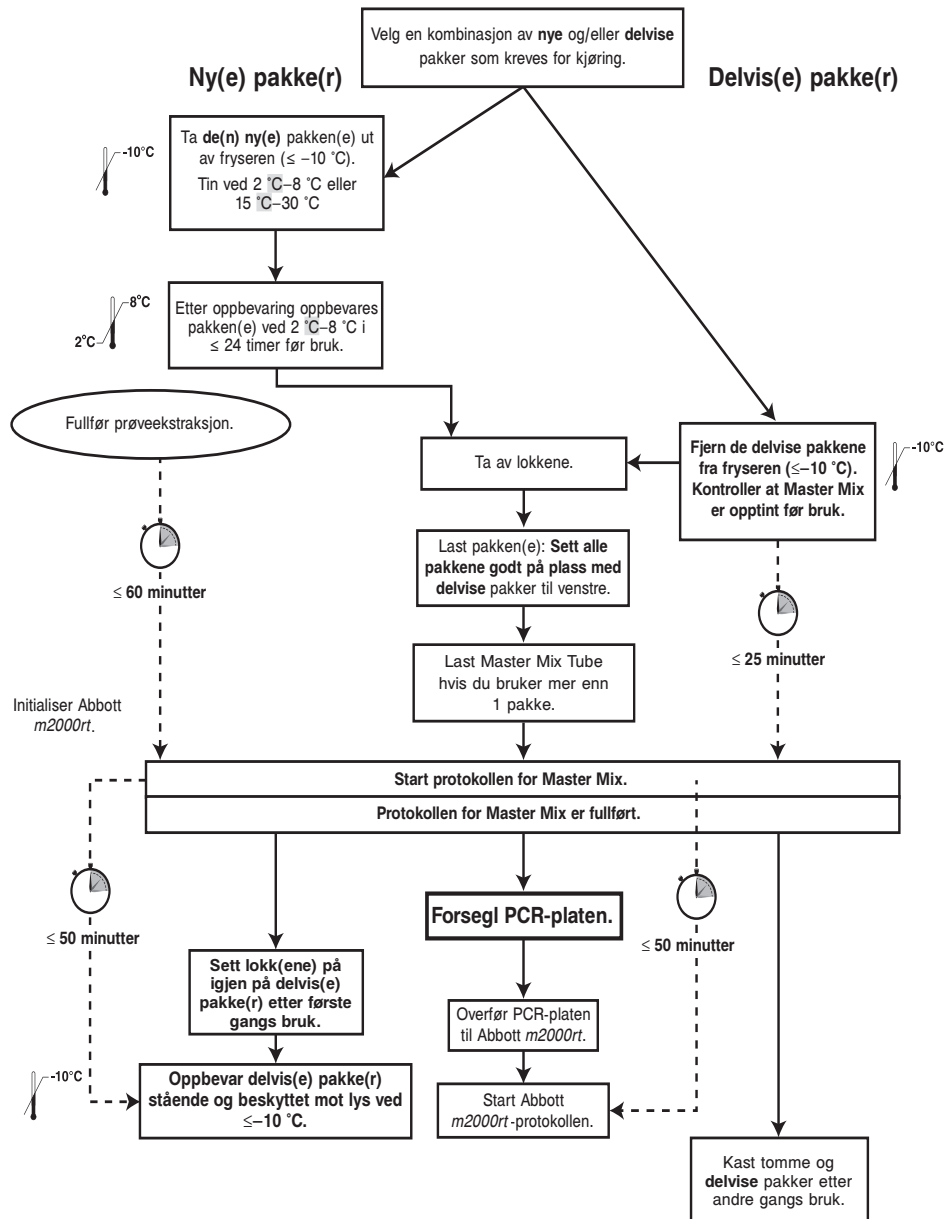
August 2024

VEDLEGG 1. OVERSIKT OVER FUNKSJON FOR UTVIDET BRUK AV ABBOTT REALTIME HCV-AMPLIFIKASJONSREAGENS

Funksjonen for utvidet bruk av amplifikasjonsreagens gjør det mulig å bruke en amplifikasjonsreagenspakke og internkontroll (IC) i alt to ganger. Amplifikasjonsreagenspakker som ennå ikke er brukt til å tilberede amplifikasjonsblanding, kalles **nye** amplifikasjonsreagenspakker. Amplifikasjonsreagenspakker som er brukt én gang og inneholder preparert amplifikasjonsblanding, kalles **delvise** amplifikasjonsreagenspakker. Mer informasjon finnes i instruksjonene i denne håndboken.

Lagringsforhold (hetteglass med amplifikasjonsreagenspakke og internkontroll)		
Pakketype	Lagringstemperatur	Lagringstid
Nye pakker	-10 °C eller kaldere	Frem til datoen som vises på etiketten
Ny IC	-10 °C eller kaldere	Frem til datoen som vises på etiketten
Delvise pakker	-10 °C eller kaldere (beskyttet mot lys)	Opptil 14 dager etter første gangs bruk
Delvis IC	-10 °C eller kaldere	Opptil 14 dager etter første gangs bruk

- Hvis du bruker UNG til prosedyre for kontamineringskontroll, kan du se spesifikke instruksjoner i analyseprotokollens trinn 25 og 32.



- Amplifikasjonsreagenspakker som kan brukes over lengre tid, må ha et 6-sifret serienummer over strekkoden.
- Delvise** amplifikasjonsreagenspakker kan bare brukes en gang til på samme instrument som første gangs bruk. Hvis du bruker dem på et annet instrument, oppstår det en behandlingsfeil som kan forsinke kjøringen.
- Delvise** og **nye** amplifikasjonsreagenspakker kan brukes sammen. Alle amplifikasjonsreagenspakker som brukes på instrumentet til en kjøring, må ha samme partinummer.

Abbott RealTime HCV

Suplemento para mancha de sangue seco (DBS)

BR

GTIN

REF

04J86-010

IVD

51-608440/R3

REF 04J86-010

51-608440/R3

Nota: Alterações em destaque

Legenda dos símbolos utilizados

GTIN

Global Trade Item Number

REF

Número de Referência

IVD

Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*



Tempo máximo permitido



Limite superior de temperatura



Limite de temperatura

EC REP

Representante autorizado na Comunidade Europeia/União Europeia



Fabricante

ATENDIMENTO AO CLIENTE INTERNACIONAL: LIGUE PARA O SEU REPRESENTANTE DA ABBOTT

Este folheto informativo deve ser lido com atenção antes do uso.

As instruções do folheto informativo devem ser seguidas de acordo.

A confiabilidade dos resultados do ensaio não pode ser garantida se houver qualquer desvio das instruções contidas neste folheto informativo.

Estas Instruções de uso (IFU) são um suplemento do folheto informativo do ensaio Abbott RealTime HCV (nº de lista 4J86), especificamente para o tipo de amostra de mancha de sangue seco (DBS).

AVISO AO USUÁRIO

Se ocorrer um incidente grave relacionado a este dispositivo, ele deve ser comunicado ao fabricante e à autoridade competente apropriada do país em que o usuário/paciente está estabelecido. Para informar ao fabricante, consulte as informações de contato fornecidas na seção de **Suporte Técnico** ou Assistência Técnica destas instruções.

NOME

Abbott RealTime HCV

USO PREVISTO PARA DBS

O ensaio Abbott RealTime HCV é um ensaio *in vitro* de reação em cadeia de polimerase de transcrição reversa (RT-PCR) para a quantificação de RNA viral da hepatite C (RNA do HCV) em sangue total aplicado em cartões como manchas de sangue seco (DBS) (isto é, obtidas por venopunção ou sangue capilar) de indivíduos infectados por HCV. O ensaio Abbott RealTime HCV deve ser usado como um auxílio no tratamento de pacientes infectados por HCV submetidos à terapia antiviral. O ensaio Abbott RealTime HCV não deve ser usado para triagem de doadores de sangue, plasma, soro ou tecido para HCV nem como um teste diagnóstico para confirmar a presença de infecção por HCV.

USUÁRIO PREVISTO

Os usuários previstos para o ensaio Abbott RealTime HCV são os profissionais de laboratório.

RESUMO E EXPLICAÇÃO DO TESTE

O vírus da hepatite C (HCV) é uma das principais causas de doença hepática. Estima-se que cerca de 1,1% da população esteja cronicamente infectada com hepatite C¹ e que aproximadamente 700.000 pessoas morram a cada ano por doença hepática relacionada à hepatite C.² O HCV é um vírus de RNA de cadeia positiva e transmitido

principalmente por meio do uso de drogas intravenosas e de hemoderivados. Cerca de 55 a 85% dos indivíduos infectados pelo HCV desenvolvem hepatite crônica, com até 30% de indivíduos infectados cronicamente desenvolvendo cirrose.¹ Em pacientes com cirrose, a incidência de carcinoma hepatocelular é de 2 a 4% ao ano.¹

A medição quantitativa do nível de RNA do HCV no sangue periférico tem se mostrado um parâmetro essencial na administração de várias terapias anti-HCV.⁶⁻¹³ Com o advento de regimes antivirais de ação direta, os tratamentos para infecção pelo HCV avançaram drasticamente. O objetivo das terapias anti-HCV é obter uma resposta virológica sustentada (SVR), apresentada como ausência contínua de RNA do HCV detectável.²⁻⁵ As medidas da carga viral do HCV têm sido usadas para individualizar a duração do tratamento e a terapia guiada pela resposta ou para determinar e prever a resposta virológica sustentada ou não sustentada da terapia antiviral.²⁻⁵

A maioria da carga global de HCV é encontrada em países de baixa e média renda (LMICs).¹⁴ A identificação de pacientes com infecção ativa por HCV é muito limitada nessas áreas com restrição de recursos. O sangue total coletado como mancha de sangue seco (DBS) pode ser usado como uma alternativa ao soro ou plasma para o teste de RNA do HCV. A DBS representa uma opção viável que elimina muitas limitações logísticas e técnicas associadas à coleta, processamento, armazenamento e envio de soro ou plasma. As Diretrizes sobre testes de hepatite C da Organização Mundial da Saúde (OMS) incluem recomendações para o uso de DBS em testes virológicos de HCV em áreas com recursos limitados.¹⁴

O ensaio Abbott RealTime HCV para DBS usa a tecnologia de reação em cadeia de polimerase de transcrição reversa (RT-PCR) combinada com a detecção fluorescente homogênea em tempo real para a quantificação de RNA do HCV em DBS. A seleção de uma região conservada do genoma do HCV permite a detecção dos genótipos 1 a 6. O ensaio é padronizado de acordo com o 2º Padrão Internacional para RNA do Vírus da Hepatite C da OMS (código NIBSC 96/798)¹⁵, e os resultados são relatados em unidades internacionais/mL (IU/mL) ou em seu logaritmo de base 10 equivalente.

PRINCÍPIOS BIOLÓGICOS DO PROCEDIMENTO

O ensaio Abbott RealTime HCV para DBS requer três kits de reagentes:

- Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit (kit de reagentes de amplificação)
- Abbott RealTime HCV Control Kit (kit de controle)
- Abbott RealTime HCV Calibrator Kit (kit do calibrador)

O ensaio Abbott RealTime HCV para DBS usa RT-PCR para gerar um produto amplificado a partir do genoma de RNA do HCV em amostras humanas de DBS. As etapas do ensaio Abbott RealTime HCV para DBS consistem em tratamento pré-analítico de DBS, preparação de amostras, montagem de RT-PCR, amplificação, detecção e relato de resultados. O tratamento pré-analítico de DBS é realizado usando o Abbott mSample Preparation System DBS Buffer Kit, antes do carregamento da amostra no sistema Abbott m2000sp. Após o tratamento pré-analítico de DBS, todas as etapas subsequentes são executadas automaticamente pelos sistemas Abbott m2000sp e Abbott m2000rt.

Consulte o folheto informativo do ensaio Abbott RealTime HCV (nº de lista 4J86) para obter mais detalhes sobre a preparação da amostra, montagem de RT-PCR, amplificação e detecção.

USO ESTENDIDO DO REAGENTE DE AMPLIFICAÇÃO

O recurso opcional de uso estendido do reagente de amplificação permite que as embalagens de reagentes de amplificação e o IC sejam usados por até duas vezes. As embalagens de reagentes de amplificação contendo o master mix preparado podem ser armazenadas a -10 °C ou menos (mais frio), tampadas e protegidas da luz, por até 14 dias antes do segundo uso. O controle interno (IC) pode ser armazenado tampado a -10 °C ou menos (mais frio) por até 14 dias antes do segundo uso. O segundo uso não deve exceder a data de validade do reagente.

Uma visão geral desse recurso é fornecida no Apêndice 1 destas instruções de uso.

Ao longo destas instruções de uso, as embalagens de reagentes de amplificação e o IC que ainda não foram usados serão chamados de embalagens novas de reagentes de amplificação e IC (ou seja, uso inicial). As embalagens de reagentes de amplificação que foram usadas uma vez e contêm o master mix preparado serão chamadas de embalagens parciais de reagentes de amplificação. Frascos de IC usados uma vez serão chamados de frascos parciais de IC.

PREVENÇÃO DE CONTAMINAÇÃO POR ÁCIDO NUCLEICO

Consulte o folheto informativo do ensaio Abbott RealTime HCV (nº de lista 4J86).

REAGENTES

Consulte o folheto informativo do ensaio Abbott RealTime HCV (nº de lista 4J86).

AVISOS E PRECAUÇÕES

IVD

Para uso em diagnóstico *in vitro*

O ensaio Abbott RealTime HCV para DBS não deve ser usado para a triagem de doadores de sangue, plasma, soro ou tecido para HCV nem como um teste diagnóstico para confirmar a presença de infecção por HCV.

PRECAUÇÕES DE SEGURANÇA

Consulte o folheto informativo do ensaio Abbott RealTime HCV (nº de lista 4J86). O ensaio Abbott RealTime HCV para DBS usa somente instrumentos Abbott m2000sp e Abbott m2000rt.

PRECAUÇÕES ESPECIAIS

Precauções de manuseio para amostras de DBS

O ensaio Abbott RealTime HCV para DBS deve ser usado somente com amostras de sangue total ou DBS que foram manuseadas e armazenadas conforme descrito na seção **COLETA, ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE DE AMOSTRAS PARA O LOCAL DE TESTE**.

Consulte o folheto informativo do ensaio Abbott RealTime HCV (nº de lista 4J86).

Precauções de manuseio específicas para DBS:

- Certifique-se de que os cartões de DBS estejam totalmente secos antes do armazenamento na bolsa com dessecantes. A criação, a secagem, o armazenamento e o manuseio inadequados de DBS podem gerar resultados de teste imprecisos.
- Para evitar contaminação residual, use uma nova ponteira de pipeta para cada amostra de DBS ao empurrar a mancha para fora do cartão de DBS perfurado. Se um cartão de DBS não perfurado for usado, certifique-se de que a ferramenta usada para aplicar a mancha seja descontaminada antes e depois do contato com a amostra de DBS.

Áreas de trabalho

Apenas duas áreas dedicadas (área de preparação de amostras e área de amplificação) são recomendadas ao usar o Abbott m2000sp e o Abbott m2000rt.

Consulte o folheto informativo do ensaio Abbott RealTime HCV (nº de lista 4J86).

Contaminação por aerossol

Consulte o folheto informativo do ensaio Abbott RealTime HCV (nº de lista 4J86).

Contaminação e inibição

Consulte o folheto informativo do ensaio Abbott RealTime HCV (nº de lista 4J86).

Contaminação de produto amplificado externo contendo dU

Laboratórios que usam ou que já usaram ensaios de amplificação de HCV que incluem o processamento pós-PCR do produto amplificado podem estar contaminados por produto amplificado contendo dU. Essa contaminação pode causar resultados imprecisos no ensaio Abbott RealTime HCV para DBS. Consulte a seção **Monitoramento do laboratório quanto à presença de contaminação** do folheto informativo do ensaio Abbott RealTime HCV (nº de lista 4J86). Quando controles negativos forem persistentemente reativos ou quando a contaminação com produto amplificado do HCV contendo dU tiver grandes chances de ter ocorrido, recomenda-se que o laboratório use o procedimento de controle de contaminação com uracil-N-glicosilase (UNG) se a descontaminação do laboratório não for bem-sucedida.

INSTRUÇÕES DE ARMAZENAMENTO

Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit (Kit de reagentes de amplificação) (nº de lista 4J86-90)



- Embalagens **novas e parciais** de Abbott RealTime HCV Amplification Reagent (reagentes de amplificação) e frascos de Internal Control (Controle Interno) (IC) devem ser armazenados a -10 °C ou menos (mais frio) quando não estiverem em uso. Deve-se tomar cuidado para evitar que a embalagem de Abbott RealTime HCV Amplification Reagent (reagentes de amplificação) em uso tenha contato direto com amostras, calibradores e controles.
- Após o uso inicial, as embalagens **parciais** de reagentes de amplificação e o IC devem ser armazenados a -10 °C ou menos (mais frio), tampados, colocados na vertical e protegidos da luz. Se armazenadas dessa forma, as embalagens **parciais** de reagentes de amplificação com o master mix preparado podem ser usadas uma segunda vez dentro de 14 dias após o uso inicial. O IC também pode ser usado uma segunda vez dentro de 14 dias após ser descongelado, se armazenado tampado a -10 °C ou menos (mais frio). Após dois usos, as embalagens parciais de reagentes de amplificação e o IC devem ser descartados. O segundo uso não deve exceder a data de validade do reagente.

Abbott RealTime HCV Control Kit (kit de controle)(nº de lista 4J86-80)



- Os Abbott RealTime HCV Negative and Positive Controls (Controles positivo e negativo) devem ser armazenados a -10 °C ou menos (mais frio).

Abbott RealTime HCV Calibrator Kit (kit do calibrador) (nº de lista 4J86-70)



- Os Abbott RealTime HCV Calibrator A and Calibrator B (Calibradores A e B) devem ser armazenados a -10 °C ou menos (mais frio).

CONDIÇÕES DE ENVIO

Consulte o folheto informativo do ensaio Abbott RealTime HCV (nº de lista 4J86).

INDICAÇÃO DE INSTABILIDADE OU DETERIORAÇÃO DOS REAGENTES

Consulte o folheto informativo do ensaio Abbott RealTime HCV (nº de lista 4J86).

PROCEDIMENTO DO INSTRUMENTO

O arquivo da aplicação Abbott RealTime HCV para DBS deve ser instalado nos sistemas Abbott m2000sp e Abbott m2000rt usando o Abbott RealTime HCV m2000 ROW System Combined Application CD-ROM (nº de lista 01L69-040 ou superior) antes de realizar o ensaio. Para obter informações detalhadas sobre a instalação do arquivo da aplicação, consulte os Manuais de Operações do Abbott m2000sp e do Abbott m2000rt, seção Instruções de operação.

COLETA, ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE DE AMOSTRAS PARA O LOCAL DE TESTE

Coleta e armazenamento da amostra

- Para preparar a DBS, use sangue total de punção do dedo ou EDTA. O sangue total em EDTA deve ser mantido sob condições de temperatura controlada durante o armazenamento e o envio (2 a 8 °C por até 48 horas ou em temperatura ambiente que não ultrapasse 30 °C por até 24 horas).
- O sangue total em EDTA coletado em um tubo deve ser misturado completamente por inversões suaves antes de aplicar a mancha. Coloque o sangue nos círculos de 12 milímetros (meia polegada) no cartão de papel TFN Ahlstrom-Munktel ou Whatman 903, garantindo que todo o círculo fique coberto. Para garantir a cobertura completa, recomenda-se que pelo menos 70 µL de sangue (aproximadamente 3 a 5 gotas de sangue) sejam usados para cada círculo.
- Deixe o cartão secar ao ar livre em temperatura ambiente por no mínimo 3 horas. Embale cada cartão em uma bolsa vedável com pelo menos 2 a 3 embalagens dessecantes.
- Os cartões de amostras de DBS podem ser armazenados nas condições especificadas na tabela a seguir antes do processamento do ensaio.

Armazenamento do cartão de amostras de DBS	
Condição	Tempo máximo de armazenamento
2 a 30 °C em umidade ambiente	18 semanas
≤37 °C em umidade ambiente	12 semanas
≤45 °C em umidade ambiente	8 semanas
≤38 °C em alta umidade (≤ 85%)	4 semanas
-25 °C a -15 °C em umidade ambiente	18 semanas
-70 °C ou menos (mais frio) em umidade ambiente	18 semanas

Transporte de amostras

Envie amostras de acordo com a temperatura e o tempo de armazenamento recomendados indicados na seção **Coleta e armazenamento da amostra** mostrada anteriormente. Para remessas nacionais e internacionais, as amostras devem ser embaladas e rotuladas em conformidade com as regulamentações estaduais, federais e internacionais aplicáveis que abrangem o transporte de amostras clínicas, biológicas ou de diagnóstico.

PROCEDIMENTO DO ENSAIO ABBOTT REALTIME HCV PARA DBS

Materiais necessários, mas não fornecidos

- Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit (kit de reagentes de amplificação) (nº de lista 4J86-90)
- Abbott RealTime HCV Calibrator Kit (kit do calibrador) (nº de lista 4J86-70)
- Abbott RealTime HCV Control Kit (kit de controle) (nº de lista 4J86-80)

Para a Área de preparação de amostras do instrumento Abbott m2000sp

- Abbott mSample Preparation System DBS Buffer Kit (kit de tampão de DBS do sistema de preparação) (nº de lista 09N02-001)
- Instrumento Abbott m2000sp (nº de lista 09K14-01, 09K14-02)
- Abbott mSample Preparation System (Sistema de preparação) (4 × 24 preparações) (nº de lista 04J70-24)
- Pipetas de precisão calibradas com capacidade para fornecer 20 a 1000 µL (Pipetas de precisão calibradas com capacidade para fornecer < 20 µL podem ser necessárias se estiver usando UNG.)
- Ponteiras de pipeta com barreira de aerossol para pipetas de 20 a 1000 µL (Ponteiras de pipeta com barreira de aerossol com capacidade para fornecer < 20 µL podem ser necessárias se estiver usando UNG.)
- Agitador vórtex
- Master Mix Tube (nº de lista 04J71-80)
- Abbott 96-Deep-Well Plate (nº de lista 04J71-30)
- 5 mL Reaction Vessels (nº de lista 04J71-20)
- 200 mL reagent vessels (nº de lista 04J71-60)
- Abbott 96-Well Optical Reaction Plate (nº de lista 04J71-70)
- Abbott Optical Adhesive Covers (nº de lista 04J71-75)
- Abbott Adhesive Cover Applicators (nº de lista 9K32-01)
- Abbott Splash-Free Support Base (nº de lista 9K31-01)
- Abbott RealTime HCV m2000 ROW System Combined Application CD-ROM (nº de lista 01L69-040 ou superior)
- m2000 System 13mm DBS-PoST Set (nº de lista 09N03-001)
- 1.4 mL Micro Vial 15mm Caps (nº de lista 03N20-01) opcionais
- Uracil-N-glicosilase (UNG)^a (nº de lista 6L87-02)

^a Se necessário, de acordo com a seção **Contaminação de produto amplificado externo contendo dU** destas instruções de uso.

Para a área de amplificação do instrumento Abbott m2000rt

- Instrumento Abbott m2000rt (nº de lista 9K15-01)
- Abbott RealTime HCV m2000 ROW System Combined Application CD-ROM (nº de lista 01L69-040 ou superior)
- Abbott m2000rt Optical Calibration Kit (kit de calibração óptica) (nº de lista 04J71-93)

Outros materiais

- Câmara de segurança biológica aprovada para trabalhar com materiais infecciosos
- Bolsa vedável para cartão de DBS
- Embalagem dessecante para cartão de DBS
- Cartão de papel TFM Ahlstrom-Munktel e/ou Whatman 903

- Bolsa plástica vedável para descarte da placa de reação de 96 poços
- Água sem RNase (Eppendorf ou equivalente)^b
- Tubos de microcentrífuga de 1,7 mL para biologia molecular (Dot Scientific, Inc. ou equivalente)^b
- Aplicadores com ponta de algodão (Puritan ou equivalente)^b

^b **Nota: Esses 3 itens são usados no procedimento de Monitoramento do laboratório quanto à presença de contaminação. Consulte a seção PROCEDIMENTOS DE CONTROLE DE QUALIDADE no folheto informativo do ensaio Abbott RealTime HCV (nº de lista 4J86).**

Precauções de procedimento

- Leia atentamente estas instruções de uso antes de processar as amostras.
 - Os reagentes de amplificação e o controle interno podem ser usados até duas vezes, conforme descrito nestas instruções de uso. Os Abbott RealTime HCV Calibrators, Negative Control, Low Positive Control, and High Positive Control vials (frascos de Calibradores, Controle negativo, Controle positivo baixo e Controle positivo alto) devem ser usados apenas uma vez e descartados após o uso.
 - Use ponteiras de pipeta com barreira de aerossol ou pipetas descartáveis apenas uma vez ao pipetar amostras ou o IC. Para evitar a contaminação do cilindro da pipeta durante a pipetagem, evite que ele entre em contato com o interior do tubo de amostra ou do recipiente. Recomenda-se o uso de ponteiras de pipeta estendidas com barreira de aerossol.
 - Os procedimentos de monitoramento da presença de produto de amplificação podem ser encontrados na seção **PROCEDIMENTOS DE CONTROLE DE QUALIDADE**.
 - Para reduzir o risco de contaminação por ácido nucleico, limpe e desinfete os respingos de amostras incluindo o uso de um desinfetante tuberculocida, como hipoclorito de sódio a 1,0% ou outro desinfetante adequado.
 - Os Abbott RealTime HCV Calibrators and Controls (Calibradores e Controles) devem ser preparados em conjunto com as amostras que serão testadas. O uso dos Abbott RealTime HCV Controls and Calibrators (Controles e Calibradores) é essencial para o desempenho do ensaio Abbott RealTime HCV. Consulte a seção **PROCEDIMENTOS DE CONTROLE DE QUALIDADE**.
 - O protocolo Abbott m2000sp Master Mix Addition deve ser iniciado dentro de 1 hora após a conclusão da Preparação da amostra.
 - Se o protocolo Abbott m2000sp Master Mix Addition for cancelado, descarte os reagentes de amplificação que estavam sendo usados pela segunda vez. Embalagens novas de reagentes usadas pela primeira vez podem ser guardadas e armazenadas para uso posterior, conforme descrito neste manual.
 - O protocolo Abbott m2000rt deve ser iniciado em até 50 minutos após o início do protocolo Master Mix Addition. Se a execução do instrumento Abbott m2000rt não for iniciada dentro de 50 minutos, ou se ela for interrompida ou cancelada, vede a Abbott 96-Well Optical Reaction Plate em uma bolsa plástica vedável e descarte-a de acordo com o Manual de Operações do Abbott m2000rt, juntamente com as luvas utilizadas para manusear a placa.
- IMPORTANTE: Os reagentes de amplificação que serão usados pela segunda vez devem ser armazenados a -10 °C ou menos (mais frio) em até 50 minutos após o início do protocolo Master Mix Addition.**

PROTOCOLO DO ENSAIO: AMOSTRAS DE DBS QUE USAM OS INSTRUMENTOS ABBOTT m2000sp E ABBOTT m2000rt

Para uma descrição detalhada de como executar um protocolo do instrumento Abbott m2000sp e Abbott m2000rt, consulte os Manuais de Operações do Abbott m2000sp e do Abbott m2000rt, seções Instruções de operação. O protocolo de DBS requer o Software Abbott m2000sp Versão 6.0 ou superior. Siga o Manual de Operações do Abbott m2000sp (nº de lista 09K20 versão 6 ou superior).

No total, 96 amostras podem ser processadas em cada execução. Um controle negativo, um controle positivo baixo e um controle positivo alto Abbott RealTime HCV estão incluídos em cada execução, permitindo que, no máximo, 93 amostras de DBS sejam processadas por execução quando os calibradores não estiverem incluídos. Processe Calibradores e Controles diretamente como amostras líquidas; as etapas 1 a 5 são apenas para DBS. Não processe amostras de plasma ou soro em nenhuma execução que utilize o protocolo de DBS. Para cada amostra de DBS, um único Abbott Master Mix Tube deve ser usado para todo o procedimento de processamento de amostra. Identifique as amostras de DBS durante todo o processamento.

1. Encha o Abbott Master Mix Tube com 1,3 mL de tampão *mDBS* do Abbott *mSample Preparation system DBS Buffer Kit* (kit de tampão de DBS do sistema de preparação) (nº de lista 09N02-001).

OBSERVAÇÃO: Não use o *mLysis Buffer* ou qualquer outro reagente para esta etapa

2. Segure o cartão de papel de DBS perfurado acima do Abbott Master Mix Tube.
3. Empurre o círculo de DBS para fora do cartão usando uma ponteira de pipeta limpa, 1 círculo de DBS por Abbott Master Mix Tube. Cada DBS deve ter aproximadamente 12 milímetros (meia polegada) de diâmetro.

OBSERVAÇÃO: USE UMA NOVA PONTEIRA DE PIPETA PARA CADA AMOSTRA DE DBS PARA EVITAR CONTAMINAÇÃO CRUZADA.

Como alternativa, no papel de DBS não perfurado, corte 1 DBS inteira (aproximadamente 12 milímetros de diâmetro) para cada amostra e transfira para um Abbott Master Mix Tube.

OBSERVAÇÃO: Evite o contato direto da superfície de corte com amostras de DBS. Descontamine a ferramenta usada para cortar a DBS entre as amostras, se necessário, de acordo com as boas práticas laboratoriais.

4. Certifique-se de que o círculo de DBS esteja totalmente submerso no tampão *mDBS*. Para isso, bata no tubo ou use a ponteira da pipeta para empurrar a DBS para dentro do tampão.
5. Agite ou gire manualmente os tubos de amostra. Não agite as amostras em vórtex. Incube por 30 minutos ($\pm$ 2 minutos) em temperatura ambiente.
6. Enquanto isso, descongele os controles do ensaio e o controle interno (IC) entre 15 e 30 °C ou entre 2 e 8 °C. Só descongele os calibradores entre 15 e 30 °C ou entre 2 e 8 °C se estiver realizando uma execução de calibração.

OBSERVAÇÃO: Depois de descongelados, os controles do ensaio, o IC e os calibradores podem ser armazenados entre 2 °C e 8 °C por até 24 horas antes do uso.

7. Antes do uso, agite em vórtex cada calibrador de ensaio e cada controle 3 vezes por 2 a 3 segundos. Certifique-se de que o conteúdo de cada frasco esteja no fundo. Para isso, bata os frascos na bancada para trazer o líquido para o fundo do frasco. Verifique se não foram geradas bolhas ou espuma. Se sim, remova-as com uma ponteira de pipeta estéril, usando uma nova ponteira para cada frasco.
8. Descongele os reagentes de amplificação entre 15 °C e 30 °C ou entre 2 °C e 8 °C e armazene-os entre 2 °C e 8 °C até que sejam necessários para o procedimento master mix de amplificação.
9. Selecione as embalagens **novas** e/ou **parciais** de reagentes de amplificação que serão usadas na execução. Consulte o Abbott *m2000sp Operations Manual* (Manual de Operações) (nº de lista 09K20 versão 6 ou superior), seção Instruções de operação, para obter instruções sobre o gerenciamento de inventário de embalagens de reagentes de amplificação. As embalagens de reagentes de amplificação devem ter o mesmo número de lote. Descongele os **novos** reagentes de amplificação entre 15 °C e 30 °C ou entre 2 °C e 8 °C e armazene-os entre 2 °C e 8 °C até que sejam necessários para o procedimento de amplificação master mix.

OBSERVAÇÃO: Depois de descongelados, os novos reagentes de amplificação podem ser armazenados entre 2 °C e 8 °C por até 24 horas, caso não sejam usados imediatamente. As embalagens parciais de reagentes de amplificação que estiverem sendo usadas uma segunda vez NÃO devem ser armazenadas entre 2 °C e 8 °C antes do uso. Elas devem ser mantidas a -10 °C ou menos (mais frio), até que sejam necessárias para a adição do master mix. Uma vez removidas do freezer, a exposição cumulativa à temperatura ambiente não deve exceder 25 minutos, inclusive se as embalagens forem removidas do armazenamento, mas não usadas. Após o período de 25 minutos, descarte as embalagens parciais de reagentes de amplificação.

A tabela a seguir mostra o número de reagentes de preparação de amostras e frascos de controle interno necessários com base no número de reações.

Requisitos de reagentes de preparação de amostras e de controle interno				
Reagente	1 a 24 reações	25 a 48 reações	49 a 72 reações	73 a 96 reações
<i>mMicroparticles</i>	1 frasco	2 frascos	2 frascos	2 frascos
<i>mLysis</i>	1 frasco	2 frascos	3 frascos	4 frascos
<i>mWash 1</i>	1 frasco	2 frascos	3 frascos	4 frascos
<i>mWash 2</i>	1 frasco	2 frascos	3 frascos	4 frascos
Tampão <i>mElution</i>	1 frasco	2 frascos	3 frascos	4 frascos
Controle interno ^a	1 frasco novo ou 1 frasco parcial	1 frasco novo ou 2 frascos parciais	2 frascos novos ou 3 frascos parciais	2 frascos novos ou 4 frascos parciais

^a Uma combinação de frascos novos e parciais de controle interno pode ser usada.

10. Inverta delicadamente os frascos de Abbott *mSample Preparation* para garantir uma solução homogênea. Se forem observados cristais em qualquer um dos frascos de reagentes após a abertura, deixe que o reagente se equilibre em temperatura ambiente até que os cristais desapareçam. Não use os reagentes até que os cristais se dissolvam.

11. Antes do uso, agite em vórtex cada IC 3 vezes por 2 a 3 segundos.
12. Use uma pipeta de precisão calibrada **PARA USO EXCLUSIVO COM CONTROLE INTERNO** para adicionar 500 µL de IC a cada frasco de *mLysis Buffer*. Misture invertendo delicadamente o recipiente de 5 a 10 vezes para diminuir a formação de espuma. Frascos parciais de IC podem ser tampados e armazenados a -10 °C ou menos (mais frio) para uma segunda utilização.

13. Coloque os controles positivos baixo e alto, o controle negativo e os calibradores, se aplicável, nas racks de amostras Abbott *m2000sp*.

14. Após a conclusão da incubação, agite ou gire manualmente os tubos de amostra de DBS e, em seguida, coloque-os nas racks de amostras Abbott *m2000sp*.

OBSERVAÇÃO: Certifique-se de que as racks de amostras Abbott *m2000sp* sejam calibradas especificamente para o procedimento do Abbott RealTime HCV para DBS.

15. Carregue as racks de amostras com cuidado para evitar respingos. Se usados, os códigos de barras nas etiquetas dos tubos devem ficar voltados para a direita para a leitura. Certifique-se de que cada tubo seja colocado firmemente na rack de amostras, de modo que a parte inferior do tubo atinja a parte inferior interna da rack.
16. Carregue racks de amostras cheias no Abbott *m2000sp* em posições consecutivas da rack, com a primeira rack na extremidade direita da mesa de trabalho, e as demais racks sucessivamente à esquerda da primeira rack.
17. Coloque os recipientes de reação de 5 mL no transportador do subsistema de 1 mL do Abbott *m2000sp*.
18. Carregue os reagentes do Abbott *mSample Preparation System* e a Abbott 96 Deep-Well Plate na mesa de trabalho Abbott *m2000sp*, conforme descrito no Manual de Operações do Abbott *m2000sp*, seção Instruções de operação.
19. Na tela Protocol (Protocolo), selecione o arquivo da aplicação HCV RNA DBS. Inicie o protocolo de extração da amostra, conforme descrito no Manual de Operações do Abbott *m2000sp*, seção Instruções de operação.
20. Insira valores específicos do lote do calibrador (necessário se uma curva de calibração não tiver sido armazenada no Abbott *m2000rt*) e do controle nos campos de Sample Extraction (Extração da amostra): Worktable Setup (Configuração da mesa de trabalho), Calibrator (Calibrador) e Control (Controle). Os valores específicos do lote são especificados em cada Abbott RealTime HCV Calibrator and Control Kit Card (Cartão do kit de calibrador e de controle).
21. O protocolo Abbott *m2000sp* Master Mix Addition (etapa 28) deve ser iniciado dentro de 1 hora após a conclusão da Preparação da amostra.

OBSERVAÇÃO: Troque as luvas antes de manusear os reagentes de amplificação.

22. Carregue os reagentes de amplificação e o tubo de master mix (se necessário) na mesa de trabalho Abbott *m2000sp* após a conclusão da preparação da amostra. A tabela a seguir mostra o número de embalagens de reagentes de amplificação necessárias com base no número de reações. Se apenas 1 embalagem de reagente de amplificação estiver sendo usada, nenhum tubo de master mix será necessário.

Requisitos da Amplification Reagent Pack (Embalagem de reagentes de amplificação) ^a			
1 a 24 reações	25 a 48 reações	49 a 72 reações	73 a 96 reações
1 se for nova; até 4 com embalagens parciais	2 se forem novas; até 4 com embalagens parciais	3 se forem novas; até 4 com embalagens parciais	4 embalagens novas ou parciais

^a Consulte o Manual de Operações do Abbott *m2000sp* (nº de lista 09K20 versão 6 ou superior) para obter instruções sobre gerenciamento de inventário para determinar o número máximo de reações que podem ser testadas com as embalagens parciais selecionadas.

- As embalagens parciais de reagentes de amplificação só podem ser utilizadas no mesmo instrumento Abbott *m2000sp* usado para a preparação inicial da embalagem de reagentes. O uso de uma embalagem de reagente de amplificação pela segunda vez em um instrumento diferente resultará em um erro, o que pode atrasar a execução.
- As embalagens parciais e novas de reagentes de amplificação podem ser usadas juntas.

IMPORTANTE: Embalagens parciais de reagentes de amplificação devem ser armazenadas a -10 °C ou menos (mais frio) até pouco antes da segunda utilização. Confirme se o master mix está descongelado antes de colocar as embalagens parciais na mesa de trabalho Abbott *m2000sp*. Uma vez removidas do armazenamento a -10 °C ou menos (mais frio), as embalagens parciais de reagentes de amplificação que estão sendo usadas uma segunda vez devem ser utilizadas dentro de 25 minutos ou ser descartadas. Isso se aplica à exposição cumulativa à temperatura ambiente, inclusive se as embalagens foram removidas do armazenamento, mas não usadas.

23. Certifique-se de que o conteúdo das embalagens novas de reagentes de amplificação esteja no fundo dos frascos antes de abrir os reagentes de amplificação. Para isso, bata os frascos na bancada na posição vertical de 5 a 10 vezes.
- Não bata as embalagens parciais de reagentes de amplificação que estão sendo usadas pela segunda vez. Isso pode resultar na perda do volume do master mix na tampa.
24. Remova as tampas. Se uma embalagem nova de reagentes de amplificação for armazenada para uma segunda utilização, os frascos terão de ser tampados para o armazenamento. Guarde as tampas originais dos frascos de reagentes caso queira reutilizá-las para tampá-los. Se você pretende usar tampas novas para tampar os frascos de reagentes, pode descartar as originais.

Se para controlar contaminação for usada a uracil-N-glicosilase (UNG), siga as instruções abaixo.

25. Use uma PIPETA DEDICADA AO USO EXCLUSIVO DE REAGENTES para adicionar o volume especificado de 1 U/μL UNG (nº de lista 6L87-02) ao frasco de reagente na posição 3 de embalagens novas e parciais de reagentes de amplificação. Misture manualmente, pipetando com cuidado para cima e para baixo para todas as embalagens parciais. Não misture novas embalagens.
- Use a tabela abaixo para determinar o volume de UNG a ser adicionado ao frasco de reagente na posição 3 de embalagens novas e parciais de reagentes de amplificação. O frasco de reagente na posição 3 de uma embalagem nova de reagentes contém a enzima rTth polimerase termoestável. O frasco de reagente na posição 3 de uma embalagem parcial de reagentes contém o master mix.

Volume de UNG para adicionar ao frasco de reagente na posição 3 de cada embalagem de reagente de amplificação

Testes restantes na embalagem	Adicionar este volume de UNG (μL)
1	5
2	6
3	7
4	8
5	9
6	10
7	11
8	12
9	13
10	13
11	14
12	15
13	16
14	17
15	18
16	19
17	20
18	21
19	22
20	23
21	24
22	25
23	26
24 (embalagem nova)	27

OBSERVAÇÃO: O volume de UNG adicionado ao frasco de reagente na posição 3 depende do número de testes restantes na embalagem de reagente e não do número de amostras em execução. Consulte o Manual de Operações do Abbott *m2000sp* para obter instruções referentes ao gerenciamento de inventário de embalagens de reagentes de amplificação e como determinar o número de testes restantes em uma embalagem de reagentes.

26. As embalagens parciais de amplificação são carregadas à esquerda das embalagens novas de reagentes de amplificação na mesa de trabalho Abbott *m2000sp*.
27. Certifique-se de que as embalagens de reagentes de amplificação estejam firmemente encaixadas no instrumento.
28. Selecione a placa de poço profundo apropriada que corresponda à extração da preparação da amostra correspondente. Inicie o protocolo Abbott *m2000sp* Master Mix Addition. Siga as instruções descritas no Manual de Operações do Abbott *m2000sp*, seção Instruções de operação.

OBSERVAÇÃO: O operador não deve encher manualmente nenhum poço vazio/não preenchido na Abbott 96-Well Optical Reaction Plate.

- Após a conclusão da extração da amostra, o Abbott *m2000sp* preenche automaticamente os poços vazios na Abbott 96-Well Optical Reaction Plate com o tampão *mElution* quando há mais de 48 amostras sendo processadas em uma execução. O enchimento da placa não é realizado para execuções que contenham 48 amostras ou menos.
- Se solicitado pelo instrumento, o transportador de reagentes 2 deve permanecer no lugar, contendo minimamente o recipiente de reagente para o tampão *mElution* (transportador de reagentes 2, local 6). Se esse recipiente de reagente tiver sido descarregado, coloque um novo recipiente de reagente com a etiqueta do tampão *mElution* no transportador de reagentes 2, local 6. O fluido do sistema será adicionado ao recipiente de reagente e usado para encher os poços vazios. Assim que esse processo for concluído, o sistema continuará com a adição do master mix.

OBSERVAÇÃO: As instruções do sistema para utilização do recurso de enchimento automatizado de placas encontram-se no Manual de Operações do Abbott *m2000sp* (nº de lista 09K20 versão 6 ou superior), seção 5, Instruções de operação, Extração de amostras-Modo fechado.

- O protocolo Abbott *m2000rt* (etapa 33) deve ser iniciado em até 50 minutos após o início do protocolo Master Mix Addition (etapa 28).

OBSERVAÇÃO: Se a execução for cancelada por qualquer motivo após a etapa 28, deve-se utilizar uma nova Abbott 96-Well Optical Reaction Plate se o protocolo Abbott *m2000sp* Master Mix Addition (etapa 28) for repetido.

29. Ligue e inicialize o instrumento Abbott *m2000rt* na Área de amplificação.

OBSERVAÇÃO: O Abbott *m2000rt* necessita de 15 minutos para aquecer.

OBSERVAÇÃO: Remova as luvas antes de retornar à área de preparação da amostra.

30. Vede a Abbott 96-Well Optical Reaction Plate depois que o instrumento Abbott *m2000sp* tiver concluído a adição de amostras e do master mix de acordo com o Manual de Operações do Abbott *m2000sp*, seção Instruções de operação.

31. Coloque a placa de reação óptica vedada na Abbott Splash-Free Support Base para transferir para o instrumento Abbott *m2000rt*.

Se for usada uracil N-glicosilase (UNG), siga estas instruções:

32. Transfira a placa óptica vedada para a Abbott Splash-Free Support Base e incube em temperatura ambiente (15 °C a 30 °C) durante 10 minutos. Após a incubação em temperatura ambiente, transfira a Abbott 96-Well Optical Reaction Plate na Abbott Splash-Free Support Base para o instrumento Abbott *m2000rt*.

33. Coloque a Abbott 96-Well Optical Reaction Plate no instrumento Abbott *m2000rt*. Na tela Protocol (Protocolo), selecione o arquivo da aplicação HCV RNA DBS. Inicie o protocolo conforme descrito no Manual de Operações do Abbott *m2000rt*, seção Instruções de operação.

OBSERVAÇÃO: Recomenda-se a transferência de pedidos de exame usando o CD-ROM ou uma conexão de rede com recursos de exportação e importação do software *m2000sp* e *m2000rt*. Se estiver criando manualmente o pedido de exame do Abbott *m2000rt*, insira as IDs das amostras nos locais correspondentes da bandeja de PCR de acordo com a grade "Wells for Selected Plate" (Poços para a placa selecionada), localizada na tela de detalhes dos "PCR Plate Results" (Resultados da placa de PCR) no Abbott *m2000sp*. Consulte a Seção 5 do Manual de Operações do Abbott *m2000sp*.

34. Se uma embalagem parcial de reagente de amplificação preparada tiver de ser utilizada uma segunda vez, tampe os 3 frascos de reagente com as tampas guardadas ou com tampas novas (nº de lista 3N20-01) e armazene imediatamente os reagentes a -10 °C ou menos (mais frio), protegidos da luz e na posição vertical. Descarte todas as embalagens de reagentes de amplificação que estiverem vazias ou que foram usadas duas vezes.

IMPORTANTE: Os reagentes de amplificação que serão usados pela segunda vez devem ser armazenados a -10 °C ou menos (mais frio) em até 50 minutos após o início do protocolo Master Mix Addition.

PROCEDIMENTOS DE PÓS-PROCESSAMENTO

1. Remova a Abbott 96 Deep-Well Plate da mesa de trabalho e descarte-a de acordo com o Manual de Operações do Abbott *m2000sp*.
2. Coloque a Abbott 96-Well Optical Reaction Plate em uma bolsa plástica vedável e descarte-a de acordo com o Manual de Operações do Abbott *m2000rt*, juntamente com as luvas utilizadas para manusear a placa.
3. Limpe a Abbott Splash-Free Support Base antes do próximo uso, de acordo com o Manual de Operações do Abbott *m2000rt*.

PROCEDIMENTOS DE CONTROLE DE QUALIDADE

Calibração óptica Abbott *m2000rt*

Consulte o folheto informativo do ensaio Abbott RealTime HCV (nº de lista 4J86).

Calibração de ensaio

Consulte o folheto informativo do ensaio Abbott RealTime HCV (nº de lista 4J86).

Para testes de DBS usando Abbott *m2000sp* e Abbott *m2000rt*: Assim que a calibração do Abbott RealTime HCV for aceita e armazenada, ela poderá ser usada por 6 meses. Durante esse tempo, todas as amostras subsequentes podem ser testadas sem calibração adicional, a menos que:

- Um Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit (Kit de reagentes de amplificação) com um novo número de lote seja utilizado.
- Um Abbott *mSample* Preparation System (Sistema de preparação) (4 x 24 preparações) com um novo número de lote seja utilizado.
- Um novo arquivo da aplicação Abbott RealTime HCV RNA DBS seja instalado.

Deteção de inibição

Consulte o folheto informativo do ensaio Abbott RealTime HCV (nº de lista 4J86).

Controles negativos e positivos

Consulte o folheto informativo do ensaio Abbott RealTime HCV (nº de lista 4J86).

Monitoramento do laboratório quanto à presença de contaminação

Consulte o folheto informativo do ensaio Abbott RealTime HCV (nº de lista 4J86).

RESULTADOS PARA AMOSTRAS DE DBS

O resultado relatado da concentração de amostra de DBS no protocolo de DBS do Abbott *m2000rt* representa a concentração viral de HCV no plasma da amostra de sangue total da qual a amostra de DBS é obtida. O instrumento Abbott *m2000rt* comunica automaticamente os resultados na estação de trabalho Abbott *m2000rt*. Os resultados do ensaio podem ser relatados em Unidades internacionais IU/mL ou Log IU/mL.

Interpretação dos resultados

Resultado	Interpretação
Não detectado	Alvo não detectado
<2,66 Log IU/mL ^a	Detectado
2,66 a 8,00 Log IU/mL	
>8,00 Log IU/mL	> ULQ ^b

^a 462 IU/mL

^b ULQ = limite superior de quantificação

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

• PARA USO EM DIAGNÓSTICO *IN VITRO*

- O desempenho ideal deste teste requer a coleta, o armazenamento e o transporte adequados de amostras para o local de teste (consulte a seção **COLETA, ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE DE AMOSTRAS PARA O LOCAL DE TESTE** deste folheto informativo).
- As amostras de sangue total coletadas em tubos de EDTA podem ser usadas para gerar DBSs que são testadas com o ensaio Abbott RealTime HCV para DBS. O uso de outros anticoagulantes não foi validado com o ensaio Abbott RealTime HCV para DBS.
- O uso do ensaio Abbott RealTime HCV para DBS é limitado a pessoas com treinamento sobre procedimentos de preparação e pré-processamento de DBS, ensaio de diagnóstico molecular e o sistema Abbott *m2000*.
- Os instrumentos e procedimentos de ensaio reduzem o risco de contaminação pelo produto de amplificação. No entanto, a contaminação por ácido nucleico dos calibradores, controles positivos ou amostras deve ser controlada por meio das boas práticas laboratoriais e da adesão cuidadosa aos procedimentos especificados neste folheto informativo.
- Assim como em qualquer teste de diagnóstico, os resultados do ensaio Abbott RealTime HCV para DBS devem ser interpretados em conjunto com outros achados clínicos e laboratoriais. Uma amostra com o resultado "Not Detected" (Não detectado) não pode ser considerada negativa para RNA do HCV.
- A coleta, a secagem, o armazenamento e o manuseio inadequados de cartões de DBS podem gerar resultados de teste imprecisos.
- Podem ser usados cartões de DBS TFN Ahlstrom-Munktel e Whatman 903. O uso de outros cartões não foi validado com o ensaio Abbott RealTime HCV.

CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS DE DESEMPENHO PARA AMOSTRAS DE DBS

Limite de detecção (LoD)

O LoD do ensaio Abbott RealTime HCV é de 462 IU/mL com o tipo de amostra de DBS. O LoD foi determinado por meio de testes de amostras de DBS preparadas com uma série de diluição do Padrão Internacional para RNA do Vírus da Hepatite C da OMS diluídas em sangue total negativo para HCV. O teste para cada concentração de RNA do HCV foi realizado com 4 lotes de reagentes de amplificação ao longo de 3 dias. Os resultados, que representam o desempenho da sensibilidade analítica do ensaio Abbott RealTime HCV para DBS, estão resumidos na Tabela 1.

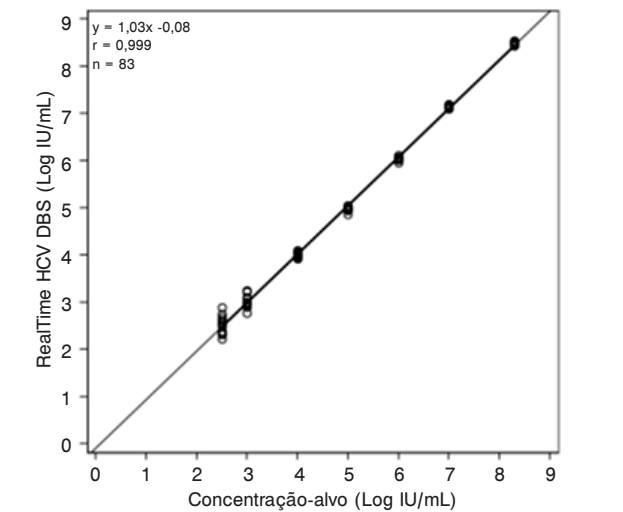
Tabela 1. Limite de detecção (LoD) do Abbott RealTime HCV para DBS			
RNA do HCV (IU/mL)	Número testado	Número detectado	Porcentagem detectada
500	84	83	99
400	84	80	95
350	84	75	89
300	84	73	87
150	84	54	64
50	84	26	31

A análise probit dos dados determinou que a concentração de RNA do HCV detectada a partir da mancha de sangue seco com 95% de probabilidade foi de 462 IU/mL (IC de 95%, 381 a 593 IU/mL).

Faixa linear

O limite superior de quantificação (ULQ) para o ensaio Abbott RealTime HCV é de 100 milhões de IU/mL, e o limite inferior de quantificação é equivalente ao LoD (462 IU/mL) para a especificação da DBS. Um painel de DBS com 7 membros foi preparado com RNA blindado para HCV diluído em concentrações que variam de 200 milhões de IU/mL a 316 IU/mL em sangue total negativo para HCV. Os resultados, que representam a linearidade do ensaio Abbott RealTime HCV para DBS, são mostrados na Figura 1.

Figura 1. Linearidade do ensaio Abbott RealTime HCV para DBS



O ensaio Abbott RealTime HCV para DBS mostrou-se linear em toda a faixa de concentrações testadas de RNA do HCV (316 a 200 milhões de IU/mL, 2,5 a 8,3 Log IU/mL).

Especificidade

A especificidade-alvo do ensaio Abbott RealTime HCV para DBS é maior ou igual a 99,5%. A especificidade foi determinada pela análise de 119 amostras soronegativas para HCV, em dois lotes de reagentes de amplificação. A especificidade geral foi de 100% (119/119).

Precisão

A precisão foi avaliada testando um painel de DBS com 6 membros destinado a cobrir a faixa de concentração de RNA do HCV de 316 IU/mL a 200 milhões de IU/mL. Os membros do painel com concentrações inferiores a 5 Log IU/mL (100.000 IU/mL) foram preparados com amostra clínica positiva para HCV diluída em sangue total negativo para HCV, enquanto os membros do painel com concentrações superiores a 5 Log IU/mL (100.000 IU/mL) foram preparados com RNA blindado para HCV diluído em sangue total negativo para HCV. Cada membro do painel foi testado em 5 réplicas uma vez ao dia por 5 dias, em 3 pares de Abbott m2000sp/rt com 3 lotes de reagentes de amplificação. Desvios-padrão (DP) dentro da execução, entre execuções e entre ensaios (dentro da execução e entre execuções) foram determinados. O ensaio Abbott RealTime HCV para DBS foi projetado para alcançar um desvio-padrão (DP) entre ensaios menor ou igual a 0,25 Log IU/mL de RNA do HCV para amostras contendo concentrações de HCV de 10.000 a 100 milhões de IU/mL. Os resultados, que representam a precisão do ensaio Abbott RealTime HCV para DBS, estão resumidos na Tabela 2.

Tabela 2. Precisão do ensaio Abbott RealTime HCV para DBS

Membro do painel	N	Concentração média (IU/mL)	Concentração média (Log IU/mL)	DP do componente Dentro da execução ^{a,e}	DP do componente Entre execuções ^a	DP Entre ensaios ^{a,b}	DP do componente Entre lotes/instrumentos ^a	Total ^{c,e}
1	63 ^d	420	2,62	0,26	0,07	0,27	0,00	0,27
2	75	1.435	3,16	0,23	0,00	0,23	0,09	0,25
3	75	13.211	4,12	0,06	0,04	0,07	0,05	0,09
4	75	395.427	5,60	0,04	0,03	0,05	0,02	0,05
5	75	14.008.770	7,15	0,12	0,04	0,13	0,05	0,14
6	75	316.713.566	8,50	0,04	0,03	0,05	0,05	0,07

^a Os desvios-padrão (DP) estão em Log IU/mL.

^b Entre ensaios contém componentes Dentro da execução e Entre execuções.

^c O Total inclui componentes Dentro da execução, Entre execuções e Entre lotes/instrumentos.

^d A concentração média do membro do painel 1 está abaixo do LLoQ. As estimativas de precisão são baseadas nas réplicas que são quantificadas.

^e O DP Dentro da execução também é conhecido como Repetibilidade. O DP Total também é conhecido como Reprodutibilidade.

A repetibilidade e a reprodutibilidade do Membro do Painel 1 (próximo ao LLoQ) foram de 0,26 Log IU/mL e 0,27 Log IU/mL, respectivamente, e do Membro do Painel 2 (próximo ao LLoQ) foram de 0,23 Log IU/mL e 0,25 Log IU/mL, respectivamente. A repetibilidade e a reprodutibilidade do Membro do Painel 5 (próximo ao ULoQ) foram de 0,12 Log IU/mL e 0,14 Log IU/mL, respectivamente, e do Membro do Painel 6 (próximo ao ULoQ) foram de 0,04 Log IU/mL e 0,07 Log IU/mL, respectivamente.

Correlação

A quantificação do RNA do HCV foi comparada entre o ensaio Abbott RealTime HCV usando manchas de sangue seco e o ensaio comparativo da marca CE, teste Abbott RealTime HCV usando plasma humano. Foram incluídas na análise amostras de plasma e DBS de um total de 346 indivíduos (coletadas e testadas na Geórgia, em Camarões e na Grécia). As amostras de DBS preparadas a partir de sangue venoso e de sangue capilar (punção de dedo) foram testadas pelo ensaio Abbott RealTime HCV para DBS. Os resultados quantitativos das amostras que se enquadravam nas faixas dinâmicas dos ensaios foram analisados pelo método de regressão linear dos mínimos quadrados e pelo método de viés de Bland-Altman (DBS capilar *versus* plasma N=346, DBS venosa *versus* plasma N=346 e DBS capilar *versus* DBS venosa N=345). Para a correlação entre DBS capilar e plasma, o coeficiente de correlação foi de 0,843, a inclinação foi de 0,91 (IC de 95%, 0,85 a 0,97) e a intersecção foi de 0,48 Log IU/mL (IC de 95%, 0,12 a 0,84) (**Figura 2**). Para a correlação entre DBS venosa e plasma, o coeficiente de correlação foi de 0,840, a inclinação foi de 0,94 (IC de 95%, 0,88 a 1,00) e a intersecção foi de 0,31 Log IU/mL (IC de 95%, -0,07 a 0,69) (**Figura 3**). Para a correlação entre DBS capilar e DBS venosa, o coeficiente de correlação foi de 0,943, a inclinação foi de 0,91 (IC de 95%, 0,87 a 0,94) e a intersecção foi de 0,53 Log IU/mL (IC de 95%, 0,33 a 0,72) (**Figura 4**). Além disso, os gráficos de Bland-Altman para essas mesmas comparações são apresentados nas **Figuras 5, 6 e 7**. A diferença média do viés entre DBS capilar e plasma foi de -0,05 Log IU/mL. A diferença média do viés entre DBS venosa e plasma foi de -0,04 Log IU/mL. A diferença média do viés entre DBS capilar e DBS venosa foi de -0,02 Log IU/mL.

O viés previsto entre DBS capilar e plasma foi avaliado nos níveis alvo de LLoQ e ULoQ. Além disso, o viés previsto entre DBS venosa e plasma foi avaliado nos níveis alvo de LLoQ e ULoQ. Consulte a **Tabela 3** para ver o resumo do viés previsto.

Tabela 3. Viés previsto entre DBS (capilar ou venosa) e plasma no LLoQ e no ULoQ

Comparação	Nível	Nível alvo de carga viral (Log IU/mL)	Viés previsto (Log IU/mL)
DBS capilar vs. plasma	LLoQ	2,66	0,24
	ULoQ	8,00	-0,26
DBS venosa vs. plasma	LLoQ	2,66	0,15
	ULoQ	8,00	-0,17

Figura 2. DBS capilar e plasma

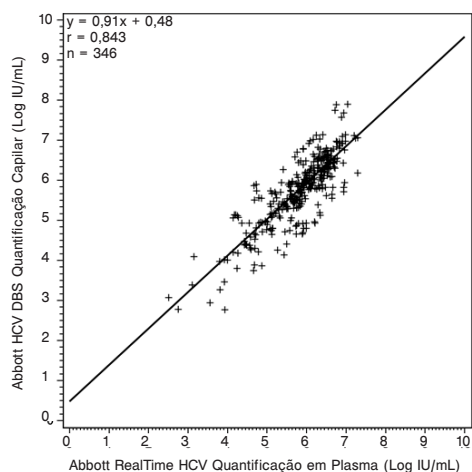


Figura 5. DBS capilar vs. plasma

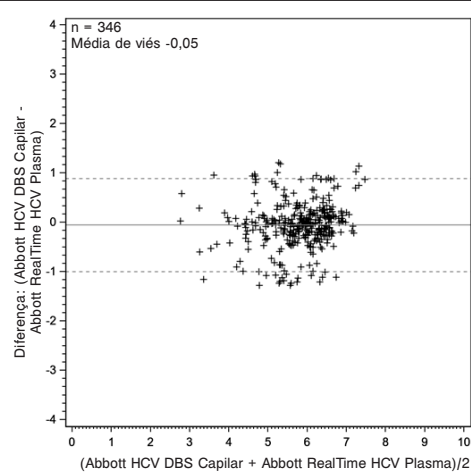


Figura 3. DBS venosa e plasma

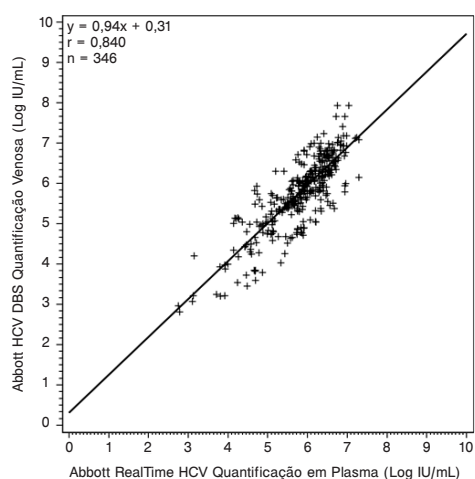


Figura 6. DBS venosa vs. plasma

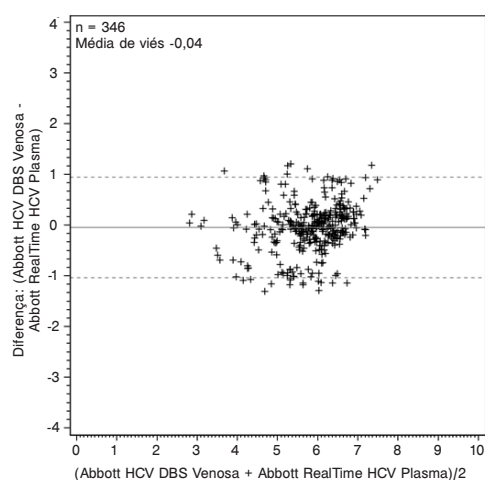


Figura 4. DBS capilar e DBS venosa

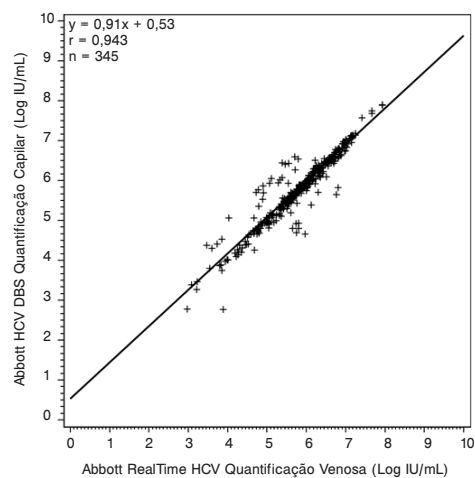
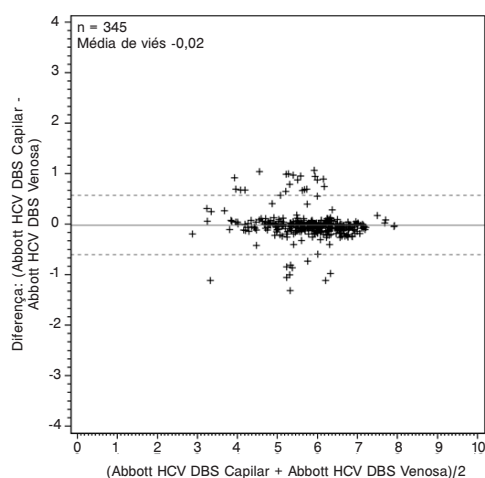


Figura 7. DBS capilar vs. DBS venosa



BIBLIOGRAFIA

1. Gower E, Estes C, Blach S, Razavi-Shearer K, Razavi H. Global epidemiology and genotype distribution of the hepatitis C virus infection. *J Hepatol.* 2014;61(1 Suppl):S45-S57. doi:10.1016/j.jhep.2014.07.027
2. Guidelines for the screening, care and treatment of persons with chronic hepatitis C infection. World Health Organization (WHO); updated April 2016. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/205035>
3. AASLD/IDSA HCV guidance panel. *Recommendations for testing, managing, and treating hepatitis C.* AASLD/IDSA; updated October 24, 2022. <https://www.hcvguidelines.org/>
4. European Association for the Study of the Liver. EASL Recommendations on Treatment of Hepatitis C 2018. *J Hepatol.* 2018;69(2):461-511. doi:10.1016/j.jhep.2018.03.026
5. Miller MH, Agarwal K, Austin A, et al. Review article: 2014 UK consensus guidelines - hepatitis C management and direct-acting anti-viral therapy. *Aliment Pharmacol Ther.* 2014;39(12):1363-1375. doi:10.1111/apt.12764
6. Davis GL, Esteban-Mur R, Rustgi V, et al. Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin for the treatment of relapse of chronic hepatitis C. International Hepatitis Interventional Therapy Group. *N Engl J Med.* 1998;339(21):1493-1499. doi:10.1056/NEJM199811193392102
7. Manns MP, McHutchison JG, Gordon SC, et al. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial. *Lancet.* 2001;358(9286):958-965. doi:10.1016/s0140-6736(01)06102-5
8. Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR, et al. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med.* 2002;347(13):975-982. doi:10.1056/NEJMoa020047
9. Hadziyannis SJ, Sette H Jr, Morgan TR, et al. Peginterferon-alpha2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose. *Ann Intern Med.* 2004;140(5):346-355. doi:10.7326/0003-4819-140-5-200403020-00010
10. Orlent H, Deltenre P, Francque S, et al. Update of the Belgian Association for the Study of the Liver guidelines for the treatment of chronic hepatitis C genotype 1 with protease inhibitors. *Acta Gastroenterol Belg.* 2012;75(2):245-259.
11. Halfon P, Bourlière M, Pénaranda G, Khiri H, Ouzan D. Real-time PCR assays for hepatitis C virus (HCV) RNA quantitation are adequate for clinical management of patients with chronic HCV infection. *J Clin Microbiol.* 2006;44(7):2507-2511. doi:10.1128/JCM.00163-06
12. Kowdley KV, Nelson DR, Lalezari JP, et al. On-treatment HCV RNA as a predictor of sustained virological response in HCV genotype 3-infected patients treated with daclatasvir and sofosbuvir. *Liver Int.* 2016;36(11):1611-1618. doi:10.1111/liv.13165
13. Yoshida EM, Sulkowski MS, Gane EJ, et al. Concordance of sustained virological response 4, 12, and 24 weeks post-treatment with sofosbuvir-containing regimens for hepatitis C virus. *Hepatology.* 2015;61(1):41-45. doi:10.1002/hep.27366
14. WHO Guidelines on Hepatitis B and C Testing. World Health Organization (WHO); 2017. <https://www.who.int/publications/i/item/9789241549981>
15. Saldanha J, Heath A, Aberham C, et al. World Health Organization collaborative study to establish a replacement WHO international standard for hepatitis C virus RNA nucleic acid amplification technology assays. *Vox Sang.* 2005;88(3):202-204. doi:10.1111/j.1423-0410.2005.00606.x

ASSISTÊNCIA TÉCNICA

Para obter assistência técnica, ligue para o Suporte Técnico da Abbott pelo telefone 0800 702 0711 ou visite o site da Abbott em www.molecular.abbott.

RESUMO DE SEGURANÇA E DESEMPENHO

Um resumo da segurança e do desempenho (SSP) deste dispositivo está disponível em <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>. Esta é a localização do SSP depois do lançamento do *European Database on Medical Devices*. A busca pelo dispositivo deve ser feita utilizando o UDI-DI fornecido na embalagem externa do dispositivo.

O Abbott RealTime HCV é importado para a União Europeia pela Abbott Diagnostics GmbH, localizada em Max-Planck- Ring 2, 65205 Wiesbaden, Germany



Abbott Molecular Inc.
1300 East Touhy Avenue
Des Plaines, IL 60018 USA



Abbott GmbH
Max-Planck-Ring 2
65205 Wiesbaden, Germany

© 2020, 2024 Abbott. Todos os direitos reservados.

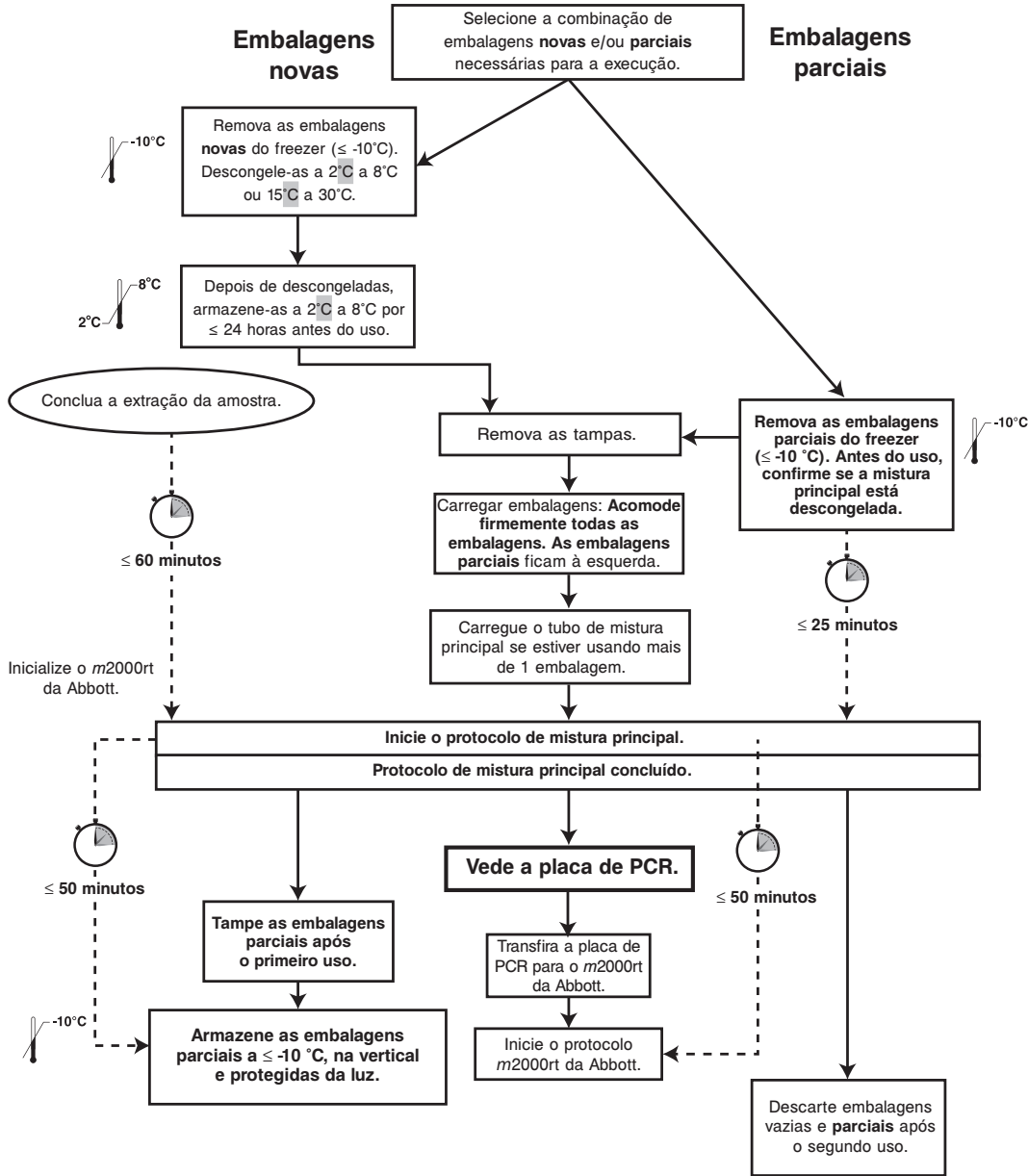
51-608440/R3
Agosto de 2024

APÊNDICE 1. VISÃO GERAL DO RECURSO DE USO ESTENDIDO DO ABBOTT REALTIME HCV AMPLIFICATION REAGENT (REAGENTE DE AMPLIFICAÇÃO)

O recurso de uso estendido do reagente de amplificação permite o uso de uma embalagem de reagentes de amplificação e de um controle interno (IC) por até duas vezes. As embalagens de reagentes de amplificação que ainda não foram usadas para preparar o master mix (mistura principal) são chamadas de embalagens **novas** de reagentes de amplificação. As embalagens de reagentes de amplificação que foram usadas uma vez e contêm o master mix preparado são chamadas de embalagens **parciais** de reagentes de amplificação. Consulte as instruções fornecidas neste manual para obter mais detalhes.

Condições de armazenamento (Embalagem de reagentes de amplificação e frascos de controle interno)		
Tipo de embalagem	Temperatura de armazenamento	Tempo de armazenamento
Embalagens novas	-10 °C ou menos (mais frio)	Até a data mostrada no rótulo
IC novo	-10 °C ou menos (mais frio)	Até a data mostrada no rótulo
Embalagens parciais	-10 °C ou menos (mais frio) (protegido da luz)	Até 14 dias após o uso inicial
IC parcial	-10 °C ou menos (mais frio)	Até 14 dias após o uso inicial

- Se você estiver usando uma UNG para o procedimento de controle de contaminação, consulte as etapas 25 e 32 do Protocolo do ensaio para obter instruções específicas.



- As embalagens de reagentes de amplificação qualificadas para uso estendido devem ter um número de série de 6 dígitos acima do código de barras.
- As embalagens **parciais** de reagentes de amplificação só podem ser usadas uma segunda vez no mesmo instrumento onde ocorreu o uso inicial. Usá-las em um instrumento diferente gerará um erro de processamento, que pode atrasar a execução.
- As embalagens **parciais** e **novas** de reagentes de amplificação podem ser usadas juntas. Todas as embalagens de reagentes de amplificação usadas no instrumento para uma execução devem ter o mesmo número de lote.

Abbott RealTime HCV

Додаток щодо методу сухої краплі крові (DBS)

Abbott RealTime BГC

uk

REF 04J86-010

51-608440/R3

GTIN

REF 04J86-010

IVD

51-608440/R3

ПРИМІТКА: зміни виділено сірим.

Умовні позначення	
	Глобальний ідентифікаційний номер товару
	Каталожний номер/Номер за каталогом
	Медичний пристрій для діагностики <i>in vitro</i>
	Максимальний дозволений час
	Верхня межа температури
	Обмеження температури
	Уповноважений представник в Європейській спільноті/Європейському союзі
	Виробник
	Мова (українська)
	Знак відповідності ЄС
	Знак відповідності технічним регламентам

МІЖНАРОДНА СЛУЖБА ПІДТРИМКИ КЛІЄНТІВ: ЗАТЕЛЕФОНУЙТЕ СВОЄМУ ПРЕДСТАВНИКУ АБВОТТ

Перед використанням уважно прочитайте цю інструкцію із застосування. Дотримуйтеся вказівок наведених у цій інструкції. У разі недотримання вказівок, наданих в цій інструкції із застосування, надійність результатів аналізу не гарантовано.

Ці інструкції із застосування доповнюють інструкцію застосування для аналізу Abbott RealTime BГC / Abbott RealTime HCV (кат № 4J86), зокрема для зразків сухої краплі крові (Dried Blood Spot, DBS).

ПРИМІТКА ДЛЯ КОРИСТУВАЧА

У випадку виникнення серйозних інцидентів під час використання цього пристрою про нього слід повідомити виробнику, а також до відповідної установи країни-члена, де перебуває користувач та (або) пацієнт. Контактна інформація виробника наведена в розділі служби підтримки чи технічної допомоги цих інструкцій.

НАЗВА

Abbott RealTime BГC / Abbott RealTime HCV

ПРИЗНАЧЕННЯ ДЛЯ DBS

Abbott RealTime BГC / Abbott RealTime HCV — це аналіз полімеразної ланцюгової реакції зі зворотною транскрипцією *in vitro* (ЗТ-ПЛР) для кількісного аналізу на РНК вірусу гепатиту С (РНК ВГC) цільної крові у вигляді сухих крапель на картках (dried blood spot, DBS), отриманої шляхом венепункції або у вигляді капілярної крові в осіб із вірусом гепатиту С (ВГC). Аналіз Abbott RealTime BГC / Abbott RealTime HCV призначений для використання як доповнення до процедури лікування пацієнтів з ВГC, що проходять антивірусну терапію. Аналіз Abbott RealTime BГC / Abbott RealTime HCV не призначений для перевірки донорів крові, плазми, сироватки або тканин на наявність ВГC або для використання в діагностичних цілях для підтвердження зараження ВГC.

ЦІЛЬОВІ КОРИСТУВАЧІ

Цільовими користувачами аналізу Abbott RealTime BГC / Abbott RealTime HCV є кваліфікований персонал лабораторій.

КОРОТКИЙ ОПИС ТЕСТУ

Вірус гепатиту С (ВГC) — одна з основних причин захворювання печінки. За оцінками, приблизно 1.1% населення мають гепатит С у хронічній формі,¹ і приблизно 700,000 людей вмирають кожного року від пов'язаних з гепатитом С захворювань печінки.² ВГC — це РНК-вірус з позитивним ланцюгом, що передається головним чином через внутрішньовенне використання наркотичних препаратів, а також через препарати крові. Приблизно у 55–85% осіб, заражених вірусом ВГC, розвивається хронічний гепатит, з яких до 30% отримують цироз.¹ У пацієнтів із цирозом частота виникнення гепатоцелюлярної карциноми становить 2–4% на рік.¹

Доведено, що кількісне вимірювання рівня РНК ВГC у периферичній крові є важливим параметром у різних методах лікування ВГC.⁶⁻¹³ З поширенням протівірусних препаратів прямої дії лікування ВГC стало суттєво ефективнішим. Ціллю протигепатитної терапії є досягнення стійкого вірусологічного відгуку (SVR) у вигляді стабільної відсутності слідів РНК ВГC.²⁻⁵ На основі виміряних значень вірусного навантаження ВГC підбирається індивідуальна тривалість лікування й метод терапії залежно від виразності відгуку або визначається й прогнозується стійкий чи нестійкий відгук на антивірусну терапію.²⁻⁵ Більшість випадків захворювання ВГC у світі припадає на країни з низьким і середнім рівнем доходу.¹⁴ У цих регіонах, де існує значний дефіцит ресурсів, виявлення пацієнтів з активним зараженням ВГC є дуже обмеженим. Як альтернативу сироватці або плазмі для тестування на РНК ВГC можна використовувати цільну кров, зібрану у вигляді сухих крапель (DBS). Використання сухих крапель крові дозволяє прибрати багато логістичних і технічних обмежень, пов'язаних зі збором сироватки або плазми, їх обробкою, зберіганням і транспортуванням. Правила й рекомендації Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ) щодо гепатиту С включають рекомендації щодо використання DBS для вірусологічного тестування на наявність ВГC у регіонах з обмеженими ресурсами.¹⁴ У аналізі Abbott RealTime BГC / Abbott RealTime HCV для DBS з метою кількісного визначення РНК ВГC у DBS використовується технологія полімеразної ланцюгової реакції зі зворотною транскрипцією (ЗТ-ПЛР) у поєднанні з гомогенним флуоресцентним визначенням в реальному часі. Вибір консервативної ділянки геному ВГC дозволяє визначати генотипи з 1 по 6. Тест є уніфікованим відповідно до 2-го міжнародного стандарту ВООЗ для РНК вірусу гепатиту С (код NIBSC 96/798),¹⁵ і результати визначаються у міжнародних одиницях на мл (IU/mL) або відповідному логарифмічному еквіваленті за основою 10.

БІОЛОГІЧНІ ПРИНЦИПИ ПРОЦЕДУРИ

Для аналізу Abbott RealTime BГC / Abbott RealTime HCV для DBS необхідні 3 набори реагентів:

- Набір реагентів для ампліфікації Abbott RealTime BГC / Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit
- Набір контролів Abbott RealTime BГC / Abbott RealTime HCV Control Kit
- Набір калібраторів Abbott RealTime BГC / Abbott RealTime HCV Calibrator Kit

У аналізі Abbott RealTime BГC / Abbott RealTime HCV для DBS використовується технологія ЗТ-ПЛР для створення ампліфікованого продукту на базі геному РНК ВГC у людських зразках DBS. Процедура використання аналізу Abbott RealTime BГC / Abbott RealTime HCV для DBS складається з таких етапів: обробка DBS перед аналізом, підготовка зразків, збирання ЗТ-ПЛР, ампліфікація, виявлення й повідомлення результатів. Обробка DBS перед аналізом виконується з використанням Набору буферів mСемпл DBS Abbott / Abbott mSample Preparation System DBS Buffer Kit перед

завантаженням зразків у систему Abbott m2000sp. Після обробки DBS перед аналізом усі наступні етапи виконуються автоматично системами Abbott m2000sp та Abbott m2000rt. Докладніші відомості щодо підготовки зразків, збирання ЗТ-ПЛР, ампліфікації та виявлення див. в інструкції із застосування для аналізу Abbott RealTime BГC / Abbott RealTime HCV (кат. № 4J86).

ПОДОВЖЕНЕ ВИКОРИСТАННЯ РЕАГЕНТУ АМПЛІФІКАЦІЇ

Завдяки можливості подовженого використання наборів реагентів для ампліфікації та ВК (внутрішній контроль) їх можна використовувати до двох разів. Набори реагентів для ампліфікації містять підготовлений мастер-мікс, що може зберігатися за температури -10°C або нижче (у закритих флаконах у захищеному від світла місці) до 14 днів до моменту повторного використання. Внутрішній контроль (ВК) може зберігатися у закритому флаконі за температури -10°C або нижче до 14 днів до моменту повторного використання. У разі повторного використання необхідно враховувати термін придатності реагенту.

Огляд цієї опції наведено в Додатку 1 до цієї інструкції із застосування.

У цій інструкції із застосування набори реагентів для ампліфікації та ВК, які ще не використовувалися, називатимуться новими (перше використання) наборами й зразками. Набори реагентів для ампліфікації, які вже було використано та які містять підготовлений мастер-мікс, називатимуться неповними наборами реагентів для ампліфікації. Флакони з внутрішніми контролями, що вже було використано один раз, називатимуться неповними флаконами з внутрішніми контролями.

ЗАПОБІГАННЯ КОНТАМІНАЦІЇ НУКЛЕІНОВОЮ КИСЛОТОЮ

Див. інструкції із застосування для аналізу Abbott RealTime BГC / Abbott RealTime HCV (кат. № 4J86).

РЕАГЕНТИ

Див. інструкцію із застосування для аналізу Abbott RealTime BГC / Abbott RealTime HCV (кат. № 4J86).

ПОПЕРЕДЖЕННЯ Й ЗАПОБІЖНІ ЗАХОДИ

IVD

Для діагностичного використання *in vitro*

Аналіз Abbott RealTime BГC / Abbott RealTime HCV для DBS не призначений для перевірки донорів крові, плазми, сироватки або тканин на наявність ВГC або для використання в діагностичних цілях для підтвердження інфікування ВГC.

ЗАХОДИ ТЕХНІКИ БЕЗПЕКИ

Див. інструкції із застосування для аналізу Abbott RealTime BГC / Abbott RealTime HCV (кат. № 4J86). У аналізі Abbott RealTime BГC / Abbott RealTime HCV для DBS використовуються лише системи Abbott m2000sp та Abbott m2000rt.

СПЕЦІАЛЬНІ ЗАПОБІЖНІ ЗАХОДИ

Запобіжні заходи щодо поводження зі зразками DBS

Аналіз Abbott RealTime BГC / Abbott RealTime HCV для DBS призначений для використання лише зі зразками цільної крові або DBS, для яких було виконано всі вказівки щодо поводження та зберігання, наведені в розділі **ЗАБІР, ЗБЕРІГАННЯ Й ТРАНСПОРТУВАННЯ ЗРАЗКІВ НА МІСЦЕ ТЕСТУВАННЯ**.

Див. інструкції із застосування для аналізу Abbott RealTime BГC / Abbott RealTime HCV (кат. № 4J86).

Інструкції щодо поводження зі зразками DBS

- Переконайтеся, що картка з DBS повністю суха, перш ніж класти її для зберігання в пакет з вологопоглиначем. Порушення процедур створення сухої краплі, сушіння, зберігання DBS та поводження зі зразками може призвести до неточних результатів тестування.
- Щоб уникнути перехресної контамінації, використовуйте новий наконечник для піпетки для кожного зразка DBS, коли дістаєте краплю крові з перфорованої DBS-картки. У разі використання неперфорованої DBS-картки очищуйте відповідний інструмент перед діставанням краплі та після його контакту зі зразком DBS.

Робочі зони

Під час роботи із системами Abbott m2000sp та Abbott m2000rt рекомендовано використовувати лише дві спеціальні зони: зону підготовки зразків та зону ампліфікації.

Див. інструкції із застосування для аналізу Abbott RealTime BГC / Abbott RealTime HCV (кат. № 4J86).

Аерозольна контамінація

Див. інструкцію із застосування для аналізу Abbott RealTime BГC / Abbott RealTime HCV (кат. № 4J86).

Контамінація та інгібування

Див. інструкцію із застосування для аналізу Abbott RealTime BГC / Abbott RealTime HCV (кат. № 4J86).

Контамінація зовнішнім продуктом ампліфікації, що містить Д-антигенні одиниці

Лабораторії, де використовуються або використовувалися методи аналізу з ампліфікацією ВГC, що містять етап обробки ампліфікованого продукту після полімеразної ланцюгової реакції, можуть бути контаміновані таким продуктом, що містить Д-антигенні одиниці. Така контамінація може вести до неточних результатів тестування Abbott RealTime BГC / Abbott RealTime HCV для DBS. Див. розділ **Контроль лабораторії на наявність контамінації** інструкції із застосування для аналізу Abbott RealTime BГC / Abbott RealTime HCV (кат. № 4J86). Коли негативні контрольні зразки є стабільно реактивними або ймовірна контамінація ампліфікованим продуктом, що містить Д-антигенні одиниці, рекомендовано скористатися в лабораторії процедурою контролю контамінації на базі урацил-*N*-глікозилази (UNG), якщо не вдалося провести її успішне очищення.

ІНСТРУКЦІЇ ЩОДО ЗБЕРІГАННЯ

Набір реагентів для ампліфікації Abbott RealTime BГC / Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit (кат. № 4J86-90)



- Нові та неповні** Набори реагентів для ампліфікації Abbott RealTime BГC / Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Packs та внутрішній контроль (ВК), що не використовуються, мають зберігатися за температури -10°C або нижче. Необхідно ретельно забезпечити відсутність безпосереднього контакту між Набором реагенту ампліфікації Abbott RealTime BГC / Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Pack, що використовується, та зразками, калібраторами й контролями.
- Неповні** набори реагентів для ампліфікації та ВК після першого використання мають зберігатися за температури -10°C або нижче в закритому вигляді, вертикально та захищені від світла. У разі такого зберігання **неповні** набори реагентів для ампліфікації з підготовленим мастер-мікс можна використовувати повторно протягом 14 днів після першого використання. Внутрішній контроль можна використати повторно протягом 14 днів з моменту першого розморожування у разі його зберігання в закритому вигляді за температури -10°C або нижче. Після двох використань неповні набори реагентів для ампліфікації та ВК необхідно утилізувати. У разі повторного використання необхідно враховувати термін придатності реагенту.

Набір контролів Abbott RealTime BГC / Abbott RealTime HCV Control Kit (кат. № 4J86-80)



- Негативні й позитивні контролі Abbott RealTime BГC / Abbott RealTime HCV мають зберігатися за температури -10°C або нижче.

Набір калібраторів Abbott RealTime BГC / Abbott RealTime HCV Calibrator Kit (кат. № 4J86-70)



- Калібратор Abbott RealTime BГC / Abbott RealTime HCV Calibrator A та Калібратор Abbott RealTime BГC / Abbott RealTime HCV Calibrator B мають зберігатися за температури -10°C або нижче.

УМОВИ ТРАНСПОРТУВАННЯ

Див. інструкцію із застосування для аналізу Abbott RealTime BГC / Abbott RealTime HCV (кат. № 4J86).

ОЗНАКИ НЕСТАБІЛЬНОСТІ АБО ПОГІРШЕННЯ РЕАГЕНТІВ

Див. інструкцію із застосування для аналізу Abbott RealTime BГC / Abbott RealTime HCV (кат. № 4J86).

ПРОЦЕДУРА ВИКОРИСТАННЯ ПРИЛАДІВ

Перед початком аналізу файл програми Abbott RealTime BГC / Abbott RealTime HCV для DBS має бути встановлений на системах Abbott m2000sp та Abbott m2000rt з компакт-диска Abbott RealTime HCV

m2000 ROW System Combined Application (кат. № 01L69-040 або вище). Докладну інформацію щодо встановлення файлу програми див. в Інструкціях із застосування систем Abbott m2000sp та Abbott m2000rt (розділ Правила роботи).

ЗАБІР, ЗБЕРІГАННЯ Й ТРАНСПОРТУВАННЯ ЗРАЗКІВ НА МІСЦЕ ТЕСТУВАННЯ

Забір та зберігання зразків

- Для підготовки DBS використовуйте кров, взяту з пальця, або цільну кров із пробірок EDTA. Зберігання й транспортування цільної крові в пробірках EDTA мають відбуватися за певних температурних умов (від 2°C до 8°C для періоду до 48 годин або за температури робочого середовища до 30°C для періоду 24 години).
- Перед створенням краплі цільну кров у пробірках EDTA необхідно перемішати, обережно перевертаючи пробірку. Створіть краплі крові у вигляді 12-міліметрових кіл на паперову картку Ahlstrom-Munktel TFN або Whatman 903 (коло має бути цільним). Щоб створити цільне коло, рекомендовано нанести щонайменше 70 µL крові (від 3 до 5 крапель).
- Висушіть картку за кімнатної температури протягом щонайменше трьох годин. Упакуйте кожну картку в герметичний пакет з вологопоглиначем (принаймні 2–3 пакети з поглиначем всередині).
- Картки зі зразками DBS мають зберігатися до початку аналізу за вказаних у таблиці нижче умов.

Зберігання карток зі зразками DBS	
Умови	Максимальний час зберігання
від 2°C до 30°C за кімнатної вологості	18 тижнів
≤37°C за кімнатної вологості	12 тижнів
≤45°C за кімнатної вологості	8 тижнів
≤38°C за високої вологості (≤85%)	4 тижні
від -25°C до -15°C за кімнатної вологості	18 тижнів
-70°C або нижче за кімнатної вологості	18 тижнів

Транспортування зразків

Під час транспортування зразків дотримуйтеся рекомендацій щодо температури й часу зберігання, наведених в розділі **Забір та зберігання зразків** вище. Для внутрішнього й міжнародного транспортування зразки мають бути упаковані й промарковані відповідно до визначених регіональних, національних і міжнародних норм і правил щодо транспортування клінічних, діагностичних та біологічних зразків.

ПРОЦЕДУРА АНАЛІЗУ ABBOTT REALTIME BГC / ABBOTT REALTIME HCV З ВИКОРИСТАННЯМ DBS

Потрібні, але не надані матеріали

- Набір реагентів для ампліфікації Abbott RealTime BГC / Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit (кат. № 4J86-90)
- Набір калібраторів Abbott RealTime BГC / Abbott RealTime HCV Calibrator Kit (кат. № 4J86-70)
- Набір контролів Abbott RealTime BГC / Abbott RealTime HCV Control Kit (кат. № 4J86-80)

Для зони підготовки зразків для системи Abbott m2000sp

- Набір буферів мСемпл DBS Abbott / Abbott mSample Preparation System DBS Buffer Kit (кат. № 09N02-001)
- Пристрій для пробопідготовки Abbott m2000sp (кат. № 09K14-01, 09K14-02)
- Набір реагентів для підготовки зразків Abbott мСемпл Систем (4 x 24 реакцій) / Abbott mSample Preparation System (4 x 24 Preps) (кат. № 04J70-24)
- Відкалібровані прецизійні піпетки об'ємом від 20 до 1000 µL рідини (у разі застосування UNG можна використовувати відкалібровані прецизійні піпетки об'ємом <20 µL рідини)
- Наконечники з аерозольним фільтром для прецизійних піпеток об'ємом від 20 до 1000 µL (у разі використання UNG можуть бути необхідні наконечники з аерозольним бар'єром для піпеток об'ємом <20 µL рідини)
- Вортекс-міксер
- Пробірка для мастер-міксу / Master Mix Tube (кат. № 04J71-80)
- Планшет на 96 глибоких лунок / Abbott 96-Deep-Well Plate (кат. № 04J71-30)

- Реакційна пробірка на 5 мл / 5 mL Reaction Vessels (кат. № 04J71-20)
- Ємності для реагентів на 200 мл / 200 mL Reagent Vessels (кат. № 04J71-60)
- Оптичний реакційний планшет на 96 лунок / Abbott 96-Well Optical Reaction Plate (кат. № 04J71-70)
- Клейка оптична плівка / Abbott Optical Adhesive Covers (кат. № 04J71-75)
- Аплікатор для нанесення клейкої плівки / Abbott Adhesive Cover Applicators (кат. № 9K32-01)
- Штатив для планшетів / Abbott Splash-Free Support Base (кат. № 9K31-01)
- Компакт-диск з програмним забезпеченням Abbott RealTime BГC m2000 / Abbott RealTime HCV m2000 ROW System Combined Application CD-ROM (кат. № 01L69-040 або вище)
- Набір планок для наклеювання штрих-коду для штативів для ємностей з кришками, які проколюються (для зразків сухої плями крові) 13 mm (мм) / m2000 System 13mm DBS-PoST Set (кат. № 09N03-001)
- Кришки 15 мм для мікрофлаконів на 1.4 mL Micro Vial 15mm Caps (кат. № 03N20-01) (необов'язково)
- Урацил N-глікозилаза Uracil N-Glycosylase (UNG)^a (кат. № 6L87-02)

^a За потреби згідно з розділом **Контамінація від зовнішнього ампліфікованого продукту, що містить Д-антигенні одиниці** цих інструкцій із застосування.

Для зони ампліфікації системи Abbott m2000rt

- Пристрій Abbott m2000rt (кат. № 9K15-01)
- Компакт-диск з програмним забезпеченням Abbott RealTime BГC m2000 / Abbott RealTime HCV m2000 ROW System Combined Application CD-ROM (кат. № 01L69-040 або вище)
- Набір для оптичної калібровки / Abbott m2000rt Optical Calibration Kit (кат. № 04J71-93)

Інші матеріали

- Бокс біологічного захисту, схвалений для застосування з інфекційними матеріалами
- Герметичний пакет для DBS-картки
- Пакет з вологопоглиначем для DBS-картки
- Паперова картка Ahlstrom-Munktel TFN та/або Whatman 903
- Герметичний пластиковий пакет для утилізації 96-лункової реакційної пляшки
- Вода без PHK (Eppendorf або еквівалент)^b
- Мікроцентрифужні пробірки на 1.7 mL для мікробіологічного застосування (Dot Scientific, Inc. або еквівалент)^b
- Ватні палички (Puritan або еквівалент)^b

^b Примітка. Ці 3 компоненти використовуються в процедурі контролю лабораторії на наявність контамінації. Див. розділ «ПРОЦЕДУРИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ» інструкції із застосування аналізу Abbott RealTime BГC / Abbott RealTime HCV (кат. № 4J86).

Запобіжні заходи під час виконання процедур

- Перш ніж починати роботу зі зразками, уважно прочитайте цю інструкцію із застосування.
- Реагенти для ампліфікації та внутрішні контролю можна використовувати до двох разів, як описано в цій інструкції із застосування. Калібратори, негативний контроль, позитивний контроль високої та низької концентрацій Abbott RealTime BГC / Abbott RealTime HCV призначені лише для одноразового використання, після чого мають утилізуватися.
- Наконечники для піпеток з аерозольним фільтром або одноразові піпетки призначені лише для одноразового використання для відбору зразків або внутрішніх контролів. Щоб уникнути контамінації циліндра піпетки під час відбору зразка, не торкайтеся ним внутрішньої поверхні пробірки чи контейнера зі зразком. Рекомендовано користуватися подовженими наконечниками для піпеток з аерозольним фільтром.
- Процедури контролю наявності ампліфікованого продукту наведено в розділі **ПРОЦЕДУРИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ**.
- Щоб знизити ризик контамінації нуклеїновою кислотою, очищуйте та дезінфікуйте місця проливання зразків з використанням туберкулоцидних дезінфектантів, як-от 1.0-відсоткового гіпохлориту натрію або іншого відповідного дезінфектанта.
- Калібратори та контролю Abbott RealTime BГC / Abbott RealTime HCV мають бути підготовлені разом зі зразками, що призначені для тестування. Використання калібраторів та контролів Abbott RealTime

BГC / Abbott RealTime HCV є невід'ємною частиною процедури аналізу з використанням Abbott RealTime BГC / Abbott RealTime HCV. Див. розділ **ПРОЦЕДУРИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ**.

- Протягом 1 години після підготовки зразків має бути розпочата процедура додавання мастер-мікс Abbott m2000sp Master Mix.
- У разі переривання процедури додавання мастер-мікс Abbott m2000sp Master Mix утилізуйте реагенти для ампліфікації, що використовуються вдруге. Нові набори реагентів можна зберегти для повторного використання, як описано в цій інструкції.
- Протягом 50 хвилин з моменту запуску процедури додавання мастер-міксу Master Mix має бути запущена процедура Abbott m2000rt. Якщо систему Abbott m2000rt не запущено протягом 50 хвилин, її роботу перервано або скасовано, запакуйте Оптичний реакційний планшет на 96 лунок / Abbott 96-Well Optical Reaction Plate в герметичний пластиковий пакет та утилізуйте його відповідно до вказівок Інструкції із застосування системи Abbott m2000rt разом з рукавичками, які використовувалися для роботи з планшетом.

ВАЖЛИВО! Реагенти для ампліфікації, що будуть використовуватися вдруге, мають бути поміщені на зберігання за температури –10°C або нижче протягом 50 хвилин після початку процедури додавання мастер-міксу.

ПРОЦЕДУРА АНАЛІЗУ: ЗРАЗКИ DBS НА СИСТЕМАХ АBBOTT m2000sp ТА АBBOTT m2000rt

Докладний опис процедури користування системами Abbott m2000sp та Abbott m2000rt див. в Інструкціях із застосування систем Abbott m2000sp та Abbott m2000rt (розділ Правила роботи). Для процедури роботи з DBS необхідне програмне забезпечення Abbott m2000sp версії 6.0 або вище. Дотримуйтеся вказівок в Інструкції із застосування системи Abbott m2000sp (кат. № 09K20, версія 6 або вище).

За одну процедуру можна обробити всього до 96 зразків. Під час кожної процедури використовуються Негативний контроль Abbott RealTime BГC / Abbott RealTime HCV Negative Control, Позитивний контроль низької концентрації Abbott RealTime BГC / Abbott RealTime HCV Low Positive Control та Позитивний контроль високої концентрації Abbott RealTime BГC / Abbott RealTime HCV High Positive Control; це означає, що за одну процедуру можна обробити до 93 зразків DBS (коли не використовуються калібратори). Калібратори й контролю обробляються як зразки рідини; пункти з 1 по 5 призначені лише для DBS. Під час процедури DBS не обробляються зразки плазми або сироватки. Для кожного зразка DBS протягом усієї процедури обробки зразків має використовуватися одна пробірка для мастер-міксу Abbott Master Mix Tube. Простежте за маркуванням зразків DBS під час обробки.

1. Налийте в пробірку для мастер-міксу Abbott Master Mix Tube 1.3 mL буфера mDBS з Набору буферів mСемпл DBS Abbott / Abbott mSample Preparation System DBS Buffer Kit (кат. № 09N02-001).

ПРИМІТКА. На цьому етапі не використовуйте лізисний буфер mЛізис / mLysis Buffer або інші реагенти.

2. Тримайте перфоровану паперову DBS-картку над пробіркою для мастер-міксу Abbott Master Mix Tube.
3. Видавіть коло DBS з картки чистим наконечником піпетки (по одному колу DBS на кожну пробірку для мастер-мікс Abbott Master Mix Tube). Кожна крапля DBS має бути приблизно 12 mm у діаметрі.

ПРИМІТКА. ДЛЯ КОЖНОГО ЗРАЗКА DBS ВИКОРИСТОВУЙТЕ НОВИЙ НАКОНЕЧНИК ПІПЕТКИ, ЩОБ УНИКНУТИ ПЕРЕХРЕСНОЇ КОНТАМІНАЦІЇ.

Якщо у вас неперфорований папір з DBS, виріжте одну цілу краплю DBS (приблизно 12 міліметрів у діаметрі) для кожного зразка й покладіть її в пробірку для мастер-мікс Abbott Master Mix Tube.

ПРИМІТКА. Уникайте безпосереднього контакту ріжучої поверхні зі зразками DBS. За потреби дезінфікуйте інструмент, за допомогою якого вирізаєте краплі DBS, між зразками відповідно до належних лабораторних процедур.

4. Повністю занурте коло з DBS в буфер mDBS Buffer (для цього постукайте по пробірці або просуньте DBS у буфер наконечником піпетки).

ПРИМІТКА. Якщо ви просуваєте DBS у буфер наконечником піпетки, стежте за тим, щоб занурення піпетки в буфер DBS не призводило до зменшення його об'єму через те, що частина рідини залишається на наконечнику та/або поглинається його фільтром.

5. Вручну струсність пробірки зі зразками або перемішайте рідину в них. Не використовуйте для перемішування вортекс-міксер. Витримуйте рідину в пробірках протягом 30 хвилин (±2 хвилини) за кімнатної температури.

6. Протягом цього часу розморозьте тестові та внутрішні контролю за температури від 15°C до 30°C або від 2°C до 8°C. Розморозьте калібратори за температури від 15°C до 30°C або від 2°C до 8°C, лише якщо ви використовуєте їх у процедурі.

ПРИМІТКА. Після розморожування тестові контролю, внутрішні контролю й калібратори можна зберігати перед використанням за температури від 2°C до 8°C протягом 24 годин.

7. Перемішайте кожен тестовий калібратор і кожен контроль три рази по 2 - 3 секунди за допомогою вортекс-міксера перед використанням. Переконайтеся, що вміст кожного флакона перебуває на його дні: для цього легенько постукайте флаконами по столу, щоб рідина осіла донизу. Переконайтеся, що в рідині немає бульбашок і піни; якщо вони є, видаліть їх за допомогою піпетки зі стерильним наконечником (використовуйте новий наконечник для кожного флакона).
8. Розморозьте реагенти ампліфікації за температури від 15°C до 30°C або від 2°C до 8°C і зберігайте їх за температури від 2°C до 8°C, доки вони не знадобляться для процедури ампліфікації з використанням мастер-мікс.

9. Виберіть нові та/або неповні набори реагентів для ампліфікації, що будете використовувати в процедурі. Інструкції щодо поводження із наборами реагентів для ампліфікації див. в Інструкції із застосування системи Abbott m2000sp (кат. № 09K20, версія 6 або вище), розділ Правила роботи. Набори реагентів для ампліфікації мають належати до одного номера партії. Розморозьте нові реагенти ампліфікації за температури від 15°C до 30°C або від 2°C до 8°C і зберігайте їх за температури від 2°C до 8°C, доки вони не знадобляться для процедури ампліфікації з використанням мастер-мікс.

ПРИМІТКА. Після розморожування нові реагенти для ампліфікації можуть зберігатися за температури від 2°C до 8°C протягом 24 годин, якщо ви не використовуєте їх негайно. Неповні набори реагентів для ампліфікації, що використовуються вдруге, НЕ МОЖНА зберігати за температури від 2°C до 8°C перед використанням. Їх слід зберігати за температури –10°C або нижче, доки вони не знадобляться для додавання мастер-мікс. Загальний час перебування за кімнатної температури після виймання з холодильника не має перевищувати 25 хвилин, включаючи ситуації, коли набори виймаються з холодильника, але не використовуються. Якщо термін у 25 хвилин перевищено, неповні набори реагентів для ампліфікації слід утилізувати.

У таблиці нижче показано потрібну кількість реагентів для підготовки зразків і флаконів із внутрішнім контролем залежно від кількості реакцій.

Вимоги до реагентів для підготовки зразків і внутрішніх контролів				
Реагент	від 1 до 24 реакцій	від 25 до 48 реакцій	від 49 до 72 реакцій	від 73 до 96 реакцій
mМікропатіклс/ mMicroparticles	1 флакон	2 флакони	2 флакони	2 флакони
Розчин mЛізис/ mLysis	1 флакон	2 флакони	3 флакони	4 флакони
Розчин mВаш1/ mWash 1	1 флакон	2 флакони	3 флакони	4 флакони
Розчин mВаш2/ mWash 2	1 флакон	2 флакони	3 флакони	4 флакони
Буфер mЕлюжн/ mElution Buffer	1 флакон	2 флакони	3 флакони	4 флакони
Внутрішній контроль ^a	1 новий флакон або 1 неповний флакон	1 новий флакон або 2 неповні флакони	2 нових флаконів або 3 неповні флакони	2 нових флаконів або 4 неповні флакони

^a Можна скористатися комбінацією нових і неповних флаконів із внутрішнім контролем.

10. Обережно переверніть флакони для підготовки зразків Abbott mSample Preparation для забезпечення однорідності розчину. Якщо після відкриття в будь-якому флаконі з реагентом є кристали, залиште реагент за кімнатної температури, доки кристали не розчиняться. Не використовуйте реагент, доки кристали в ньому не розчиняться.
11. Перемішайте кожен внутрішній контроль три рази по 2 - 3 секунди за допомогою вортекс-міксера перед використанням.

12. За допомогою відкаліброваної прецизійної піпетки **СПЕЦІАЛЬНО ДЛЯ ВНУТРІШНЬОГО КОНТРОЛЮ** додайте 500 µL внутрішнього контролю до кожного флакона з Буфером мЛізіс/mLysis Buffer. Перемішайте розчин, обережно перевертаючи контейнер 5 - 10 разів, намагаючись уникнути утворення піни. Неповні флакони з внутрішнім контролем можна закрити й помістити на зберігання за температури -10°C або нижче для повторного використання.
13. Встановіть позитивні контролю низької та високої концентрацій, негативний контроль і калібратори (якщо вони застосовуються) у штативи для зразків Abbott m2000sp.
14. Коли інкубацію буде завершено, вручну перемішайте рідину в пробірках зі зразками DBS та установіть їх у штативи для зразків Abbott m2000sp.

ПРИМІТКА. Штативи для зразків Abbott m2000sp мають бути відкалібровані спеціально для процедури Abbott RealTime BГC / Abbott RealTime HCV для DBS.

15. Завантажуйте штативи для зразків обережно, щоб уникнути пролиття. За наявності штрих-кодів на наліпках пробірок вони мають бути розташовані справа від простішого сканування. Надійно встановіть кожну пробірку в штатив, щоб її нижня частина спиралася на дно штатива.
16. Послідовно завантажте заповнені штативи для зразків у систему Abbott m2000sp у відповідні місця: перший штатив має бути розташований з правого краю від робочого столу, наступні встановлюються послідовно ліворуч від першого.
17. Встановіть реакційні ємності на 5 mL в тримач підсистеми Abbott m2000sp на 1 mL.
18. Встановіть реагенти набору Abbott mSample Preparation System та планшет на 96 глибоких лунок Abbott 96 Deep-Well Plate на робочий стіл Abbott m2000sp, як описано в Інструкції із застосування системи Abbott m2000sp (розділ Правила роботи).
19. На екрані "Protocol" (Процедура) виберіть файл програми HCV RNA DBS. Запустіть процедуру екстракції зразків, як описано в Інструкції із застосування системи Abbott m2000sp (розділ Правила роботи).
20. Введіть значення для партій калібратора (потрібно, якщо графік значень калібратора незбережено в системі Abbott m2000rt) і контролю в поля "Calibrator" (Калібратор) і "Control" (Контроль) у розділі "Sample Extraction: Worktable Setup" (Екстракція зразка: конфігурація робочого столу). Значення для конкретної партії вказано в кожній картці комплекту калібраторів і контролів Abbott RealTime BГC / Abbott RealTime HCV.
21. Протягом 1 години після завершення процедури підготовки зразків має бути розпочата процедура додавання мастер-мікс Abbott m2000sp Master Mix (пункт 28).

ПРИМІТКА. Перед початком роботи з реагентами ампліфікації змініть рукавички.

22. Після завершення процедури підготовки зразків встановіть реагенти ампліфікації та пробірку мастер-мікс (якщо потрібно) на робочий стіл Abbott m2000sp. У таблиці нижче показано потрібну кількість наборів реагентів для ампліфікації залежно від кількості реакцій. Якщо використовується лише 1 набір реагентів для ампліфікації, пробірка мастер-мікс не потрібна.

Вимоги до кількості наборів реагентів для ампліфікації^a

Від 1 до 24 реакцій	Від 25 до 48 реакцій	Від 49 до 72 реакцій	Від 73 до 96 реакцій
1 новий або до 4 неповних наборів	2 нові або до 4 неповних наборів	3 нові або до 4 неповних наборів	4 нові або до 4 неповних наборів

^a Інструкції щодо керування запасом наборів для визначення кількості реакцій, які можна протестувати з використанням неповних наборів, див. в Інструкції із застосування системи Abbott m2000sp (кат. № 09K20, версія 6 або вище).

- Неповні набори реагентів для ампліфікації можна використовувати лише з тією ж самою системою Abbott m2000sp, що застосовувалася для початкового етапу підготовки цього набору. Повторне використання набору реагентів для ампліфікації з іншою системою призведе до помилки, що може затримати виконання процедури.
- Неповні й нові набори реагентів для ампліфікації можна використовувати в комбінації.

ВАЖЛИВО! Неповні набори реагентів для ампліфікації мають зберігатися за температури -10°C або нижче

безпосередньо до їхнього повторного використання. Перш ніж встановлювати неповні набори на робочий стіл Abbott m2000sp, переконайтеся, що мастер-мікс розморожений. Після виймання з холодильника, де вони зберігалися за температури -10°C або нижче, неповні набори реагентів для ампліфікації мають бути використані вдале протягом 25 хвилин. Це загальний термін перебування за кімнатної температури, включаючи ситуації, коли набір виймається з холодильника, але не використовується.

23. Вміст нових наборів реагентів для ампліфікації має бути на дні флакона: для цього перед відкриванням постукайте 5 - 10 разів флаконами у вертикальному положенні по столу.
 - Не стукайте неповними наборами реагентів для ампліфікації перед їхнім використанням удруге. Це може призвести до втрати об'єму мастер-мікс у кришці.
24. Зніміть кришки. Перед зберіганням нового набору реагентів для ампліфікації для використання вдале кришку слід встановити на місце. Якщо ви плануєте закривати флакони оригінальними кришками, збережіть їх. Якщо ви закриватимете флакони з реагентами новими кришками, старі можна утилізувати.

Якщо для контролю контамінації використовуватиметься урацил-N-глікозілаза (UNG), дотримуйтеся інструкцій нижче.
25. За допомогою ПІПЕТКИ, ПРИЗНАЧЕНОЇ СПЕЦІАЛЬНО ДЛЯ РОБОТИ З РЕАГЕНТОМ, додайте UNG (кат. № 6L87-02) зазначеним об'ємом 1 U/µL у флакон з реагентом у позиції 3 нового або неповного набору реагентів для ампліфікації. Вручну перемішайте розчин, обережно працюючи піпеткою вгору й вниз в усіх неповних наборах. Не перемішуйте розчин у нових наборах.
 - За допомогою таблиці нижче визначте об'єм UNG, який слід додати до флакона з реагентом у позиції 3 нового або неповного набору реагентів для ампліфікації. Флакон з реагентом у позиції 3 нового набору реагенту містить термостійкий фермент полімерази rTth. Флакон з реагентом у позиції 3 неповного набору реагенту містить мастер-мікс.

Об'єм UNG, який слід додавати до флакона з реагентом у позиції 3 кожного набору реагентів для ампліфікації

К-сть тестів, що залишилися в наборі	Об'єм UNG для додання (µL)
1	5
2	6
3	7
4	8
5	9
6	10
7	11
8	12
9	13
10	13
11	14
12	15
13	16
14	17
15	18
16	19
17	20
18	21
19	22
20	23
21	24
22	25
23	26
24 (новий набір)	27

ПРИМІТКА. Об'єм UNG, який слід додавати до флакона з реагентом в позиції 3, залежить від кількості тестів, що

залишилися в наборі реагентів, а не від кількості зразків, для яких проводиться процедура. Інструкції щодо керування запасом наборів реагентів для ампліфікації та визначення кількості тестів, що залишаються в наборі, див. в Інструкції із застосування системи Abbott *m2000sp*.

26. Неповні набори реагентів для ампліфікації встановлюються на робочий стіл Abbott *m2000sp* ліворуч від нових наборів.
27. Набори реагентів для ампліфікації мають бути надійно встановлені в системі.
28. Виберіть належний планшет з лунками для процедури підготовки зразків. Запустіть процедуру додавання мастер-мікс Abbott *m2000sp* Master Mix. Дотримуйтеся вказівок в Інструкції із застосування системи Abbott *m2000sp* (розділ Правила роботи).

ПРИМІТКА. Оператор не повинен вручну заповнювати порожні/незаповнені лунки Оптичного реакційного планшета на 96 лунок / Abbott 96-Well Optical Reaction Plate.

- Коли відбір зразків буде завершено, система Abbott *m2000sp* автоматично заповнить порожні лунки Оптичного реакційного планшета на 96 лунок / Abbott 96-Well Optical Reaction Plate Буфером *mEluon*/mElution (якщо у процедурі бере участь понад 48 зразків). Якщо в процедурі використовується 48 або менше зразків, заповнення планшета не буде проводитись.
- За наявності відповідних інструкцій від системи тримач для реагенту Reagent Carrier 2 має залишатися на місці [у ньому має бути принаймні реакційна ємність для Буфера *mEluon*/mElution Buffer (тримач для реагенту Reagent Carrier 2, позиція 6)]. Якщо цю ємність для реагенту було виїнято, встановіть її у позицію 6 тримача для реагенту 2 нова ємність для реагенту з наліпкою Буфера *mEluon*/mElution Buffer. У ємність для реагенту буде налито системний розчин, який потім заповнить порожні лунки. Після завершення цієї процедури система продовжить додавання мастер-мікс.

ПРИМІТКА. Вказівки щодо використання функції автоматичного заповнення планшета наведено в Інструкції із застосування системи Abbott *m2000sp* (кат. № 09K20, версія 6 або вище), Розділ 5 «Правила роботи —Збір зразків: закритий режим».

- Протягом 50 хвилин після запуску процедури додавання мастер-мікс Master Mix (пункт 28) має бути розпочата процедура Abbott *m2000rt* (пункт 33).

ПРИМІТКА. Якщо процедуру було перервано з будь-якої причини після етапу 28, для повторного виконання процедури додавання мастер-мікс Abbott *m2000sp* Master Mix (пункт 28) необхідно використати новий Оптичний реакційний планшет на 96 лунок / Abbott 96-Well Optical Reaction Plate.

29. Увімкніть та ініціалізуйте систему Abbott *m2000rt* в зоні ампліфікації.

ПРИМІТКА. Для прогрівання системи Abbott *m2000rt* потрібно 15 хвилин.

ПРИМІТКА. Перед поверненням до зони підготовки зразків одягніть рукавички.

30. Коли система Abbott *m2000sp* завершить додавання зразків і мастер-мікс відповідно до Інструкції із застосування системи Abbott *m2000sp* (розділ Правила роботи), запечатайте Оптичний реакційний планшет на 96 лунок / Abbott 96-Well Optical Reaction Plate.
31. Встановіть запечатаний оптичний реакційний планшет на Штатив для планшетів / Abbott Splash-Free Support Base для її перенесення в систему Abbott *m2000rt*.
Якщо використовуватиметься урацил-N-глікозилаза (UNG), дотримуйтеся інструкцій нижче.
32. Установіть запечатаний оптичний реакційний планшет на Штатив для планшетів / Abbott Splash-Free Support Base і проводьте інкубацію за кімнатної температури (від 15°C до 30°C) протягом 10 хвилин. Після інкубації за кімнатної температури перенесіть Оптичний реакційний планшет на 96 лунок / Abbott 96-Well Optical Reaction Plate на Штатив для планшетів / Abbott Splash-Free Support Base в систему Abbott *m2000rt*.
33. Установіть Оптичний реакційний планшет на 96 лунок / Abbott 96-Well Optical Reaction Plate в систему Abbott *m2000rt*. На екрані «Protocol» (Процедура) виберіть файл програми HCV RNA DBS. Запустіть процедуру, як описано в Інструкції із застосування системи Abbott *m2000rt* (розділ Правила роботи).

ПРИМІТКА. Для передавання послідовності тестів рекомендовано скористатися CD-ROM або мережевим з'єднанням з функціями експорту та імпорту програмного забезпечення *m2000sp* та *m2000rt*. Якщо послідовність тестів Abbott *m2000rt* створюється вручну, введіть ідентифікатори

зразків у відповідні позиції штатива ПЛР відповідно до таблиці "Wells for Selected Plate" (Лунки вибраного планшета) на екрані з докладними відомостями "PCR Plate Results" (Результати ПЛР планшета) в системі Abbott *m2000sp*. Див. Розділ 5 Інструкції із застосування Abbott *m2000sp*.

34. Якщо ви використовуватимете вдруге підготовлений неповний набір реагентів для ампліфікації, закрийте 3 флакони з реагентом збереженими або новими кришками (кат. № 3N20-01) і негайно помістіть їх на зберігання за температури -10°C або нижче, захистивши їх від світла (флакони мають бути розташовані вертикально). Після вичерпання або використання вдруге утилізуйте відповідні набори реагентів для ампліфікації.

ВАЖЛИВО! Реагенти для ампліфікації, що будуть використовуватися вдруге, мають бути поміщені на зберігання за температури -10°C або нижче протягом 50 хвилин після початку процедури додавання мастер-мікс.

ПРОЦЕДУРИ ПОСТОБРОБКИ

1. Зніміть Планшет на 96 глибоких лунок / Abbott 96 Deep-Well Plate з робочого столу та утилізуйте його відповідно до вказівок Інструкції із застосування системи Abbott *m2000sp*.
2. Покладіть Оптичний реакційний планшет на 96 лунок / Abbott 96-Well Optical Reaction Plate в герметичний пластиковий пакет та утилізуйте її відповідно до вказівок Інструкції із застосування системи Abbott *m2000rt* разом з рукавичками, що використовувалися для роботи з нею.
3. Очистіть Штатив для планшетів / Abbott Splash-Free Support Base перед наступним використанням відповідно до вказівок Інструкції із застосування системи Abbott *m2000rt*.

ПРОЦЕДУРИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ

Оптичне калібрування системи Abbott *m2000rt*

Див. інструкцію із застосування для аналізу Abbott RealTime BГC / Abbott RealTime HCV (кат. № 4J86).

Калібрування аналізу

Див. інструкцію із застосування для аналізу Abbott RealTime BГC / Abbott RealTime HCV (кат. № 4J86).

Для процедури DBS з використанням систем Abbott *m2000sp* та Abbott *m2000rt*: прийняті та збережені параметри калібрування Abbott RealTime BГC / Abbott RealTime HCV можуть зберігатися протягом 6 місяців. Протягом цього часу всі наступні зразки можуть тестуватися без додаткового калібрування за винятком таких випадків:

- використання Набору реагентів для ампліфікації Abbott RealTime BГC / Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit з новим номером партії;
- використання Набору реагентів для підготовки зразків Abbott мСемпл Систем / Abbott mSample Preparation System (4 × 24 Preps) з новим номером партії;
- встановлення нового файлу програми Abbott RealTime BГC / Abbott RealTime HCV RNA DBS.

Виявлення інгібування

Див. інструкцію із застосування для аналізу Abbott RealTime BГC / Abbott RealTime HCV (кат. № 4J86).

Негативні й позитивні контролю

Див. інструкцію із застосування для аналізу Abbott RealTime BГC / Abbott RealTime HCV (кат. № 4J86).

Контроль лабораторії на наявність контамінації

Див. інструкцію із застосування для аналізу Abbott RealTime BГC / Abbott RealTime HCV (кат. № 4J86).

РЕЗУЛЬТАТИ ДЛЯ ЗРАЗКІВ DBS

Отримане за допомогою процедури Abbott *m2000rt* DBS значення концентрації для зразка DBS визначає концентрацію вірусу BГC у зразку плазми цільної крові, з якої був створений зразок DBS. Система Abbott *m2000rt* автоматично передає результати на робочу станцію Abbott *m2000rt*. Результати аналізу можуть бути вказані в міжнародних одиницях (IU/mL) або логарифмічних міжнародних одиницях (Log IU/mL).

Інтерпретація результатів

Результат	Інтерпретація
Не виявлено	Мішень не виявлена
<2.66 Log IU/mL ^a	Виявлено
від 2.66 до 8.00 Log IU/mL	
>8.00 Log IU/mL	>ULQ ^b

^a 462 IU/mL

^b ULQ = верхня межа кількісного визначення

ОБМЕЖЕННЯ ПРОЦЕДУРИ

- **ДЛЯ ДІАГНОСТИЧНОГО ВИКОРИСТАННЯ *IN VITRO***
- Для найефективнішого використання цього аналізу має бути забезпечено належний забір, зберігання й транспортування зразків на місце тестування (див. розділ **ЗАБІР, ЗБЕРІГАННЯ Й ТРАНСПОРТУВАННЯ ЗРАЗКІВ НА МІСЦЕ ТЕСТУВАННЯ** цієї інструкції із застосування).
- Для створення зразків DBS, що аналізуватимуться за допомогою аналізу Abbott RealTime ВГС / Abbott RealTime HCV для DBS, можна використовувати зразки цільної крові, зібрані в пробірки з EDTA. Використання інших антикоагулянтів з аналізом Abbott RealTime ВГС / Abbott RealTime HCV для DBS не перевірялося.
- Використовувати аналіз Abbott RealTime ВГС / Abbott RealTime HCV для DBS мають лише спеціалісти, що пройшли навчання з процедур підготовки та попередньої обробки зразків DBS, а також з роботи з діагностичними аналізами й системою Abbott m2000.
- Процедури належного використання інструментів і тестів знижують ризик контамінації ампліфікованим продуктом. У той же час необхідно забезпечити контроль контамінації нуклеїновою кислотою від калібраторів, позитивних контролів і зразків за допомогою належних лабораторних методів, а також шляхом суворого дотримання процедур, наведених в цій інструкції із застосування.
- Як і для будь-якого діагностичного аналізу, результати аналізу Abbott RealTime ВГС / Abbott RealTime HCV для DBS мають інтерпретуватися в поєднанні з іншими клінічними й лабораторними результатами. Якщо для зразка отримано результат «Не виявлено», це не означає, що в пацієнта немає РНК ВГС.
- Порушення процедур забору зразків, висушування, зберігання DBS та поводження з DBS-картками може призвести до неточних результатів тестування.
- Необхідно використовувати DBS-картки Ahlstrom-Munktel TFN і Whatman 903. Використання інших карток з аналізом Abbott RealTime ВГС / Abbott RealTime HCV не перевірялося.

ХАРАКТЕРИСТИКИ DBS-ЗРАЗКІВ

Межа виявлення (LoD)

Значення LoD для аналізу Abbott RealTime ВГС / Abbott RealTime HCV для зразків DBS становить 462 IU/mL. Значення LoD було встановлено шляхом тестування зразків DBS, підготованих з розчину РНК вірусу гепатиту С відповідно до міжнародного стандарту ВООЗ в ВГС-негативній цільній крові. Перевірка кожного зразка на концентрацію РНК ВГС проводилася з використанням 4 партій реагентів для ампліфікації протягом 3 днів. Результати, що представляють аналітичні характеристики чутливості аналізу Abbott RealTime ВГС / Abbott RealTime HCV для DBS, наведено в **Таблиці 1**.

Таблиця 1. Межа виявлення (LoD) аналізу Abbott RealTime ВГС / Abbott RealTime HCV для DBS

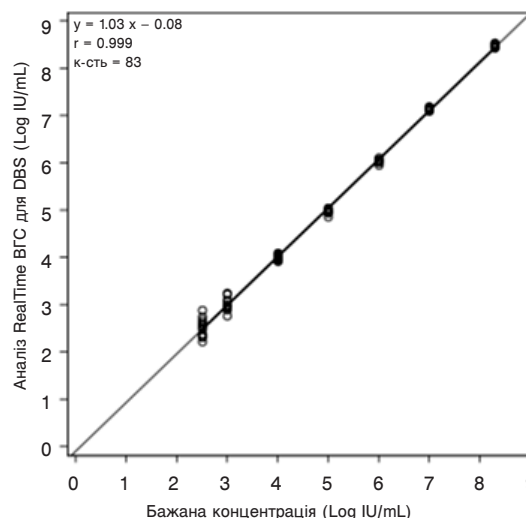
РНК ВГС (IU/mL)	Кількість тестів	Кількість виявлень	Відсоток виявлень
500	84	83	99
400	84	80	95
350	84	75	89
300	84	73	87
150	84	54	64
50	84	26	31

Пробіт-аналіз даних визначив, що концентрація РНК ВГС, визначена з використанням сухих крапель крові, з ймовірністю 95% становила 462 IU/mL (95% ДІ, від 381 до 593 IU/mL).

Лінійний діапазон

Верхня межа кількісного визначення (ULQ) для аналізу Abbott RealTime ВГС / Abbott RealTime HCV становить 100 мільйонів IU/mL; нижня межа є еквівалентним значенню LoD (462 IU/mL) для зразків DBS. На основі захищеної РНК ВГС, розчиненої з концентрацією від 200 мільйонів IU/mL до 316 IU/mL у ВГС-негативній цільній крові, було створено 7-елементну панель зразків DBS. Результати, що представляють лінійний розподіл для аналізу Abbott RealTime ВГС / Abbott RealTime HCV для DBS, наведено на **Рис. 1**.

Рис. 1. Лінійність результатів аналізу Abbott RealTime ВГС / Abbott RealTime HCV для DBS



Результати аналізу Abbott RealTime ВГС / Abbott RealTime HCV для DBS є лінійними в діапазоні перевірених значень концентрації РНК ВГС (від 316 до 200 мільйонів IU/mL, від 2.5 до 8.3 Log IU/mL).

Специфічність

Цільова специфічність аналізу Abbott RealTime ВГС / Abbott RealTime HCV для DBS є не меншою за 99.5%. Специфічність була визначена шляхом аналізу 119 серонегативних зразків ВГС з використанням 2 партій реагентів для ампліфікації. Загальна специфічність склала 100% (119/119).

Прецизійність

Прецизійність була визначена шляхом тестування 6-елементної панелі DBS, що охоплювала діапазон значень концентрації РНК ВГС від 316 IU/mL до 200 мільйонів IU/mL. Елементи панелі з концентрацією, нижчою за 5 Log IU/mL (100,000 IU/mL), були підготовлені із використанням ВГС-позитивних клінічних зразків, розчинених у ВГС-негативній цільній крові; елементи панелі з концентрацією, вищою за 5 Log IU/mL (100,000 IU/mL), були підготовлені із використанням захищеної РНК ВГС, розчиненої в ВГС-негативній цільній крові. Кожен елемент панелі перевірявся в 5 зразках один раз на день протягом 5 днів на 3 парах Abbott m2000sp/rt з використанням 3 партій реагенту ампліфікації. Було визначено стандартне відхилення у межах постановки, між постановками та між аналізами (у межах постановки та між постановками). Аналіз Abbott RealTime ВГС / Abbott RealTime HCV для DBS має забезпечувати стандартне відхилення між аналізами не вище за 0.25 Log IU/mL РНК ВГС для зразків із концентрацією ВГС від 10,000 до 100 мільйонів IU/mL. Результати, що представляють прецизійність аналізу Abbott RealTime ВГС / Abbott RealTime HCV для DBS, наведено в **Таблиці 2**.

Таблиця 2. Прецизійність аналізу Abbott RealTime BГC / Abbott RealTime HCV для DBS

Елемент панелі	К-сть	Середня конц. (IU/mL)	Середня конц. (Log IU/mL)	Стандартне відхилення у межах однієї постановки ^{a,e}	Стандартне відхилення між постановками ^a	Стандартне відхилення між аналізами ^{a,b}	Стандартне відхилення між партіями/системами ^a	Усього ^{c,e}
1	63 ^d	420	2.62	0.26	0.07	0.27	0.00	0.27
2	75	1,435	3.16	0.23	0.00	0.23	0.09	0.25
3	75	13,211	4.12	0.06	0.04	0.07	0.05	0.09
4	75	395,427	5.60	0.04	0.03	0.05	0.02	0.05
5	75	14,008,770	7.15	0.12	0.04	0.13	0.05	0.14
6	75	316,713,566	8.50	0.04	0.03	0.05	0.05	0.07

^a Стандартне відхилення вказано в Log IU/mL.

^b Значення між аналізами містить компоненти відхилення у межах однієї постановки та між постановками.

^c Загальне значення містить компоненти відхилення у межах однієї постановки, між постановками та між партіями/системами.

^d Середня концентрація елемента панелі 1 нижча за L_{QD}. Оцінка прецизійності зроблена на основі зразків, для яких було проведено кількісне визначення.

^e Стандартне відхилення у межах однієї постановки також називається повторюваністю. Загальне значення стандартного відхилення також називається відтворюваністю.

Повторюваність і відтворюваність для елемента панелі 1 (біля LLoQ) склали відповідно 0.26 Log IU/mL і 0.27 Log IU/mL, для елемента панелі 2 (біля LLoQ) — відповідно 0.23 Log IU/mL і 0.25 Log IU/mL. Повторюваність і відтворюваність для елемента панелі 5 (біля ULQ) склали відповідно 0.12 Log IU/mL і 0.14 Log IU/mL, для елемента панелі 6 (біля ULQ) — відповідно 0.04 Log IU/mL і 0.07 Log IU/mL.

Кореляція

Було порівняно кількісні значення концентрації РНК ВГC, отримані за допомогою аналізу Abbott RealTime BГC / Abbott RealTime HCV з використанням сухих крапель крові й за допомогою CE-сертифікованого еталонного аналізу Abbott RealTime BГC / Abbott RealTime HCV з використанням плазми крові людини. В аналіз було включено зразки плазми й DBS 346 осіб (зразків зібраних і протестованих у Грузії, Камеруні та Греції). За допомогою аналізу Abbott RealTime BГC / Abbott RealTime HCV для DBS було перевірено зразки DBS, підготовлені з венозної та капілярної (взятої з пальця) крові. Кількісні результати для зразків, що потрапили в динамічні діапазони тестів, було проаналізовано методом лінійної регресії найменших квадратів і методом Блента-Альтмана (капілярна кров DBS у порівнянні з плазмою: к-сть = 346, венозна кров DBS у порівнянні з плазмою: к-сть = 346, капілярна кров DBS у порівнянні з венозною кров'ю DBS: к-сть = 345). Коефіцієнт кореляції для капілярної крові DBS і плазми склав 0.843, нахил склав 0.91 (95% ДІ, від 0.85 до 0.97), перетин — 0.48 Log IU/mL (95% ДІ, від 0.12 до 0.84)(Рис. 2). Коефіцієнт кореляції для венозної крові DBS і плазми склав 0.840, нахил склав 0.94 (95% ДІ, від 0.88 до 1.00), перетин — 0.31 Log IU/mL (95% ДІ, від -0.07 до 0.69)(Рис. 3). Коефіцієнт кореляції між капілярною кров'ю DBS і венозною кров'ю DBS склав 0.943, нахил склав 0.91 (95% ДІ, від 0.87 до 0.94), перетин — 0.53 Log IU/mL (95% ДІ, від 0.33 до 0.72)(Рис. 4). Крім того, графіки, створені для цих порівнянь методом Бланда-Альтмана, наведено на Рис. 5, Рис. 6 і Рис. 7. Середня різниця для капілярної крові DBS і плазми склала -0.05 Log IU/mL. Середня різниця для венозної крові DBS і плазми склала -0.04 Log IU/mL. Середня різниця для капілярної і венозної крові DBS склала -0.02 Log IU/mL.

Прогнозована різниця для капілярної крові DBS та плазми була оцінена на цільових рівнях LLoQ та ULQ. Крім того, прогнозована різниця для венозної та капілярної крові DBS була оцінена на цільових рівнях LLoQ та ULQ. Зведена інформація про прогнозовану різницю наведена в Таблиці 3.

Таблиця 3. Прогнозована різниця для методу DBS (капілярна й венозна кров) і плазми на рівнях LLoQ та ULQ

Порівняння	Рівень	Бажаний рівень вірусного навантаження (Log IU/mL)	Прогнозована різниця (Log IU/mL)
Капілярна кров DBS та плазма	LLoQ	2.66	0.24
	ULQ	8.00	-0.26
Венозна кров DBS та плазма	LLoQ	2.66	0.15
	ULQ	8.00	-0.17

Рис. 2. Капілярна кров DBS і плазма

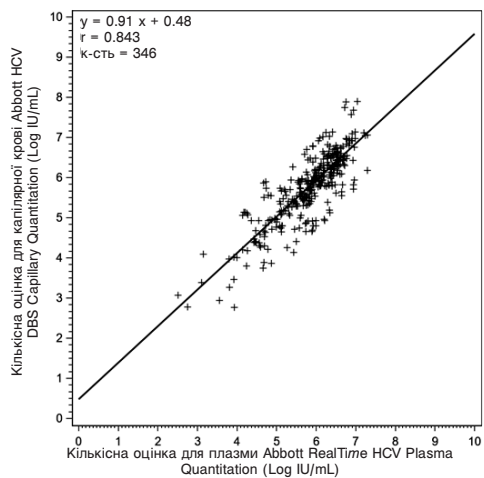


Рис. 3. Венозна кров DBS і плазма

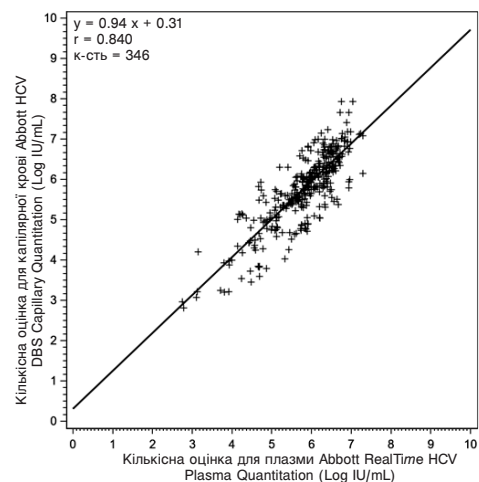


Рис. 4. Капілярна й венозна кров DBS

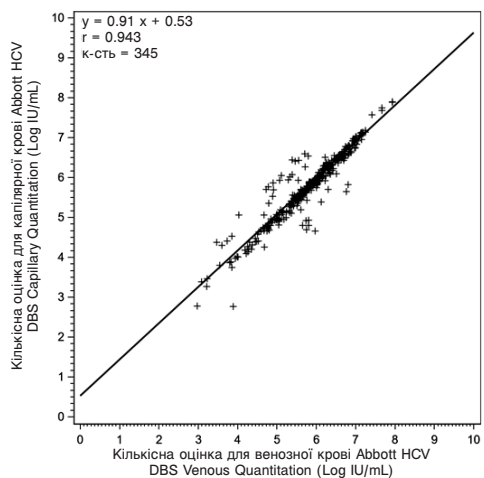


Рис. 5. Капілярна кров DBS/плазма

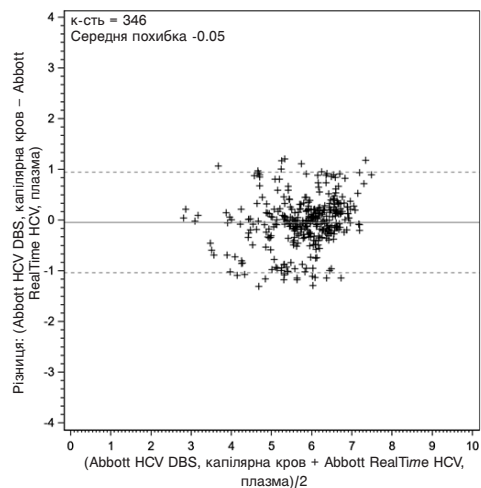


Рис. 6. Венозна кров DBS/плазма

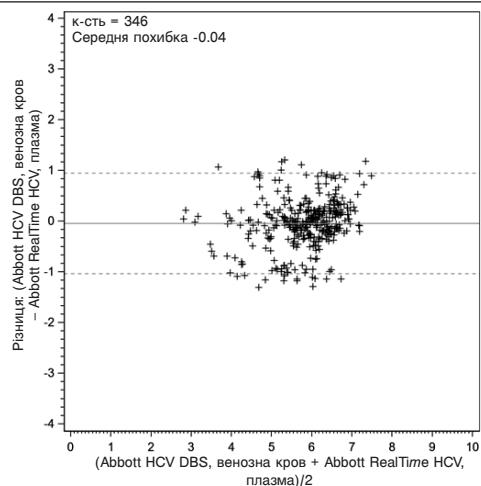
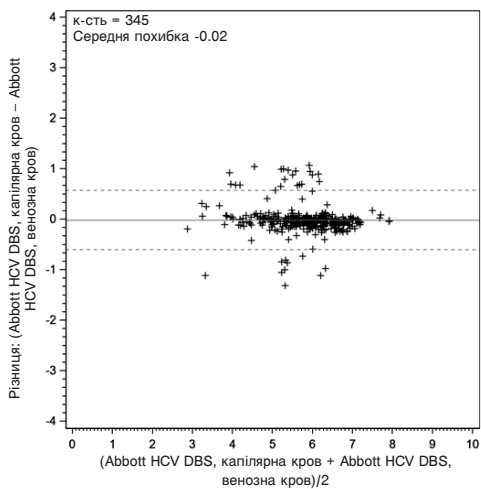


Рис. 7. Капілярна/венозна кров DBS



БІБЛІОГРАФІЯ

1. Gower E, Estes C, Blach S, Razavi-Shearer K, Razavi H. Global epidemiology and genotype distribution of the hepatitis C virus infection. *J Hepatol.* 2014;61(1 Suppl):S45-S57. doi:10.1016/j.jhep.2014.07.027
2. Guidelines for the screening, care and treatment of persons with chronic hepatitis C infection. World Health Organization (WHO); updated April 2016. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/205035>
3. AASLD/IDSA HCV guidance panel. *Recommendations for testing, managing, and treating hepatitis C.* AASLD/IDSA; updated October 24, 2022. <https://www.hcvguidelines.org/>
4. European Association for the Study of the Liver. EASL Recommendations on Treatment of Hepatitis C 2018. *J Hepatol.* 2018;69(2):461-511. doi:10.1016/j.jhep.2018.03.026
5. Miller MH, Agarwal K, Austin A, et al. Review article: 2014 UK consensus guidelines - hepatitis C management and direct-acting anti-viral therapy. *Aliment Pharmacol Ther.* 2014;39(12):1363-1375. doi:10.1111/apt.12764
6. Davis GL, Esteban-Mur R, Rustgi V, et al. Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin for the treatment of relapse of chronic hepatitis C. International Hepatitis Interventional Therapy Group. *N Engl J Med.* 1998;339(21):1493-1499. doi:10.1056/NEJM199811193392102
7. Manns MP, McHutchison JG, Gordon SC, et al. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial. *Lancet.* 2001;358(9286):958-965. doi:10.1016/s0140-6736(01)06102-5
8. Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR, et al. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med.* 2002;347(13):975-982. doi:10.1056/NEJMoa020047
9. Hadziyannis SJ, Sette H Jr, Morgan TR, et al. Peginterferon-alpha2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose. *Ann Intern Med.* 2004;140(5):346-355. doi:10.7326/0003-4819-140-5-200403020-00010
10. Orlent H, Deltenre P, Francque S, et al. Update of the Belgian Association for the Study of the Liver guidelines for the treatment of chronic hepatitis C genotype 1 with protease inhibitors. *Acta Gastroenterol Belg.* 2012;75(2):245-259.
11. Halfon P, Bourlière M, Pénaranda G, Khiri H, Ouzan D. Real-time PCR assays for hepatitis C virus (HCV) RNA quantitation are adequate for clinical management of patients with chronic HCV infection. *J Clin Microbiol.* 2006;44(7):2507-2511. doi:10.1128/JCM.00163-06
12. Kowdley KV, Nelson DR, Lalezari JP, et al. On-treatment HCV RNA as a predictor of sustained virological response in HCV genotype 3-infected patients treated with daclatasvir and sofosbuvir. *Liver Int.* 2016;36(11):1611-1618. doi:10.1111/liv.13165
13. Yoshida EM, Sulkowski MS, Gane EJ, et al. Concordance of sustained virological response 4, 12, and 24 weeks post-treatment with sofosbuvir-containing regimens for hepatitis C virus. *Hepatology.* 2015;61(1):41-45. doi:10.1002/hep.27366
14. WHO Guidelines on Hepatitis B and C Testing. World Health Organization (WHO); 2017. <https://www.who.int/publications/item/9789241549981>
15. Saldanha J, Heath A, Aberham C, et al. World Health Organization collaborative study to establish a replacement WHO international standard for hepatitis C virus RNA nucleic acid amplification technology assays. *Vox Sang.* 2005;88(3):202-204. doi:10.1111/j.1423-0410.2005.00606.x

ТЕХНІЧНА ПІДТРИМКА

Для отримання консультації з технічних питань можна звернутися до служби технічної підтримки Abbott за телефоном 1-800-553-7042 (в межах США) чи +49-6122-580 (за межами США) або відвідати веб-сайт компанії Abbott за посиланням www.molecular.abott.

ЗВІТ ПРО БЕЗПЕКУ ТА ЕФЕКТИВНІСТЬ

Звіт про безпеку та ефективність (Summary of safety and performance, SSP) цього продукту доступний за посиланням <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>. На цьому ресурсі SSP можна знайти після запуску Європейської бази даних медичних виробів

(European Database on Medical Devices). Пошук виробу здійснюється за допомогою номера UDI-DI, вказаного на зовнішньому пакуванні виробу.

Тести Abbott RealTime HCV / Abbott RealTime HCV імпортується на територію Європейського Союзу компанією Abbott Diagnostics GmbH, що зареєстрована за адресою Max-Planck- Ring 2, 65205 Wiesbaden, Germany (Німеччина)

Примітка щодо формату чисел:

- Для розділення груп розрядів (тисячі) може використовуватись пробіл або кома (наприклад: 10 000 або 10,000).
- Для розділення цілої та дробової частин числа, записаного в десятковій формі, використовується крапка (наприклад: 3.12%).

Примітка щодо позначення одиниць SI:

Відповідно до вимог Наказу Міністерства економічного розвитку і торгівлі України від 04.08.2015 № 914 усі одиниці SI, що зазначені у міжнародному форматі (з використанням літер латинського чи грецького алфавіту) у цій інструкції із застосування, просимо вважати ідентичними написанню українською мовою, а саме: m (м), g (г), A (А), V (Вт), mol (моль), L(л), b (б), U (Од), IU (МО), а також множники та префікси, такі як kilo/k (к), mega/M (М), giga/G (Г), deci/d (д), senti/c (с), milli/m (м), micro/μ (мк), nano/n (н), femto/f (ф), pico/p (п).



Абботт Молекуляр Інк., 1300 Іст Тухей Авеню,
Дес Плейнс, Ілліноїс, 60018, США
Abbott Molecular Inc., 1300 East Touhy Avenue,
Des Plaines, Illinois, 60018, USA



Abbott GmbH
Max-Planck-Ring 2
65205 Wiesbaden, Germany

© 2020, 2024 Abbott. Усі права захищено.

51-608440/R3

Дата перегляду англійської інструкції із застосування: серпень 2024 р.

Дата перегляду української інструкції із застосування: вересень 2024 р.

З усіх питань звертайтеся до уповноваженого представника виробника в Україні.

Уповноважений представник в Україні:

ТОВ «Кратія ЛТД»
Україна, 04073, м. Київ, вул. Куренівська, буд. 18
Тел.: 0 800 21-52-32,
E-mail: uarep@craia.ua



UA.TR.116

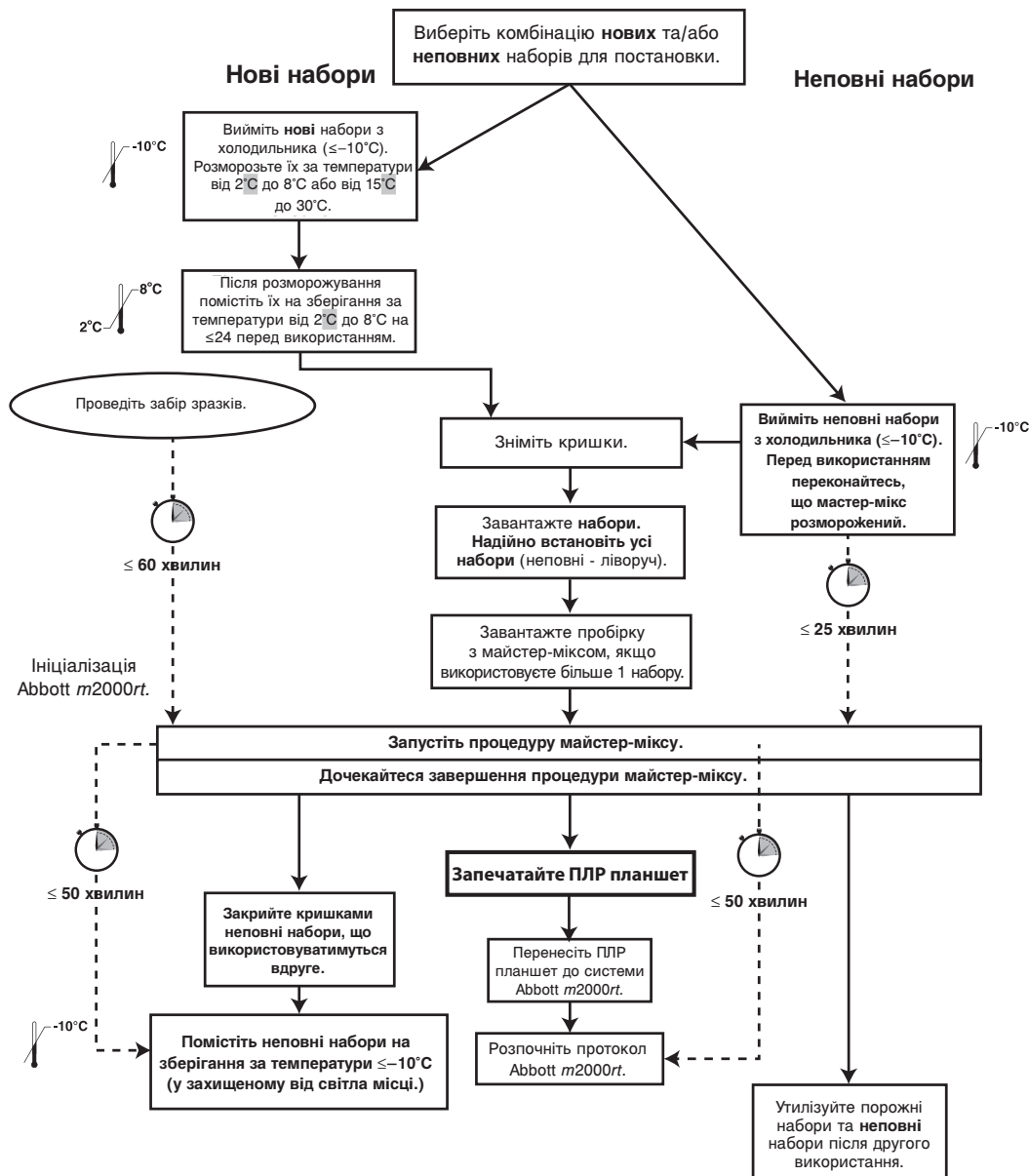


ДОДАТОК 1. ОГЛЯД ПОДОВЖЕНОГО ВИКОРИСТАННЯ РЕАГЕНТІВ ДЛЯ АМПЛІФІКАЦІЇ АББОТТ REALTIME ВГС / ABBOTT REALTIME HCV AMPLIFICATION REAGENT

Набір реагентів для ампліфікації та внутрішній контроль (ВК) можна використовувати до двох разів. Набори реагентів для ампліфікації, які ще не використовувалися для виготовлення мастер-мікс, називаються **новими** наборами реагентів для ампліфікації. Набори реагентів для ампліфікації, які вже було використано та які містять підготовлений мастер-мікс, називаються **неповними** наборами реагентів для ампліфікації. Додаткові відомості див. в цій інструкції із застосування.

Умови зберігання (для наборів реагентів для ампліфікації та флаконів внутрішнього контролю)		
Тип набору	Температура зберігання	Час зберігання
Нові набори	-10°C або нижче	До дати, вказаній на етикетці
Нові внутрішні контролю	-10°C або нижче	До дати, вказаній на етикетці
Неповні набори	-10°C або нижче (із захистом від світла)	До 14 днів після першого використання
Неповні внутрішні контролю	-10°C або нижче	До 14 днів після першого використання

- Якщо для контролю контамінації використовується UNG, докладні інструкції див. у пунктах 25 і 32 процедури тестування.



- Набори реагентів для ампліфікації, що придатні до подовженого використання, повинні мати 6-значний серійний номер над штрих-кодом.
- Неповні** набори реагентів для ампліфікації можна використовувати вдруге лише з тією ж системою, що й вперше. Їхнє використання з іншою системою призведе до помилки обробки, що може призвести до затримки виконання процедури.
- Неповні й нові** набори реагентів для ампліфікації можна використовувати в комбінації. Усі набори реагентів для ампліфікації, що використовуються в системі в межах однієї процедури, повинні мати однаковий номер партії.

Abbott RealTime HCV

Supplement for Dried Blood Spot (DBS)

(Hướng dẫn bổ sung dành cho mẫu giọt máu khô)

vi

GTIN

REF

04J86-010

IVD

51-608440/R3

LƯU Ý: Các thay đổi được tô sáng

Các ký hiệu được dùng trong tài liệu và trên nhãn sản phẩm	
	Số thương mại toàn cầu
	Mã sản phẩm
	Thiết bị y tế chẩn đoán In Vitro
	Thời gian tối đa cho phép
	Giới hạn trên của nhiệt độ
	Giới hạn nhiệt độ
	Đại diện được ủy quyền ở Cộng đồng chung Châu Âu/Liên minh châu Âu
	Nhà sản xuất hợp pháp (Chủ sở hữu)

DỊCH VỤ HỖ TRỢ KHÁCH HÀNG:

Tại Việt Nam: Liên lạc với đại diện của Abbott

Đọc kỹ hướng dẫn này trước khi sử dụng. Tuân theo các hướng dẫn trong tài liệu này. Độ tin cậy của các kết quả xét nghiệm sẽ không được đảm bảo nếu không làm đúng hướng dẫn trong tài liệu này.

Tài liệu hướng dẫn sử dụng này bổ sung cho tài liệu hướng dẫn sử dụng của xét nghiệm Abbott RealTime HCV (Mã sản phẩm: 4J86), dùng riêng cho mẫu máu khô (DBS).

LƯU Ý CHO NGƯỜI DÙNG

Nếu xảy ra một sự cố nghiêm trọng liên quan đến thiết bị, nên báo cho nhà sản xuất và cơ quan quản lý tại địa phương của người dùng và/hoặc bệnh nhân. Để báo cho nhà sản xuất, xem thông tin liên hệ được cung cấp trong phần Dịch vụ hỗ trợ khách hàng hoặc Hỗ trợ kỹ thuật của tài liệu này.

TÊN SẢN PHẨM

Abbott RealTime HCV

MỤC ĐÍCH SỬ DỤNG MẪU DBS

Xét nghiệm Abbott RealTime HCV là một xét nghiệm in vitro phản ứng chuỗi trùng hợp phiên mã ngược (RT-PCR) để định lượng RNA của virus viêm gan C (HCV RNA) trong mẫu toàn phần được nhỏ trên tấm giấy thấm thành mẫu giọt máu khô (DBS) (tức là mẫu máu lấy từ tĩnh mạch hoặc mao mạch) từ người nhiễm HCV. Xét nghiệm Abbott RealTime HCV được chỉ định dùng để hỗ trợ quản lý các bệnh nhân nhiễm HCV đang điều trị kháng virus. Xét nghiệm Abbott RealTime HCV không được dùng để sàng lọc HCV ở những người hiến máu, huyết tương, huyết thanh hoặc mô, hoặc để chẩn đoán xác nhận nhiễm HCV.

NGƯỜI SỬ DỤNG

Xét nghiệm Abbott RealTime HCV được chỉ định sử dụng bởi các chuyên gia phòng xét nghiệm.

TÓM TẮT VÀ GIẢI THÍCH XÉT NGHIỆM

Virus viêm gan C (HCV) là một trong những nguyên nhân chủ yếu gây ra các bệnh về gan. Có khoảng 1,1% dân số nhiễm viêm gan C mạn tính¹ và khoảng 700.000 người chết mỗi năm vì các bệnh gan liên quan đến virus viêm gan C.² HCV là một virus RNA sợi dương và được lây truyền chủ yếu do truyền thuốc qua tĩnh mạch và các sản phẩm từ máu. Khoảng 55 đến 85% người nhiễm HCV phát triển thành viêm gan mạn tính, và có tới 30% người nhiễm mạn tính phát triển thành xơ gan.¹ Trong số các bệnh nhân xơ gan, tỷ lệ mắc phải ung thư tế bào gan là 2 đến 4% hàng năm.¹

Định lượng mức HCV RNA trong máu ngoại biên là thông số cần thiết trong quản lý nhiều phác đồ kháng HCV khác nhau.⁶⁻¹³ Với sự ra đời của các phác đồ kháng virus trực tiếp, các phương pháp điều trị nhiễm HCV được cải thiện đáng kể. Mục tiêu của các phác đồ kháng HCV là đạt được sự đáp ứng virus bền vững (SVR), được biểu hiện là liên tục không phát hiện HCV RNA.²⁻⁵ Việc đo lường tải lượng virus HCV đã được dùng để cá nhân hoá thời gian điều trị và liệu pháp đáp ứng điều trị hoặc để xác định và tiên đoán sự đáp ứng virus bền vững hoặc không bền vững với liệu pháp kháng virus.²⁻⁵

Đa số gánh nặng HCV trên toàn cầu là từ những quốc gia có thu nhập thấp và trung bình (LMIC).¹⁴ Việc xác định những bệnh nhân nhiễm HCV hoạt động rất hạn chế tại những khu vực có trở ngại về nguồn lực này. Mẫu toàn phần thu thập dưới dạng DBS có thể được dùng thay thế huyết thanh hoặc huyết tương để xét nghiệm HCV RNA. DBS là một phương án khả thi, có thể loại bỏ nhiều hạn chế về hậu cần và kỹ thuật liên quan đến việc lấy mẫu huyết thanh và huyết tương, xử lý mẫu, bảo quản mẫu, và vận chuyển mẫu. Hướng dẫn của Tổ chức Y tế Thế giới (WHO) về xét nghiệm Viêm gan C bao gồm những khuyến cáo khi sử dụng DBS trong xét nghiệm HCV tại những khu vực có nguồn lực hạn chế.¹⁴

Xét nghiệm Abbott RealTime HCV dùng mẫu DBS sử dụng công nghệ phản ứng chuỗi trùng hợp phiên mã ngược (RT-PCR) kết hợp với phát hiện huỳnh quang đồng nhất theo thời gian thực để định lượng RNA của HCV trong DBS. Việc lựa chọn một vùng bảo tồn của bộ gen HCV giúp phát hiện kiểu gen từ 1 đến 6. Xét nghiệm được chuẩn hoá theo Chuẩn quốc tế lần thứ 2 của Tổ chức Y tế Thế giới WHO dành cho RNA của virus viêm gan C (Mã NIBSC 96/798)¹⁵ và kết quả được báo cáo theo đơn vị quốc tế/mL (IU/mL) hoặc log IU/mL.

CÁC NGUYÊN LÝ SINH HỌC CỦA QUY TRÌNH

Xét nghiệm Abbott RealTime HCV dành cho DBS yêu cầu 3 bộ thuốc thử:

- Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit (Thuốc thử khuếch đại)
- Abbott RealTime HCV Control Kit (Mẫu chứng)
- Abbott RealTime HCV Calibrator Kit (Mẫu chuẩn)

Xét nghiệm Abbott RealTime HCV cho mẫu DBS sử dụng RT-PCR để tạo ra sản phẩm khuếch đại từ bộ gen HCV RNA trong mẫu DBS người. Các bước của xét nghiệm Abbott RealTime HCV cho mẫu DBS bao gồm xử lý DBS tiến phân tích, chuẩn bị mẫu, sắp xếp RT-PCR, khuếch đại, phát hiện, và báo cáo kết quả. Xử lý DBS tiến phân tích được thực hiện bằng Abbott mSample Preparation System DBS Buffer Kit, trước khi nạp mẫu lên hệ thống Abbott m2000sp. Sau khi xử lý DBS tiến phân tích, tất cả các bước sau đó được thực hiện tự động trên các hệ thống Abbott m2000sp và Abbott m2000rt.

Tham khảo tài liệu hướng dẫn của xét nghiệm Abbott RealTime HCV (Mã sản phẩm: 4J86) để biết thêm chi tiết chuẩn bị mẫu, sắp xếp RT-PCR, khuếch đại, và phát hiện.

TÍNH NĂNG SỬ DỤNG Kéo DÀI CỦA THUỐC THỬ KHUẾCH ĐẠI

Tính năng sử dụng kéo dài tùy chọn cho phép các bộ thuốc thử khuếch đại và IC có thể được sử dụng tổng cộng 2 lần. Các bộ thuốc thử khuếch đại chứa master mix đã điều chế có thể được bảo quản đầy nắp ở -10°C hoặc lạnh hơn, và tránh ánh sáng, tối đa 14 ngày trước lần sử dụng thứ hai. Các mẫu chứng nội bộ (IC) có thể được bảo quản đầy nắp ở -10°C hoặc lạnh hơn trong tối đa 14 ngày trước lần sử dụng thứ hai. Không nên sử dụng lần hai sau ngày hết hạn của thuốc thử.

Khái quát tính năng sử dụng kéo dài được cung cấp trong Phụ lục 1 của tài liệu hướng dẫn này.

Trong tài liệu này, bộ thuốc thử khuếch đại và IC chưa sử dụng sẽ được xem là mới (tức là lần đầu sử dụng). Các bộ thuốc thử khuếch đại đã qua một lần sử dụng và chứa master mix đã điều chế được xem là bộ thuốc thử khuếch đại một phần. Các ống IC đã sử dụng một lần sẽ được xem là ống IC một phần.

NGĂN NGỪA NHIỄM ACID NUCLEIC

Tham khảo tài liệu hướng dẫn của xét nghiệm Abbott RealTime HCV (Mã sản phẩm: 4J86).

THUỐC THỬ

Tham khảo tài liệu hướng dẫn của xét nghiệm Abbott RealTime HCV (Mã sản phẩm: 4J86).

CẢNH BÁO VÀ ĐỂ PHÒNG

IVD

Dùng cho chẩn đoán In Vitro

Xét nghiệm Abbott RealTime HCV dùng mẫu DBS không được chỉ định để sàng lọc HCV trong máu, huyết tương, huyết thanh, hoặc mô người hiến tặng, hoặc dùng như xét nghiệm chẩn đoán để xác nhận nhiễm HCV.

CÁC ĐỂ PHÒNG VỀ AN TOÀN

Tham khảo tài liệu hướng dẫn của xét nghiệm Abbott RealTime HCV (Mã sản phẩm: 4J86). Xét nghiệm Abbott RealTime HCV dùng mẫu DBS chỉ được dùng trên các thiết bị Abbott m2000sp và Abbott m2000rt.

ĐỂ PHÒNG ĐẶC BIỆT

Để phòng khi xử lý mẫu xét nghiệm DBS

Xét nghiệm Abbott RealTime HCV với mẫu DBS chỉ được dùng với các mẫu máu toàn phần hoặc DBS đã được xử lý và bảo quản như đã nêu trong phần **THU THẬP, BẢO QUẢN, VÀ VẬN CHUYỂN MẪU ĐẾN NƠI XÉT NGHIỆM**.

Tham khảo tài liệu hướng dẫn của xét nghiệm Abbott RealTime HCV (Mã sản phẩm: 4J86).

Để phòng khi xử lý, dành riêng cho mẫu DBS:

- Bảo đảm các tấm giấy thấm DBS đã khô hoàn toàn trước khi bảo quản trong túi có gói chống ẩm. Kết quả xét nghiệm sẽ không chính xác nếu thao tác nhỏ giọt, làm khô, bảo quản và xử lý tấm giấy không được thực hiện đúng cách.
- Để tránh nhiễm chéo, dùng một đầu pipet mới cho mỗi mẫu DBS khi lấy giọt máu ra khỏi tấm giấy DBS có rãnh rãnh. Nếu dùng tấm giấy DBS không rãnh rãnh, hãy bảo đảm dụng cụ được dùng để cắt mẫu máu khô đã được khử khuẩn trước và sau khi tiếp xúc mẫu DBS.

Khu vực làm việc

Khuyến cáo chỉ dùng hai khu vực chuyên biệt, Khu vực chuẩn bị mẫu và Khu vực khuếch đại khi sử dụng thiết bị Abbott m2000sp và Abbott m2000rt.

Tham khảo tài liệu hướng dẫn của xét nghiệm Abbott RealTime HCV (Mã sản phẩm: 4J86).

Lây nhiễm do khí dung

Tham khảo tài liệu hướng dẫn của xét nghiệm Abbott RealTime HCV (Mã sản phẩm: 4J86).

Sự lây nhiễm và sự ức chế

Tham khảo tài liệu hướng dẫn của xét nghiệm Abbott RealTime HCV (Mã sản phẩm: 4J86).

Lây nhiễm từ sản phẩm khuếch đại chứa dU bên ngoài

Các phòng xét nghiệm có chạy hoặc từng chạy các xét nghiệm khuếch đại HCV có bao gồm quy trình xử lý các sản phẩm khuếch đại hạt PCR có thể sẽ bị lây nhiễm bởi sản phẩm khuếch đại chứa dU.

Những lây nhiễm như vậy có thể khiến kết quả xét nghiệm Abbott RealTime HCV cho mẫu DBS không chính xác. Tham khảo phần **Kiểm soát lây nhiễm phòng xét nghiệm** trong hướng dẫn sử dụng xét nghiệm Abbott RealTime HCV (Mã sản phẩm: 4J86). Khi mẫu chứng âm tính có phản ứng liên tục hoặc khi có khả năng xảy ra lây nhiễm bởi sản phẩm khuếch đại HCV chứa dU, khuyến cáo phòng xét nghiệm sử dụng quy trình kiểm soát lây nhiễm uracil-N-glycosylase (UNG) nếu quy trình khử nhiễm của phòng xét nghiệm không thành công.

HƯỚNG DẪN BẢO QUẢN

Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit (Thuốc thử khuếch đại) (Mã sản phẩm: 4J86-90)



- Khi không sử dụng, bộ thuốc thử khuếch đại Abbott RealTime HCV và các ống IC **mới** và **một phần** phải được bảo quản ở -10°C hoặc lạnh hơn. Cần thận trọng tách riêng bộ thuốc thử khuếch đại Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Pack đang dùng, không để tiếp xúc với mẫu, mẫu chuẩn và mẫu chứng.
- Sau lần sử dụng đầu tiên, các bộ thuốc thử khuếch đại và IC **một phần** phải được bảo quản ở -10°C hoặc lạnh hơn, đầy nắp, thẳng đứng, và tránh ánh sáng. Nếu được bảo quản đúng cách, các bộ thuốc thử khuếch đại **một phần** với master mix đã điều chế có thể sử dụng được một lần nữa trong vòng 14 ngày kể từ ngày dùng đầu tiên. IC cũng có thể được dùng một lần nữa trong vòng 14 ngày sau khi rửa đồng, nếu bảo quản đầy nắp ở -10°C hoặc lạnh hơn. Sau 2 lần dùng, thải bỏ các bộ thuốc thử khuếch đại và IC một phần. Không nên sử dụng lần hai sau ngày hết hạn của thuốc thử.

Abbott RealTime HCV Control Kit (Mẫu chứng) (Mã sản phẩm: 4J86-80)



- Abbott RealTime HCV Negative (Mẫu chứng Âm tính) và Positive Controls (Mẫu chứng Dương tính) phải được bảo quản ở -10°C hoặc lạnh hơn.

Abbott RealTime HCV Calibrator Kit (Mẫu chuẩn) (Mã sản phẩm: 4J86-70)



- Mẫu chuẩn Abbott RealTime HCV Calibrator A và Calibrator B phải được bảo quản ở -10°C hoặc lạnh hơn.

ĐIỀU KIỆN VẬN CHUYỂN

Tham khảo tài liệu hướng dẫn của xét nghiệm Abbott RealTime HCV (Mã sản phẩm: 4J86).

ĐẤU HIỆU THUỐC THỬ KHÔNG ỔN ĐỊNH HOẶC BỊ HỎNG

Tham khảo tài liệu hướng dẫn của xét nghiệm Abbott RealTime HCV (Mã sản phẩm: 4J86).

QUY TRÌNH THIẾT BỊ

Chương trình xét nghiệm Abbott RealTime HCV cho mẫu DBS phải được cài đặt trên hệ thống Abbott m2000sp và Abbott m2000rt từ đĩa Abbott RealTime HCV m2000 ROW System Combined Application CD-ROM (Mã sản phẩm 01L69-040 hoặc cao hơn) trước khi thực hiện xét nghiệm. Tham khảo Tài liệu vận hành Abbott m2000sp và Abbott m2000rt, phần Hướng dẫn Vận hành để biết thông tin chi tiết cách cài đặt chương trình xét nghiệm.

THU THẬP, BẢO QUẢN, VÀ VẬN CHUYỂN MẪU ĐẾN NƠI XÉT NGHIỆM

Thu thập và bảo quản mẫu xét nghiệm

- Để chuẩn bị mẫu DBS, sử dụng máu trích đầu ngón tay hoặc máu toàn phần EDTA. Máu toàn phần EDTA nên giữ trong điều kiện nhiệt độ có kiểm soát suốt quá trình bảo quản và vận chuyển (2°C đến 8°C trong tối đa 48 giờ, hoặc nhiệt độ phòng không quá 30°C trong tối đa 24 giờ).
- Máu toàn phần EDTA lấy trong ống nên được trộn kỹ bằng cách đảo ngược nhẹ nhàng trước khi nhỏ giọt. Nhỏ máu lên các vòng tròn đường kính 12 milimet (1.5 inch) trên tấm giấy thấm Ahlstrom-Munktel TFN hoặc Whatman 903, bảo đảm máu phủ hết vòng tròn. Khuyến cáo mỗi vòng tròn sử dụng ít nhất 70 µL máu (xấp xỉ 3 đến 5 giọt máu) để bảo đảm phủ hết vòng tròn.

- Để tắm giấy khô tự nhiên ở nhiệt độ phòng trong ít nhất 3 giờ. Đóng gói từng tấm giấy thấm vào túi dán miệng với gói chống ẩm (ít nhất 2 đến 3 gói chống ẩm).
- Tấm giấy thấm mẫu DBS có thể được bảo quản trong điều kiện như chi tiết trong bảng bên dưới trước khi tiến hành xét nghiệm.

Bảo quản tấm giấy thấm mẫu DBS

Điều kiện	Thời gian bảo quản tối đa
2°C đến 30°C ở độ ẩm phòng	18 tuần
≤37°C ở độ ẩm phòng	12 tuần
≤45°C ở độ ẩm phòng	8 tuần
≤38°C ở độ ẩm cao (≤ 85%)	4 tuần
-25°C đến -15°C ở độ ẩm phòng	18 tuần
-70°C hoặc lạnh hơn ở độ ẩm phòng	18 tuần

Vận chuyển mẫu

Vận chuyển mẫu xét nghiệm theo nhiệt độ và thời gian bảo quản khuyến cáo nêu trong phần **Thu thập và Bảo quản mẫu xét nghiệm** bên trên. Đối với các chuyển hàng trong nước và quốc tế, nên đóng gói và dán nhãn mẫu theo quy định của tỉnh thành, quốc gia và quốc tế về vận chuyển mẫu lâm sàng, chẩn đoán, hoặc sinh học.

QUY TRÌNH XÉT NGHIỆM ABBOTT REALTIME HCV CHO MẪU DBS

Nguyên vật liệu cần thiết nhưng không được cung cấp

- Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit (Thuốc thử khuếch đại) (Mã sản phẩm: 4J86-90)
- Abbott RealTime HCV Calibrator Kit (Mẫu chuẩn) (Mã sản phẩm: 4J86-70)
- Abbott RealTime HCV Control Kit (Mẫu chứng) (Mã sản phẩm: 4J86-80)

Đối với khu vực chuẩn bị mẫu cho thiết bị Abbott m2000sp

- Abbott mSample Preparation System DBS Buffer Kit (Mã sản phẩm: 09N02-001)
- Hệ thống Abbott m2000sp (Mã sản phẩm: 09K14-01, 09K14-02)
- Abbott mSample Preparation System (4 × 24 Prep) (Mã sản phẩm: 04J70-24)
- Pipet chính xác đã hiệu chuẩn có khả năng hút từ 20 đến 1000 µL (Có thể cần dùng Pipet chính xác đã hiệu chuẩn có khả năng hút < 20 µL nếu dùng UNG.)
- Đầu pipet có chặn khí dung dùng cho pipet 20 đến 1000 µL (Có thể cần dùng đầu pipet có chặn khí dung có khả năng hút < 20 µL nếu dùng UNG.)
- Máy lắc trộn (Vortex mixer)
- Ống Master mix (Mã sản phẩm: 04J71-80)
- Đĩa giếng sâu Abbott 96-Deep Well Plate (Mã sản phẩm: 04J71-30)
- Cốc chứa thuốc thử 5 mL (Mã sản phẩm: 04J71-20)
- Cốc chứa thuốc thử 200 mL (Mã sản phẩm: 04J71-60)
- Đĩa phản ứng Abbott 96-Well Optical Reaction Plate (Mã sản phẩm: 04J71-70)
- Màng dán đĩa phản ứng Abbott Optical Adhesive Covers (Mã sản phẩm: 04J71-75)
- Dụng cụ dán màng Abbott Adhesive Cover Applicator (Mã sản phẩm: 9K32-01)
- Đế đỡ Abbott Splash-Free Support Base (Mã sản phẩm: 9K31-01)
- Abbott RealTime HCV m2000 System ROW Combined Application CD-ROM (Mã sản phẩm: 01L69-040 hoặc cao hơn)
- m2000 System 13mm DBS-PoS Set (Mã sản phẩm: 09N03-001)
- Nắp 15 mm dùng cho các ống 1,4 mL (Mã sản phẩm: 03N20-01) (không bắt buộc)
- Uracil-N-glycosylase (UNG)^a (Mã sản phẩm: 6L87-02)

^a Nếu cần, tuân theo phần **Lây nhiễm từ sản phẩm khuếch đại chứa dU bên ngoài** của tài liệu hướng dẫn sử dụng (IFU) này.

Đối với Khu vực Khuếch đại của thiết bị Abbott m2000rt

- Thiết bị Abbott m2000rt (Mã sản phẩm: 9K15-01)
- Abbott RealTime HCV m2000 System ROW Combined Application CD-ROM (Mã sản phẩm: 01L69-040 hoặc cao hơn)
- Bộ hiệu chuẩn quang học Abbott m2000rt Optical Calibration Kit (Mã sản phẩm: 04J71-93)

Các nguyên vật liệu khác

- Các tủ an toàn sinh học đã được phê duyệt có thể sử dụng với các vật liệu lây nhiễm
- Túi dán miệng dùng cho tấm giấy thấm DBS
- Gói chống ẩm dùng cho tấm giấy thấm DBS
- Tấm giấy thấm Ahlstrom-Munktel TFN và/hoặc Whatman 903
- Túi dán miệng dùng để thải bỏ đĩa phản ứng 96 giếng
- Nước không nhiễm RNase (Eppendorf hoặc tương đương)^b
- Ống vi ly tâm mức sinh học phân tử 1,7 mL (Dot Scientific, Inc. hoặc tương đương)^b
- Que lấy mẫu đầu bông (Puritan hoặc tương đương)^b

^b Lưu ý: 3 vật liệu này được sử dụng trong quy trình Kiểm soát lây nhiễm phòng xét nghiệm. Tham khảo phần **QUY TRÌNH KIỂM SOÁT CHẤT LƯỢNG** của xét nghiệm Abbott RealTime HCV (Mã sản phẩm: 4J86).

Để phòng khi thực hiện quy trình

- Đọc kỹ hướng dẫn trong tài liệu này trước khi xử lý mẫu.
- Có thể sử dụng các thuốc thử khuếch đại và IC tối đa 2 lần, như mô tả trong tài liệu này. Abbott RealTime HCV Calibrators, Negative Control, Low Positive Control, và High Positive Control được chỉ định chỉ dùng một lần và nên được thải bỏ sau khi sử dụng.
- Sử dụng đầu pipet có chặn khí dung hoặc pipet dùng một lần chỉ 1 lần khi hút mẫu xét nghiệm hoặc IC. Để ngăn ngừa gây nhiễm ngược pipet trong khi hút, nên cẩn trọng tránh để nồng pipet chạm vào bên trong ống đựng mẫu hay vật chứa mẫu. Khuyến cáo sử dụng các đầu pipet nối dài có chặn khí dung.
- Các quy trình theo dõi sự tồn tại của sản phẩm khuếch đại có thể xem trong phần **QUY TRÌNH KIỂM SOÁT CHẤT LƯỢNG**.
- Để giảm nguy cơ nhiễm acid nucleic, cần làm sạch và khử khuẩn khi bị rơi vãi các mẫu xét nghiệm bằng các chất diệt trực khuẩn lao, như natri hypochlorite 1,0% hoặc các chất diệt khuẩn phù hợp khác.
- Abbott RealTime HCV Calibrators và Controls phải được chạy cùng với các mẫu sẽ xét nghiệm. Việc sử dụng Abbott RealTime HCV Controls (mẫu chứng) và Calibrators (mẫu chuẩn) là không thể thiếu trong việc thực hiện xét nghiệm Abbott RealTime HCV. Tham khảo phần **QUY TRÌNH KIỂM SOÁT CHẤT LƯỢNG**.
- Quy trình thêm Master Mix Abbott m2000sp phải được khởi động trong vòng 1 giờ sau khi hoàn thành chuẩn bị mẫu.
- Nếu Quy trình thêm Master Mix Abbott m2000sp bị huỷ, thải bỏ các thuốc thử khuếch đại đang được dùng lần hai. Các bộ thuốc thử mới đang được dùng lần đầu có thể được giữ lại và bảo quản để dùng lại sau như mô tả trong tài liệu này.
- Quy trình Abbott m2000rt phải được bắt đầu trong vòng 50 phút sau khi khởi động Quy trình thêm Master Mix. Nếu quy trình chạy trên Abbott m2000rt không được bắt đầu trong vòng 50 phút, hoặc bị gián đoạn hoặc huỷ bỏ, cần dán kín đĩa phản ứng Abbott 96-Well Optical Reaction Plate trong một túi nhựa có thể dán miệng và thải bỏ theo hướng dẫn trong Hướng dẫn vận hành Abbott m2000rt cùng với các gang tay đã sử dụng để xử lý đĩa.

QUAN TRỌNG: Thuốc thử khuếch đại sẽ được sử dụng lần thứ hai phải được bảo quản ở -10°C hoặc lạnh hơn trong vòng 50 phút sau khi bắt đầu quy trình thêm master mix.

QUY TRÌNH XÉT NGHIỆM: CÁC MẪU DBS DÙNG THIẾT BỊ ABBOTT m2000sp VÀ ABBOTT m2000rt

Để biết mô tả chi tiết cách thực hiện quy trình thiết bị Abbott m2000sp và Abbott m2000rt, tham khảo Hướng dẫn vận hành Abbott m2000sp và Abbott m2000rt, phần Hướng dẫn vận hành. Quy trình DBS yêu cầu Abbott m2000sp với Phiên bản 6.0 trở lên. Thực hiện theo Hướng dẫn vận hành Abbott m2000sp (Mã sản phẩm 09K20 Phiên bản 6 trở lên).

Tổng cộng 96 mẫu có thể được xử lý trong mỗi lần chạy. Mỗi lần chạy phải bao gồm một mẫu chứng âm tính Abbott RealTime HCV Negative Control, một mẫu chứng dương tính nồng độ thấp Abbott RealTime HCV Low Positive Control và một mẫu chứng dương tính nồng độ cao Abbott RealTime HCV High Positive Control, vì vậy mỗi lần chạy sẽ có tối đa 93 mẫu xét nghiệm DBS được xử lý khi không có mẫu chuẩn. Xử lý mẫu chuẩn và mẫu chứng trực tiếp như mẫu dịch lỏng; từ bước 1 đến bước 5 chỉ dành cho DBS. Không xử lý mẫu huyết tương hoặc huyết thanh trên bất cứ lần chạy nào có sử dụng quy trình DBS. Đối với từng mẫu DBS, nên sử dụng một ống Abbott master Mix cho toàn bộ quy trình xử lý mẫu. Bảo đảm mẫu DBS được dán nhãn trong suốt quá trình xử lý.

1. Cho vào ống Abbott master Mix 1,3 mL đệm *mDBS* từ bộ Abbott *mSample Preparation* system DBS Buffer Kit (Mã sản phẩm: 09N02-001).

LƯU Ý: Không dùng đệm ly giải *mLysis Buffer* hoặc bất cứ thuốc thử nào khác cho bước này.

2. Giữ tấm giấy thấm DBS rằng của bên trên ống Abbott master Mix.
3. Dùng một đầu pipet sạch đẩy vòng tròn DBS ra khỏi tấm giấy, mỗi vòng DBS đẩy vào một ống Abbott Master Mix. Mỗi DBS nên có đường kính xấp xỉ 12 milimet (1.5 inch).

LƯU Ý: DÙNG MỘT ĐẦU PIPET MỚI CHO TỪNG MẪU DBS ĐỂ NGĂN NGỪA NHIỄM CHÉO.

Hoặc, từ các tấm giấy DBS không rằng của, cắt ra 1 vòng tròn DBS (đường kính xấp xỉ một inch rưỡi) cho từng mẫu và chuyển vào một ống Abbott Master Mix.

LƯU Ý: Tránh tiếp xúc trực tiếp bề mặt cắt với mẫu DBS. Khử khuẩn dụng cụ dùng để cắt DBS giữa các mẫu nếu cần theo các Thực hành GLP.

4. Bảo đảm vòng tròn DBS ngập hẳn trong đệm *mDBS* bằng cách gõ nhẹ lên ống hoặc dùng một đầu pipet sạch đẩy DBS vào đệm.
- LƯU Ý: Nếu dùng đầu pipet để đẩy DBS vào dung dịch, cần bảo đảm đầu pipet không làm hao hụt thể tích đệm DBS do dính vào đầu pipet và/hoặc do đệm thấm vào màng lọc đầu pipet.**
5. Dùng tay lắc hoặc xoay các ống mẫu. Không dùng máy lắc trộn mẫu. Ủ trong 30 phút (± 2 phút) ở nhiệt độ phòng.
6. Đồng thời, rửa đồng các mẫu chứng và IC ở 15°C đến 30°C hoặc từ 2°C đến 8°C. Chỉ rửa đồng mẫu chuẩn ở 15°C đến 30°C hoặc từ 2°C đến 8°C nếu có thực hiện chạy hiệu chuẩn.

LƯU Ý: Sau khi rửa đồng, mẫu chứng xét nghiệm, IC mới, và mẫu chuẩn có thể được bảo quản ở 2°C đến 8°C trong tối đa 24 giờ trước khi dùng.

7. Trước khi sử dụng, lắc trộn mỗi mẫu chuẩn và mẫu chứng 3 lần từ 2 đến 3 giây. Đảm bảo các thành phần trong từng ống đã lắng hết xuống đáy bằng cách gõ nhẹ ống xuống mặt bàn để đưa chất lỏng xuống đáy ống. Bảo đảm không tạo bóng khí hoặc bọt; Nếu có, dùng đầu pipet vô trùng loại bỏ, dùng đầu pipet mới cho từng ống.
8. Rửa đồng các thuốc thử khuếch đại từ 15°C đến 30°C hoặc từ 2°C đến 8°C và bảo quản ở nhiệt độ từ 2°C đến 8°C cho đến khi cần thực hiện quy trình master mix khuếch đại.
9. Chọn các bộ thuốc thử khuếch đại **mới** và/hoặc **một phần** sẽ được dùng trong lần chạy. Tham khảo Hướng dẫn vận hành Abbott *m2000sp* (Mã sản phẩm: 09K20 phiên bản 6 hoặc cao hơn), phần Hướng dẫn Vận hành, để được hướng dẫn đối với việc quản lý thuốc thử còn tồn. Các bộ thuốc thử khuếch đại phải có cùng số lô. Rửa đồng các thuốc thử khuếch đại **mới** ở 15°C đến 30°C hoặc từ 2°C đến 8°C và bảo quản ở nhiệt độ từ 2°C đến 8°C cho đến khi cần thực hiện quy trình master mix khuếch đại.

LƯU Ý: Sau khi rửa đồng, bảo quản các thuốc thử khuếch đại mới ở 2°C đến 8°C trong vòng 24 giờ nếu không được sử dụng ngay. KHÔNG nên bảo quản các bộ thuốc thử khuếch đại một phần sẽ được sử dụng lần thứ hai ở 2°C đến 8°C trước khi sử dụng. Nên bảo quản các bộ thuốc thử này ở -10°C hoặc lạnh hơn cho đến khi cần dùng để thêm master mix. Khi lấy ra khỏi tủ đông, không nên để ở nhiệt độ phòng quá 25 phút, tính cả thời gian lấy bộ thuốc thử ra khỏi nơi bảo quản nhưng chưa sử dụng. Nếu quá 25 phút, phải thải bỏ những bộ thuốc thử khuếch đại một phần đó.

Bảng sau đây thể hiện số lượng thuốc thử chuẩn bị mẫu và ống IC cần dùng dựa trên số lượng phản ứng.

Các yêu cầu về thuốc thử chuẩn bị mẫu và IC				
Thuốc thử	1 đến 24 phản ứng	25 đến 48 phản ứng	49 đến 72 phản ứng	73 đến 96 phản ứng
<i>m</i> Microparticles	1 chai	2 chai	2 chai	2 chai
<i>m</i> Lysis	1 chai	2 chai	3 chai	4 chai
<i>m</i> Wash 1	1 chai	2 chai	3 chai	4 chai
<i>m</i> Wash 2	1 chai	2 chai	3 chai	4 chai
Đệm <i>m</i> Elution	1 chai	2 chai	3 chai	4 chai
Mẫu chứng nội bộ ^a	1 ống mới hoặc 1 ống một phần	1 ống mới hoặc 2 ống một phần	2 ống mới hoặc 3 ống một phần	2 ống mới hoặc 4 ống một phần

^a Có thể sử dụng kết hợp ống IC mới và một phần.

10. Nhẹ nhàng đảo ngược các chai Abbott *mSample Preparation* để bảo đảm dung dịch đồng nhất. Nếu quan sát thấy tinh thể ở bất cứ chai thuốc thử nào khi mở, cần để thuốc thử cân bằng ở nhiệt độ phòng đến khi tinh thể biến mất. Không sử dụng thuốc thử cho đến khi tinh thể tan hết.

11. Trước khi sử dụng, lắc trộn từng ống IC 3 lần từ 2 đến 3 giây.
12. Dùng một PIPET **DÀNH RIÊNG CHO MẪU CHỨNG NỘI BỘ** chính xác đã hiệu chuẩn để thêm 500 μ L IC vào từng chai đệm *mLysis*. Trộn bằng cách đảo ngược chai nhẹ nhàng 5 đến 10 lần để giảm thiểu tạo bọt. Có thể đóng nắp lại và bảo quản các ống IC một phần ở -10°C hoặc lạnh hơn để dùng lần thứ hai.
13. Đặt mẫu chứng dương tính nồng độ thấp và cao, mẫu chứng âm tính, mẫu chuẩn, nếu có dùng, vào giá mẫu Abbott *m2000sp*.
14. Sau khi hoàn tất ủ, dùng tay lắc hoặc xoay các ống mẫu DBS và sau đó đặt vào các giá mẫu Abbott *m2000sp*.

LƯU Ý: Bảo đảm giá mẫu Abbott *m2000sp* đã được xác định chính xác dùng cho quy trình Abbott RealTime HCV cho mẫu DBS.

15. Cần thận trọng các giá mẫu để tránh văng tung toé. Nếu được sử dụng, mã vạch trên nhãn ống phải hướng về phía máy quét. Bảo đảm mỗi ống được đặt an toàn trong giá mẫu sao cho phần đáy ống chạm đến phần đáy trong của giá.
16. Nạp các giá đựng mẫu đã làm đầy vào Abbott *m2000sp* ở các vị trí giá mẫu liên tiếp nhau, với giá đầu tiên nằm xa nhất ở phía bên phải của khu vực làm việc, và các giá tiếp theo ở bên trái của giá thứ nhất.
17. Đặt các ống phản ứng 5 mL vào giá đựng ống 1 mL của thiết bị Abbott *m2000sp*.
18. Nạp thuốc thử Abbott *mSample Preparation* System và đĩa Abbott 96 Deep-Well Plate lên khu vực xử lý của Abbott *m2000sp* như được mô tả trong Hướng dẫn vận hành Abbott *m2000sp*, phần Hướng dẫn Vận hành.
19. Từ màn hình Protocol, chọn chương trình HCV RNA DBS. Khởi động quy trình chiết tách mẫu theo mô tả trong Hướng dẫn vận hành Abbott *m2000sp*, phần Hướng dẫn Vận hành.
20. Nhập giá trị nồng độ của lô mẫu chuẩn (cần nhập nếu chưa có đường cong hiệu chuẩn lưu trên Abbott *m2000rt*) và mẫu chứng vào màn hình Sample Extraction: Worktable Setup, Calibrator and Control. Các giá trị theo lô được nêu rõ trong từng Phiếu thông tin mẫu chuẩn và mẫu chứng của Abbott RealTime HCV.
21. Quy trình thêm Master mix của Abbott *m2000sp* (bước 28) phải được khởi động trong vòng 1 giờ sau khi hoàn thành Chuẩn bị mẫu.
- LƯU Ý: Thay găng tay trước khi xử lý thuốc thử khuếch đại.**
22. Sau khi hoàn tất chuẩn bị mẫu, nạp các thuốc thử khuếch đại và ống master mix (nếu cần) lên khu vực làm việc của Abbott *m2000sp*. Bảng sau mô tả số lượng bộ thuốc thử khuếch đại dựa trên số lượng phản ứng. Nếu chỉ dùng 1 bộ thuốc thử khuếch đại, không cần dùng ống master mix.

Yêu cầu bộ thuốc thử khuếch đại ^a			
1 đến 24 phản ứng	25 đến 48 phản ứng	49 đến 72 phản ứng	73 đến 96 phản ứng
1 bộ mới; tối đa 4 bộ một phần	2 bộ mới; tối đa 4 bộ một phần	3 bộ mới; tối đa 4 bộ một phần	4 bộ mới hoặc một phần

^a Tham khảo Hướng dẫn vận hành Abbott *m2000sp* (Mã sản phẩm: 09K20 phiên bản 6 hoặc cao hơn) để biết hướng dẫn quản lý tồn kho để xác định số lượng phản ứng tối đa có thể xử lý với những bộ thuốc thử một phần được chọn.

- Các bộ thuốc thử khuếch đại một phần chỉ có thể được sử dụng trên cùng thiết bị Abbott *m2000sp* đã dùng cho lần chuẩn bị thuốc thử đầu tiên. Sử dụng bộ thuốc thử lần thứ hai trên một thiết bị khác có thể sẽ bị lỗi, khiến quá trình chạy xét nghiệm bị trì hoãn.
- Các bộ thuốc thử khuếch đại một phần và mới có thể dùng chung với nhau.

QUAN TRỌNG: Các bộ thuốc thử khuếch đại một phần nên được bảo quản ở -10°C hoặc lạnh hơn cho đến ngay trước khi bắt đầu dùng lần thứ hai. Xác nhận master mix đã rửa đồng trước khi đặt (các) bộ thuốc thử một phần vào hệ thống xử lý trên Abbott *m2000sp*. Sau khi lấy ra khỏi tủ đông -10°C hoặc lạnh hơn, phải sử dụng các bộ thuốc thử khuếch đại một phần

sẽ dùng lần thứ hai trong vòng 25 phút, nếu không phải thải bỏ. Yêu cầu này áp dụng cho tổng thời gian ở trong nhiệt độ phòng, bao gồm các trường hợp đã lấy thuốc thử ra khỏi tủ đông nhưng không dùng.

23. Trước khi mở thuốc thử khuếch đại, cần đảm bảo các thành phần của thuốc thử nằm ở đáy ống bằng cách gõ nhẹ các ống xuống bàn ở vị trí thẳng đứng 5 đến 10 lần.
 - Không gõ bộ thuốc thử khuếch đại một phần sẽ được dùng lần hai. Việc đó có thể làm thất thoát thể tích master mix vì dây vào nắp ống.
24. Tháo nắp. Nếu bộ thuốc thử khuếch đại mới sẽ được lần dùng thứ hai, cần phải đóng nắp các ống lại để bảo quản. Nếu định sử dụng lại nắp ban đầu của ống thuốc thử, thì giữ lại nắp ban đầu. Nếu định sử dụng nắp mới để đậy ống thuốc thử, thì thải bỏ nắp ban đầu.

Nếu uracil N-glycosylate (UNG) được dùng để kiểm soát lây nhiễm, làm theo các hướng dẫn sau.
25. Sử dụng PIPET DÙNG RIÊNG CHO THUỐC THỬ để thêm một lượng nhất định của UNG 1U/μL (Mã sản phẩm: 6L87-02) vào ống thuốc thử ở vị trí 3 của các bộ thuốc thử khuếch đại mới và một phần. Trộn đều thủ công bằng cách hút lên xuống nhẹ nhàng đối với tất cả các bộ thuốc thử một phần. Không trộn các bộ thuốc thử mới.
 - Dùng bảng bên dưới để xác định thể tích UNG được cho vào ống thuốc thử ở vị trí 3 của các bộ thuốc thử khuếch đại mới và một phần. Ống thuốc thử ở vị trí 3 của một bộ thuốc thử khuếch đại mới chứa enzyme Thermostable rTth polymerase. Ống thuốc thử ở vị trí 3 của bộ thuốc thử khuếch đại một phần chứa master mix.

Thể tích UNG sẽ được cho vào Ống thuốc thử ở vị trí 3 của từng bộ thuốc thử khuếch đại	
Số lượng xét nghiệm còn lại trong bộ	Thể tích UNG thêm vào (μL)
1	5
2	6
3	7
4	8
5	9
6	10
7	11
8	12
9	13
10	13
11	14
12	15
13	16
14	17
15	18
16	19
17	20
18	21
19	22
20	23
21	24
22	25
23	26
24 (bộ mới)	27

LƯU Ý: Thể tích UNG được cho vào ống thuốc thử ở vị trí 3 phụ thuộc vào số lượng xét nghiệm còn lại trong bộ thuốc thử, không phải số lượng mẫu sẽ được chạy. Tham khảo Hướng dẫn vận hành Abbott m2000sp để biết những hướng dẫn đối với việc quản lý thuốc thử khuếch đại còn tồn và cách xác định số lượng xét nghiệm còn lại trong bộ thuốc thử.

26. Các bộ thuốc thử khuếch đại một phần được nạp về bên trái của các bộ thuốc thử khuếch đại mới trên khu vực làm việc của Abbott m2000sp.
27. Bảo đảm các bộ thuốc thử khuếch đại được đặt chắc chắn trên thiết bị.

28. Chọn đĩa giếng sâu phù hợp với quy trình chiết tách chuẩn bị mẫu. Khởi động Quy trình thêm Master Mix trên thiết bị Abbott m2000sp. Tuân theo hướng dẫn mô tả trong Hướng dẫn vận hành Abbott m2000sp, phần Hướng dẫn Vận hành.

LƯU Ý: Người vận hành không được tự làm đầy bất cứ giếng trống/chưa đầy nào trong đĩa phản ứng Abbott 96-Well Optical Reaction Plate.

- Sau khi hoàn thành chiết tách mẫu, Abbott m2000sp sẽ tự động làm đầy các giếng trống trong đĩa phản ứng Abbott 96-Well Optical Reaction Plate bằng dung dịch đệm mElution khi có hơn 48 mẫu được xử lý trong một lần chạy. Việc làm đầy đĩa sẽ không được thực hiện cho những lần chạy có 48 mẫu hoặc ít hơn.
- Nếu thiết bị yêu cầu, giữ nguyên vị trí của Reagent Carrier 2, có ít nhất cốc thuốc thử cho đệm mElution (Reagent Carrier 2, vị trí 6). Nếu cốc thuốc thử này đã được lấy ra, thì đặt một cốc thuốc thử mới có nhãn đệm mElution vào Reagent Carrier 2, vị trí 6. Dung dịch hệ thống sẽ được thêm vào cốc thuốc thử và dùng để làm đầy các giếng trống. Sau khi hoàn tất quá trình này, hệ thống sẽ tiếp tục thêm master mix.

LƯU Ý: Tham khảo hướng dẫn sử dụng tính năng tự động làm đầy đĩa trong Hướng dẫn vận hành Abbott m2000sp (Mã sản phẩm: 09K20 phiên bản 6 hoặc cao hơn), phần 5, Hướng dẫn Vận hành, Chiết tách mẫu-Chế độ đóng.

- Quy trình Abbott m2000rt (bước 33) phải được bắt đầu trong vòng 50 phút sau khi bắt đầu quy trình Thêm master mix (Bước 28).

LƯU Ý: Nếu lần chạy bị huỷ bỏ vì bất cứ lý do gì sau bước 28, phải dùng một đĩa Abbott 96-Well Optical Reaction Plate mới nếu phải chạy lại quy trình thêm Master Mix của Abbott m2000sp (bước 28).

29. Bật và khởi động Abbott m2000rt trong khu vực khuếch đại.

LƯU Ý: Abbott m2000rt cần 15 phút để khởi động.

LƯU Ý: Tháo găng tay trước khi quay lại Khu vực chuẩn bị mẫu.

30. Dán kín đĩa phản ứng quang học Abbott 96-Well Optical Reaction Plate sau khi thiết bị Abbott m2000sp hoàn thành thêm mẫu và master mix theo Hướng dẫn vận hành Abbott m2000sp, phần Hướng dẫn Vận hành.
31. Đặt đĩa phản ứng quang học đã dán kín vào đế đỡ Abbott Splash-Free Support Base để chuyển sang thiết bị Abbott m2000rt.

Nếu dùng uracil N-glycosylase (UNG), làm theo các hướng dẫn sau:
32. Chuyển đĩa phản ứng quang học đã dán kín sang Abbott Splash-Free Support Base và ủ ở nhiệt độ phòng (15°C đến 30°C) trong 10 phút. Sau khi ủ ở nhiệt độ phòng, chuyển đĩa phản ứng Abbott 96-Well Optical Reaction Plate trên Abbott Splash-free Support Base sang thiết bị Abbott m2000rt.
33. Đặt đĩa phản ứng quang học Abbott 96-Well Optical Reaction Plate vào thiết bị Abbott m2000rt. Từ màn hình Protocol, chọn chương trình HCV RNA DBS. Khởi động quy trình như mô tả trong Hướng dẫn vận hành Abbott m2000rt, phần Hướng dẫn vận hành.

LƯU Ý: Khuyến cáo tạo lệnh xét nghiệm thông qua đĩa CD-ROM hoặc mạng kết nối với các tính năng xuất và nạp của phần mềm m2000sp và m2000rt. Nếu tạo lệnh Abbott m2000rt thủ công, nhập ID mẫu ứng với các vị trí trên khay PCR dựa theo ô "Wells for Selected Plate", trên màn hình chi tiết của "PCR Plate Results" trên Abbott m2000sp. Xem Phần 5 của Hướng dẫn vận hành Abbott m2000sp.

34. Nếu bộ thuốc thử khuếch đại một phần đã chuẩn bị sẽ được sử dụng lần thứ hai, đóng nắp 3 ống thuốc thử bằng nắp đã giữ lại hoặc dùng nắp mới (Mã sản phẩm: 3N20-01) và bảo quản thuốc thử ngay lập tức ở -10°C hoặc lạnh hơn, tránh ánh sáng, và ở vị trí thẳng đứng. Thải bỏ tất cả các bộ thuốc thử khuếch đại đã sử dụng hết hoặc đã sử dụng hai lần.

QUAN TRỌNG: Thuốc thử khuếch đại sẽ được sử dụng lần thứ hai phải được bảo quản ở -10°C hoặc lạnh hơn trong vòng 50 phút sau khi bắt đầu quy trình thêm master mix.

QUY TRÌNH HẬU XỬ LÝ

1. Lấy đĩa Abbott 96-Deep Well Plate ra khỏi khu vực làm việc và thải bỏ theo hướng dẫn trong Hướng dẫn vận hành Abbott m2000sp.
2. Đặt đĩa phản ứng Abbott 96-Well Optical Reaction Plate trong một túi nhựa dán kín và thải bỏ theo hướng dẫn trong Hướng dẫn vận hành Abbott m2000rt cùng với găng tay dùng để xử lý đĩa.

3. Làm sạch để đỡ Abbott Splash-Free Support Base trước khi sử dụng lại, tham khảo Hướng dẫn vận hành Abbott m2000rt.

QUY TRÌNH KIỂM SOÁT CHẤT LƯỢNG

Hiệu chuẩn Quang học thiết bị Abbott m2000rt

Tham khảo tài liệu hướng dẫn của xét nghiệm Abbott RealTime HCV (Mã sản phẩm: 4J86).

Hiệu chuẩn xét nghiệm

Tham khảo tài liệu hướng dẫn của xét nghiệm Abbott RealTime HCV (Mã sản phẩm: 4J86).

Đối với xét nghiệm mẫu DBS bằng Abbott m2000sp và Abbott m2000rt: Sau khi đã được chấp nhận và lưu, đường cong hiệu chuẩn Abbott RealTime HCV có thể được dùng trong 6 tháng. Trong thời gian này, tất cả các mẫu sau đó **có thể được** xét nghiệm mà không cần hiệu chuẩn thêm, trừ khi:

- Sử dụng lô Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit mới.
- Sử dụng lô Abbott mSample Preparation System (4 x 24 Prep) mới.
- Cài đặt một chương trình xét nghiệm Abbott RealTime HCV RNA DBS mới.

Phát hiện ức chế

Tham khảo tài liệu hướng dẫn của xét nghiệm Abbott RealTime HCV (Mã sản phẩm: 4J86).

Mẫu chứng Âm tính và Dương tính

Tham khảo tài liệu hướng dẫn của xét nghiệm Abbott RealTime HCV (Mã sản phẩm: 4J86).

Kiểm soát lây nhiễm phòng xét nghiệm

Tham khảo tài liệu hướng dẫn của xét nghiệm Abbott RealTime HCV (Mã sản phẩm: 4J86).

KẾT QUẢ CHO MẪU DBS

Các kết quả nồng độ mẫu DBS được báo cáo từ lần chạy quy trình Abbott m2000rt DBS đại diện cho nồng độ HCV trong huyết tương của mẫu máu toàn phần đã dùng để tạo ra mẫu DBS. Thiết bị Abbott m2000rt tự động báo cáo kết quả trên màn hình làm việc của Abbott m2000rt. Các kết quả xét nghiệm được báo cáo theo đơn vị IU/mL hoặc Log IU/mL.

Diễn giải kết quả

Kết quả	Diễn giải
Not detected	Không phát hiện dịch
<2.66 Log IU/mL ^a	Phát hiện được
2.66 to 8.00 Log IU/mL	
> 8.00 Log IU/mL	> ULQ ^b

^a 462 IU/mL

^b ULQ = giới hạn định lượng trên

GIỚI HẠN CỦA QUY TRÌNH

- DÙNG CHO CHẨN ĐOÁN IN VITRO**
- Để có hiệu năng tối ưu của xét nghiệm này cần thu thập, bảo quản, và vận chuyển mẫu đúng cách (tham khảo phần **THU THẬP, BẢO QUẢN, VÀ VẬN CHUYỂN MẪU ĐẾN NƠI XÉT NGHIỆM** của tài liệu này).
- Các mẫu máu toàn phần thu thập trong ống EDTA có thể được dùng để xét nghiệm với Abbott RealTime HCV dùng cho DBS. Việc sử dụng các chất chống đông khác vẫn chưa được đánh giá dùng với xét nghiệm Abbott RealTime HCV cho mẫu DBS.
- Chỉ nhân sự đã được đào tạo các quy trình xét nghiệm chẩn đoán sinh học phân tử và Hệ thống Abbott m2000 mới được phép sử dụng xét nghiệm Abbott RealTime HCV cho mẫu DBS.
- Các thiết bị và quy trình xét nghiệm giảm thiểu nguy cơ lây nhiễm do sản phẩm khuếch đại. Tuy nhiên, nhiễm acid nucleic từ các mẫu chuẩn, mẫu chứng dương tính, hoặc mẫu xét nghiệm phải được kiểm soát bằng nguyên tắc Thực hành tốt phòng xét nghiệm (GLP) và cần tuân thủ các quy trình được nêu cụ thể trong tài liệu này.
- Cũng như bất kỳ xét nghiệm chẩn đoán nào khác, kết quả có được từ xét nghiệm Abbott RealTime HR HCV cho mẫu DBS nên được diễn giải kết hợp với các phát hiện khác trên lâm sàng và trong phòng xét nghiệm. Một mẫu xét nghiệm có kết quả “Not Detected” (không phát hiện) không được xem là âm tính với HCV RNA.

- Việc lấy mẫu, làm khô, bảo quản và xử lý tấm giấy DBS nếu không được thực hiện đúng cách sẽ khiến kết quả xét nghiệm không chính xác.
- Có thể dùng tấm giấy DBS của hãng Ahlstrom-Munktel TFN và Whatman 903. Việc sử dụng các loại giấy thấm khác chưa được đánh giá dùng với xét nghiệm Abbott RealTime HCV.

ĐẶC ĐIỂM HIỆU NĂNG CỤ THỂ CHO CÁC MẪU DBS

Giới hạn phát hiện (LoD)

LoD của xét nghiệm Abbott RealTime HCV là 462 IU/mL với loại mẫu DBS. LoD đã được xác định bằng cách xét nghiệm các mẫu DBS được điều chế bằng một loạt mẫu pha loãng của Chuẩn quốc tế HCV RNA của WHO pha loãng trong máu toàn phần âm tính HCV. Xét nghiệm từng nồng độ HCV RNA được thực hiện với 4 lô thuốc thử khuếch đại trong 3 ngày. Kết quả, đại diện cho hiệu năng độ nhạy phân tích của xét nghiệm Abbott RealTime HCV cho mẫu DBS, được tóm tắt trong **Bảng 1**.

Bảng 1. Giới hạn phát hiện (LoD) của Abbott RealTime HCV cho mẫu DBS

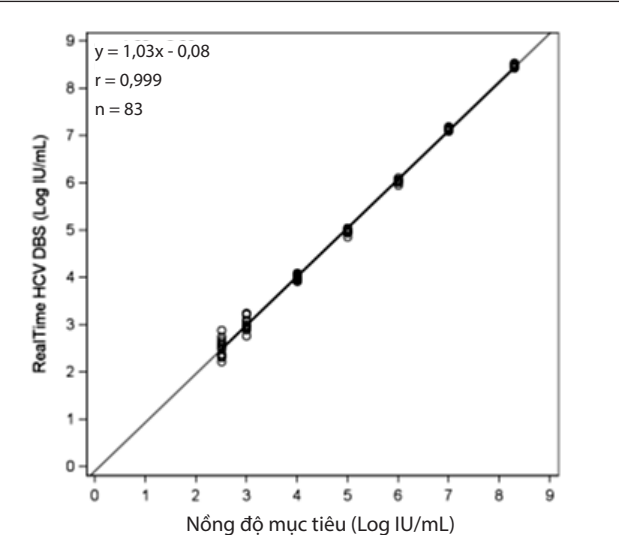
HCV RNA (IU/mL)	Số lượng mẫu được xét nghiệm	Số lượng mẫu được phát hiện	% được phát hiện
500	84	83	99
400	84	80	95
350	84	75	89
300	84	73	87
150	84	54	64
50	84	26	31

Phân tích xác suất dữ liệu (Probit analysis) xác định rằng nồng độ HCV RNA trong mẫu máu khô được phát hiện với xác suất 95% là 462 IU/mL (khoảng tin cậy 95% là từ 381 đến 593 IU/mL).

Khoảng tuyến tính

Giới hạn định lượng trên (ULQ) của xét nghiệm Abbott RealTime HCV là 100 triệu IU/mL và giới hạn định lượng dưới tương đương LoD (462 IU/mL) cho mẫu DBS. Một dàn mẫu DBS gồm 7 nồng độ được điều chế bằng HCV armored RNA pha loãng thành các nồng độ từ 200 triệu IU/mL đến 316 IU/mL trong máu toàn phần âm tính HCV. Kết quả, đại diện cho độ tuyến tính của xét nghiệm Abbott RealTime HCV cho mẫu DBS, được thể hiện trong **Hình 1**.

Hình 1. Độ tuyến tính của xét nghiệm Abbott RealTime HCV cho mẫu DBS



Xét nghiệm Abbott RealTime HCV cho mẫu DBS cho thấy có tuyến tính trong khoảng nồng độ HCV RNA được xét nghiệm (316 đến 200 triệu IU/mL, 2,5 đến 8,3 Log IU/mL).

Độ đặc hiệu

Độ đặc hiệu mục tiêu của xét nghiệm Abbott RealTime HCV cho mẫu DBS lớn hơn hoặc bằng 99,5%. Độ đặc hiệu đã được xác định bằng cách phân tích 119 mẫu âm tính huyết thanh HCV, với 2 lô thuốc thử khuếch đại. Độ đặc hiệu tổng là 100% (119/119).

Độ chụm

Độ chụm đã được đánh giá bằng cách xét nghiệm một dàn mẫu gồm 6 mẫu DBS có nồng độ HCV RNA từ 316 IU/mL đến 200 triệu IU/mL. Các mẫu có nồng độ thấp hơn 5 Log IU/mL (100.000 IU/mL) đã được chuẩn bị bằng mẫu làm sàng dương tính HCV pha loãng trong máu toàn phần âm tính HCV, trong khi các mẫu trong dàn mẫu có nồng độ lớn hơn 5 Log IU/mL (100.000 IU/mL) được điều chế bằng HCV armored RNA pha loãng trong máu toàn phần âm tính HCV. Mỗi nồng độ được xét nghiệm mỗi ngày một lần 5 mẫu lặp lại trong 5 ngày, trên 3 cặp thiết bị Abbott m2000sp/rt với 3 lô thuốc thử khuếch đại. Độ lệch chuẩn (SD) trong một lần chạy, giữa các lần chạy, và giữa các xét nghiệm (trong một lần chạy và giữa các lần chạy) đã được xác

định. Xét nghiệm Abbott RealTime HCV cho mẫu DBS đã được thiết kế để có độ lệch chuẩn (SD) giữa các xét nghiệm nhỏ hơn hoặc bằng 0,25 Log IU/mL HCV RNA cho các mẫu chứa nồng độ HCV từ 10.000 đến 100 triệu IU/mL. Kết quả, đại diện cho độ chụm của xét nghiệm Abbott RealTime HCV cho mẫu DBS, được tóm tắt trong **Bảng 2**.

Bảng 2. Độ chụm của xét nghiệm Abbott RealTime HCV cho mẫu DBS

Mẫu	N	Nồng độ trung bình (IU/mL)	Nồng độ trung bình (Log IU/mL)	SD thành phần trong một lần chạy ^{a,e}	SD thành phần giữa các lần chạy ^a	SD giữa các xét nghiệm ^{a,b}	SD thành phần giữa các lô/thiết bị ^a	Tổng ^{c,e}
1	63 ^d	420	2,62	0,26	0,07	0,27	0,00	0,27
2	75	1.435	3,16	0,23	0,00	0,23	0,09	0,25
3	75	13.211	4,12	0,06	0,04	0,07	0,05	0,09
4	75	395.427	5,60	0,04	0,03	0,05	0,02	0,05
5	75	14.008.770	7,15	0,12	0,04	0,13	0,05	0,14
6	75	316.713.566	8,50	0,04	0,03	0,05	0,05	0,07

^aĐộ lệch chuẩn (SD) theo đơn vị Log IU/mL.
^b SD giữa các xét nghiệm gồm SD thành phần trong một lần chạy và giữa các lần chạy.
^c Tổng bao gồm các thành phần Trong lần chạy, Giữa các lần chạy, và giữa các lô/thiết bị.
^d Nồng độ trung bình của mẫu 1 là dưới LLoQ. Ước tính Độ chụm được căn cứ trên nồng độ của những mẫu lặp lại đã được định lượng.
^e SD trong một lần chạy còn được gọi là Độ lặp lại. Tổng SD còn được gọi là độ tái lập.

Độ lặp lại và độ tái lập cho Mẫu 1 (gần LLoQ) lần lượt là 0,26 Log IU/mL và 0,27 Log IU/mL, và cho Mẫu 2 (gần LLoQ) lần lượt là 0,23 Log IU/mL và 0,25 Log IU/mL. Độ lặp lại và độ tái lập cho Mẫu 5 (gần ULQ) lần lượt là 0,12 Log IU/mL và 0,14 Log IU/mL, và cho Mẫu 6 (gần ULQ) lần lượt là 0,04 Log IU/mL và 0,07 Log IU/mL.

Độ tương quan

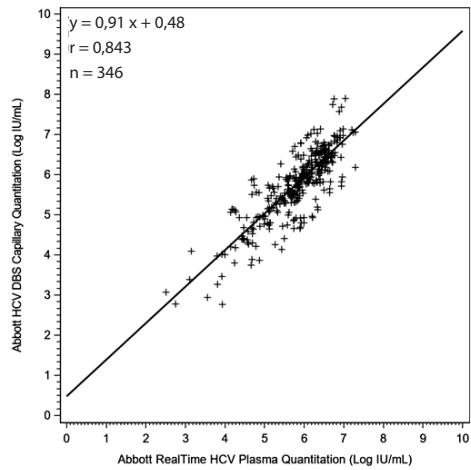
Định lượng HCV RNA đã được so sánh giữa xét nghiệm Abbott RealTime HCV dùng mẫu máu khô và xét nghiệm có chứng nhận CE, xét nghiệm Abbott RealTime HCV dùng huyết tương người. Mẫu huyết tương và mẫu DBS từ tổng 346 đối tượng (được lấy và xét nghiệm tại Georgia, Cameroon, và Hi Lạp) được bao gồm trong phân tích. Cả DBS điều chế từ máu tĩnh mạch và DBS điều chế từ máu mao mạch (trích đầu ngón tay) đã được xét nghiệm bằng xét nghiệm Abbott RealTime HCV cho mẫu DBS. Các kết quả định lượng từ các mẫu xét nghiệm rơi vào khoảng động học chung của các xét nghiệm đã được phân tích bằng phương pháp hồi quy tuyến tính bình phương tối thiểu và phương pháp Bland-Altman (DBS mao mạch so với huyết tương N=346, DBS tĩnh mạch so với huyết tương N=346, và DBS mao mạch so với DBS tĩnh mạch N=345). Đối với độ tương quan giữa DBS mao mạch và huyết tương, hệ số tương quan là 0,843, độ dốc là 0,91 (khoảng tin cậy 95% là 0,85 đến 0,97), và hệ số chặn là 0,48 Log IU/mL (khoảng tin cậy 95% là 0,12 đến 0,84) (**Hình 2**). Đối với độ tương quan giữa DBS tĩnh mạch và huyết tương, hệ số tương quan là 0,840, độ dốc là 0,94 (khoảng tin cậy 95% là 0,88 đến 1,00), và hệ số chặn là 0,31 Log IU/mL (khoảng tin cậy 95% là -0,07 đến 0,69) (**Hình 3**). Đối với độ tương quan giữa DBS mao mạch và DBS tĩnh mạch, hệ số tương quan là 0,943, độ dốc là 0,91 (khoảng tin cậy 95% là 0,87 đến 0,94), và hệ số chặn là 0,53 Log IU/mL (khoảng tin cậy 95% là 0,33 đến 0,72) (**Hình 4**). Ngoài ra, các đồ thị Bland-Altman cho những so sánh này được trình bày trong **Hình 5**, **Hình 6**, và **Hình 7**. Trung bình độ lệch giữa DBS mao mạch và huyết tương là -0,05 Log IU/mL. Trung bình độ lệch giữa DBS tĩnh mạch và huyết tương là -0,04 Log IU/mL. Trung bình độ lệch giữa DBS mao mạch và DBS tĩnh mạch là -0,02 Log IU/mL.

Độ lệch dự đoán giữa DBS mao mạch và huyết tương đã được đánh giá ở các Nồng độ mục tiêu LLoQ và ULQ. Ngoài ra, độ lệch dự đoán giữa DBS tĩnh mạch và huyết tương đã được đánh giá ở các Nồng độ mục tiêu LLoQ và ULQ. Tham khảo **Bảng 3** về tổng hợp độ lệch dự đoán.

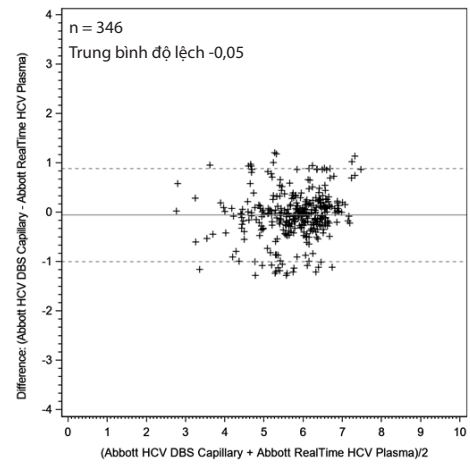
Bảng 3. Độ lệch dự đoán giữa DBS (mao mạch hoặc tĩnh mạch) và huyết tương ở LLoQ và ULQ

So sánh	Nồng độ	Nồng độ mục tiêu tải lượng virus (Log IU/mL)	Độ lệch dự đoán (Log IU/mL)
DBS mao mạch so với huyết tương	LLoQ	2,66	0,24
	ULQ	8,00	-0,26
DBS tĩnh mạch so với huyết tương	LLoQ	2,66	0,15
	ULQ	8,00	-0,17

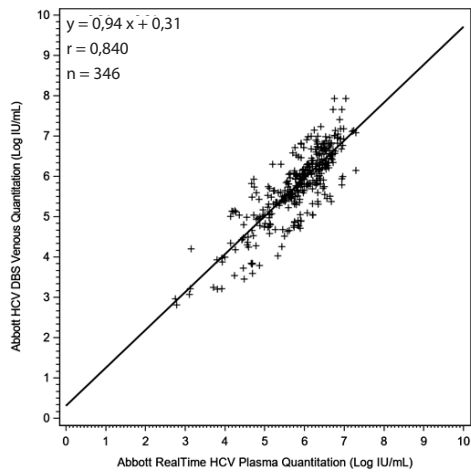
Hình 2. DBS mao mạch và Huyết tương



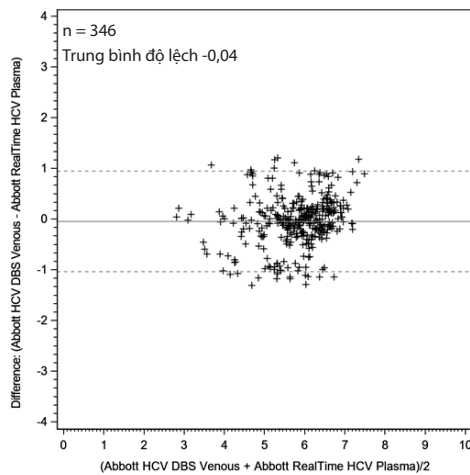
Hình 5. DBS mao mạch so với huyết tương



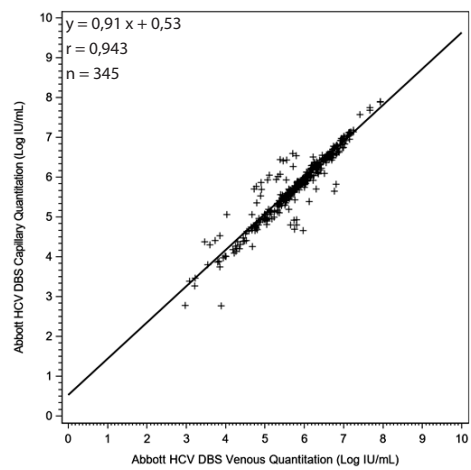
Hình 3. DBS tĩnh mạch và Huyết tương



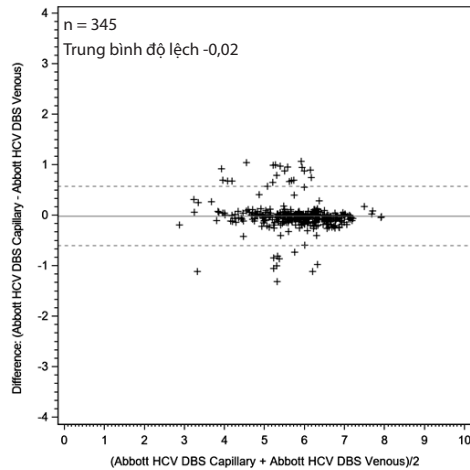
Hình 6. DBS tĩnh mạch so với huyết tương



Hình 4. DBS mao mạch và DBS tĩnh mạch



Hình 7. DBS mao mạch so với DBS tĩnh mạch



TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Gower E, Estes C, Blach S, Razavi-Shearer K, Razavi H. Global epidemiology and genotype distribution of the hepatitis C virus infection. *J Hepatol*. 2014;61(1 Suppl):S45-S57. doi:10.1016/j.jhep.2014.07.027
2. Guidelines for the screening, care and treatment of persons with chronic hepatitis C infection. World Health Organization (WHO); updated April 2016. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/205035>
3. AASLD/IDSA HCV guidance panel. *Recommendations for testing, managing, and treating hepatitis C*. AASLD/IDSA; updated October 24, 2022. <https://www.hcvguidelines.org/>
4. European Association for the Study of the Liver. EASL Recommendations on Treatment of Hepatitis C 2018. *J Hepatol*. 2018;69(2):461-511. doi:10.1016/j.jhep.2018.03.026
5. Miller MH, Agarwal K, Austin A, et al. Review article: 2014 UK consensus guidelines - hepatitis C management and direct-acting anti-viral therapy. *Aliment Pharmacol Ther*. 2014;39(12):1363-1375. doi:10.1111/apt.12764
6. Davis GL, Esteban-Mur R, Rustgi V, et al. Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin for the treatment of relapse of chronic hepatitis C. International Hepatitis Interventional Therapy Group. *N Engl J Med*. 1998;339(21):1493-1499. doi:10.1056/NEJM199811193392102
7. Manns MP, McHutchison JG, Gordon SC, et al. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial. *Lancet*. 2001;358(9286):958-965. doi:10.1016/S0140-6736(01)06102-5
8. Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR, et al. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med*. 2002;347(13):975-982. doi:10.1056/NEJMoa020047
9. Hadziyannis SJ, Sette H Jr, Morgan TR, et al. Peginterferon-alpha2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose. *Ann Intern Med*. 2004;140(5):346-355. doi:10.7326/0003-4819-140-5-200403020-00010
10. Orlent H, Deltenre P, Francque S, et al. Update of the Belgian Association for the Study of the Liver guidelines for the treatment of chronic hepatitis C genotype 1 with protease inhibitors. *Acta Gastroenterol Belg*. 2012;75(2):245-259.
11. Halfon P, Bourlière M, Pénaranda G, Khiri H, Ouzan D. Real-time PCR assays for hepatitis C virus (HCV) RNA quantitation are adequate for clinical management of patients with chronic HCV infection. *J Clin Microbiol*. 2006;44(7):2507-2511. doi:10.1128/JCM.00163-06
12. Kowdley KV, Nelson DR, Lalezari JP, et al. On-treatment HCV RNA as a predictor of sustained virological response in HCV genotype 3-infected patients treated with daclatasvir and sofosbuvir. *Liver Int*. 2016;36(11):1611-1618. doi:10.1111/liv.13165
13. Yoshida EM, Sulkowski MS, Gane EJ, et al. Concordance of sustained virological response 4, 12, and 24 weeks post-treatment with sofosbuvir-containing regimens for hepatitis C virus. *Hepatology*. 2015;61(1):41-45. doi:10.1002/hep.27366
14. WHO Guidelines on Hepatitis B and C Testing. World Health Organization (WHO); 2017. <https://www.who.int/publications/item/9789241549981>
15. Saldanha J, Heath A, Aberham C, et al. World Health Organization collaborative study to establish a replacement WHO international standard for hepatitis C virus RNA nucleic acid amplification technology assays. *Vox Sang*. 2005;88(3):202-204. doi:10.1111/j.1423-0410.2005.00606.x

HỖ TRỢ KỸ THUẬT

Để được hỗ trợ kỹ thuật, liên hệ Bộ phận dịch vụ kỹ thuật của Abbott, số điện thoại 1-800-553-7042 (tại Mỹ) hoặc +49-6122-580 (tại quốc gia khác), hoặc truy cập trang web của Abbott www.molecular.abbott.

TÓM TẮT TÍNH AN TOÀN VÀ HIỆU NĂNG XÉT NGHIỆM

Tóm tắt tính an toàn và hiệu năng (SSP) của thiết bị này có trên trang <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>. Đây là trang thông tin SSP sau khi ra mắt Cơ sở dữ liệu Cộng đồng chung Châu Âu về thông tin thiết bị y tế (European Database on Medical Devices). Tra cứu thiết bị theo số UDI-DI được cung cấp trên bao bì bên ngoài của thiết bị.

Abbott Realtime HCV được nhập khẩu vào Cộng đồng chung Châu Âu bởi Abbott Diagnostics GmbH, có trụ sở tại Max-Planck-Ring 2, 65205 Wiesbaden, Germany.



Abbott Molecular Inc.
1300 East Touhy Avenue
Des Plaines, IL 60018 USA



Abbott GmbH
Max-Planck-Ring 2
65205 Wiesbaden, Germany

©2020, 2024 Abbott. Tất cả các quyền được bảo lưu.

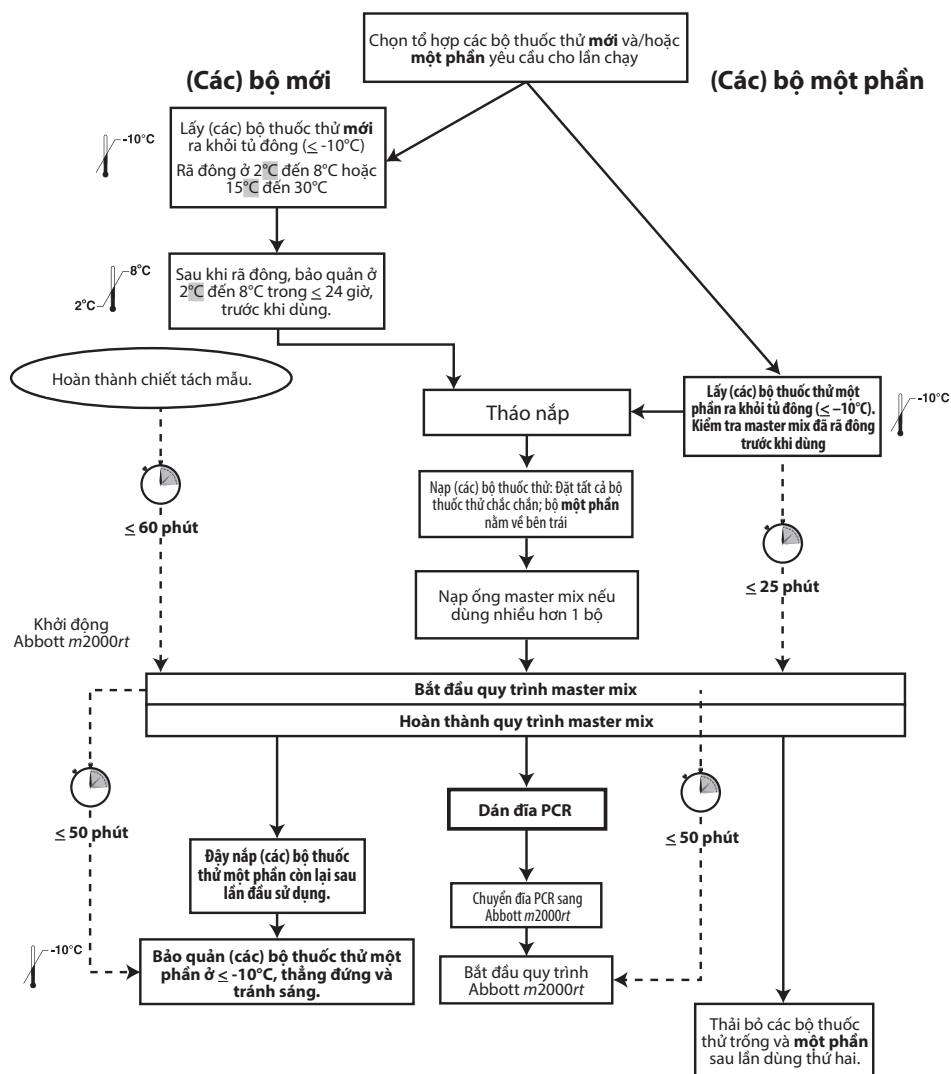
Tháng 08 năm 2024

PHỤ LỤC 1. KHÁI QUÁT TÍNH NĂNG SỬ DỤNG KÉO DÀI CỦA THUỐC THỬ KHUẾCH ĐẠI ABBOTT REALTIME HCV

Tính năng sử dụng kéo dài của thuốc thử khuếch đại cho phép sử dụng bộ thuốc thử khuếch đại và mẫu chứng nội bộ (IC) tổng cộng 2 lần. Bộ thuốc thử khuếch đại chưa được sử dụng để chuẩn bị master mix được xem là bộ thuốc thử khuếch đại **mới**. Bộ thuốc thử khuếch đại đã sử dụng một lần và chứa master mix đã điều chế sẽ được xem là bộ thuốc thử khuếch đại **một phần**. Tham khảo hướng dẫn trong tài liệu bổ sung này để biết thêm chi tiết.

Điều kiện bảo quản (Bộ thuốc thử khuếch đại và Ống IC)		
Loại	Nhiệt độ bảo quản	Thời gian bảo quản
Bộ mới	-10°C hoặc lạnh hơn	Đến hạn dùng ghi trên nhãn
IC mới	-10°C hoặc lạnh hơn	Đến hạn dùng ghi trên nhãn
Bộ một phần	-10°C hoặc lạnh hơn (tránh ánh sáng)	Tối đa 14 ngày sau lần đầu sử dụng
IC một phần	-10°C hoặc lạnh hơn	Tối đa 14 ngày sau lần đầu sử dụng

- Nếu dùng UNG cho quy trình kiểm soát lây nhiễm, tham khảo Quy trình Xét nghiệm bước 25 và 32 để được hướng dẫn chi tiết.



- Các bộ thuốc thử khuếch đại có thể dùng tính năng sử dụng kéo dài phải có số seri gồm 6 chữ số phía trên mã vạch.
- Các bộ thuốc thử khuếch đại **một phần** chỉ có thể dùng thêm một lần thứ hai trên cùng thiết bị đã dùng ở lần đầu tiên. Nếu dùng bộ thuốc thử đó trên một thiết bị khác sẽ khiến quá trình xử lý bị lỗi, dẫn đến xét nghiệm bị chậm.
- Các bộ thuốc thử khuếch đại **một phần** và **mới** có thể dùng chung với nhau. Tất cả các bộ thuốc thử khuếch đại dùng trong cùng một lần chạy trên thiết bị phải có cùng số lô.

Abbott RealTime HCV

Completare la picătura uscată de sânge (DBS)

ro

REF 04J86-010

51-608440/R3

GTIN

REF

04J86-010

IVD

51-608440/R3

NOTĂ: Modificări evidențiate

Legenda simbolurilor utilizate

GTIN

Cod global de articol comercial

REF

Număr de referință

IVD

Dispozitiv medical pentru diagnostic *in vitro*



Durată maximă permisă



Limită de temperatură superioară



Limită de temperatură

EC REP

Reprezentant autorizat în Comunitatea Europeană/Uniunea Europeană



Producător

RELAȚII CU CLIENȚII INTERNAȚIONAL: CONTACTAȚI REPREZENTANTUL ABBOTT

Citiți cu atenție instrucțiunile înainte de utilizare. Urmați întocmai instrucțiunile de pe prospect. Fiabilitatea rezultatelor testului nu poate fi garantată dacă există abateri de la instrucțiunile din prospect.

Aceste instrucțiuni de utilizare sunt o completare la prospectul testului Abbott RealTime HCV (Ref. 4J86), mai ales, pentru tipul de probă Dried Blood Spot (DBS) (picătură uscată de sânge).

NOTIFICARE PENTRU UTILIZATOR

Dacă are loc un incident grav în legătură cu acest dispozitiv, incidentul trebuie raportat producătorului și autorității competente corespunzătoare din statul membru în care este stabilit utilizatorul și/sau pacientul. Pentru raportare către producător, consultați informațiile de contact furnizate în secțiunea de relații cu clienții sau de asistență tehnică din aceste instrucțiuni.

DENUMIRE

Abbott RealTime HCV

DOMENIU DE UTILIZARE PENTRU DBS

Abbott RealTime HCV assay este un test cu reacție de polimerizare în lanț cu revers-transcriptază (RT-PCR) *in vitro* destinat determinării cantitative a ARN-ului hepatitei C virale (ARN HCV) prezent în sângele total picurat pe fișe ca picături uscate de sânge (DBS) (adică, obținut prin puncție venoasă sau din sânge capilar) prelevat de la persoane infectate cu HCV. Abbott RealTime HCV assay este destinat utilizării ca un ajutor la gestionarea pacienților infectați cu HCV care urmează o terapie antivirală. Abbott RealTime HCV assay nu este destinat screening-ului donatorilor de sânge, plasmă, ser sau țesut pentru HCV sau utilizării ca test de diagnosticare pentru a confirma prezența infecției cu HCV.

UTILIZATORI ȚINTĂ

Utilizatorii țintă ai testului Abbott RealTime HCV sunt profesioniștii din laborator.

REZUMATUL ȘI EXPLICAREA TESTULUI

Virusul hepatitei C (HCV) este una din principalele cauze ale bolilor hepatice. Se estimează că aproximativ 1,1 % din populație este infectată cronic cu hepatita C¹ și că aproximativ 700 000 de persoane mor în fiecare an din cauza bolilor hepatice asociate hepatitei C.² HCV este un virus cu ARN cu catenă pozitivă și este transmis, în principal, prin intermediul utilizării de medicamente intravenoase și al produselor sanguine. Aproximativ între 55 și 85 % din persoanele infectate cu HCV dezvoltă hepatită cronică, până la 30 % din persoanele infectate cronic dezvoltă ciroză.¹ În cazul pacienților cu ciroză, incidența carcinomelor hepatocelulare este cuprinsă între 2 și 4 %

pe an.¹

S-a constatat că măsurătoarea cantitativă a nivelului de ARN HCV prezent în sângele periferic este un parametru esențial în gestionarea diverselor terapii anti-HCV.⁶⁻¹³ Odată cu apariția regimurilor antivirale cu acțiune directă, tratamentele pentru infecțiile cu HCV au început să înregistreze progrese spectaculoase. Obiectivul terapiei anti-HCV vizează obținerea unui răspuns virologic susținut (SVR), prezentat ca o absență continuă a ARN-ului HCV detectabil.²⁻⁵ Măsurătorile sarcinii virale HCV au fost utilizate pentru a individualiza durata tratamentului și terapia ghidată de răspuns sau pentru a determina și preconiza răspunsul virologic susținut sau nesusținut la terapia antivirală.²⁻⁵

Majoritatea sarcinilor HCV globale se regăsesc în țările cu venituri scăzute și medii (LMIC-uri).¹⁴ Identificarea pacienților cu infecție activă cu HCV este foarte limitată în aceste zone cu resurse limitate. Sângele total recoltat ca picături uscate de sânge (DBS) poate fi utilizat ca alternativă la serul sau plasma pentru testarea ARN-ului HCV. DBS reprezintă o opțiune fezabilă care elimină numeroase limitări logistice și tehnice asociate recoltării, prelucrării, depozitării și expedierii serului și a plasmei. Orientările Organizației Mondiale a Sănătății (OMS) privind testarea hepatitei C includ recomandări pentru utilizarea DBS în cadrul testării virologice HCV în zone cu resurse limitate.¹⁴ Abbott RealTime HCV assay for DBS utilizează tehnologia cu reacție de polimerizare în lanț cu revers-transcriptază (RT-PCR), combinată cu detecția cu colorant fluorescent omogen în timp real pentru determinarea cantitativă a ARN-ului HCV în DBS. Selecția unei regiuni conservate din genomul HCV asigură detecția genotipurilor de la 1 la 6. Testul este standardizat conform celui de-al doilea standard internațional al OMS privind ARN-ul virusului hepatitei C (Codul NIBSC 96/798)¹⁵ și rezultatele sunt raportate în unități internaționale/mL (IU/mL) sau echivalentul de bază înregistrat la 10.

PRINCIPIILE BIOLOGICE ALE PROCEDURII

Abbott RealTime HCV assay for DBS necesită trei kituri cu reactivi:

- Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit
- Abbott RealTime HCV Control Kit
- Abbott RealTime HCV Calibrator Kit

Abbott RealTime HCV assay for DBS utilizează RT-PCR pentru a genera un produs amplificat pe baza genomului ARN-ului HCV din probele DBS umane. Etapele Abbott RealTime HCV assay for DBS constau în tratamentul DBS înainte de efectuarea analizei, pregătirea probei, asamblarea RT-PCR, amplificarea, detecția și raportarea rezultatului. Tratamentul DBS înainte de efectuarea analizei se realizează utilizând Abbott mSample Preparation System DBS Buffer Kit înainte de a încărca specimenul în sistemul Abbott m2000sp. După tratamentul DBS înainte de efectuarea analizei, toate etapele ulterioare sunt executate automat de către sistemul Abbott m2000sp și Abbott m2000rt.

Consultați prospectul Abbott RealTime HCV assay (Ref. 4J86) pentru mai multe detalii privind pregătirea probei, asamblarea RT-PCR, amplificarea și detecția.

UTILIZAREA PRELUNGITĂ A REACTIVULUI DE AMPLIFICARE

Caracteristica opțională de utilizare prelungită a reactivului de amplificare permite utilizarea pachetelor cu reactivi de amplificare și CI de cel mult două ori. Pachetele cu reactivi de amplificare care conțin un master mix pregătit pot fi depozitate la -10 °C sau la o temperatură mai scăzută, cu capacul atașat și ferite de lumină, timp de cel mult 14 zile înainte de cea de-a doua utilizare. Controlul intern (CI) poate fi depozitat cu capacul atașat la -10 °C sau o temperatură mai scăzută, timp de cel mult 14 zile înainte de cea de-a doua utilizare. Cea de-a doua utilizare nu trebuie să depășească data expirării reactivului.

În anexa 1 la aceste instrucțiuni de utilizare se furnizează o prezentare generală a acestei caracteristici.

În toate instrucțiunile de utilizare, pachetele cu reactivi de amplificare și CI care nu au fost încă utilizate vor fi denumite pachete noi cu reactivi de amplificare și CI (adică, utilizarea inițială). Pachetele cu reactivi de amplificare care au fost utilizate o dată și conțin un master mix pregătit vor fi denumite pachete parțiale cu reactivi de amplificare. Recipientele cu CI care au fost utilizate o dată vor fi denumite recipiente parțiale cu CI.

PREVENIREA CONTAMINĂRII CU ACID NUCLEIC

Consultați prospectul testului Abbott RealTime HCV (Ref. 4J86).

REACTIVI

Consultați prospectul testului Abbott RealTime HCV (Ref. 4J86).

AVERTIZĂRI ȘI MĂSURI DE PRECAUȚIE

IVD

Pentru diagnosticul **in vitro**

Abbott RealTime HCV assay for DBS nu este destinat screening-ului donatorilor de sânge, plasmă, ser sau țesut pentru HCV sau utilizării ca test de diagnosticare pentru a confirma prezența infecției cu HCV.

MĂSURI DE SIGURANȚĂ

Consultați prospectul testului Abbott RealTime HCV (Ref. 4J86).

Abbott RealTime HCV assay for DBS utilizează numai instrumentele Abbott m2000sp și Abbott m2000rt.

MĂSURI DE PRECAUȚIE SPECIALE

Măsuri de precauție pentru manipularea probelor DBS

Abbott RealTime HCV assay for DBS este destinat utilizării numai cu probe de sânge total sau DBS care au fost manipulate și depozitate așa cum s-a descris în secțiunea **PRELEVAREA, DEPOZITAREA ȘI TRANSPORTUL PROBELOR LA UNITATEA DE TESTARE**.

Consultați prospectul testului Abbott RealTime HCV (Ref. 4J86).

Măsuri de precauție privind manipularea, specifice DBS:

- Asigurați-vă ca fișele DBS să fie complet uscate înainte de a le depozita în pungă cu agenți deshidranți. Picurarea, uscarea, depozitarea și manipularea incorectă a DBS pot conduce la rezultate ale testului neconforme cu realitatea.
- Pentru a evita contaminarea în timpul transportului, utilizați un vârf nou de pipetă pentru fiecare probă DBS atunci când împingeți picătura de pe fișa DBS perforată. Dacă se utilizează o fișă DBS neperforată, asigurați-vă că instrumentul utilizat pentru a tăia picătura este decontaminat înainte și după contactul cu proba DBS.

Suprafețele de lucru

Atunci când se utilizează Abbott m2000sp și Abbott m2000rt se recomandă numai două suprafețe dedicate: suprafața pentru pregătirea probei și suprafața pentru amplificarea.

Consultați prospectul testului Abbott RealTime HCV (Ref. 4J86).

Contaminarea prin aerosoli

Consultați prospectul testului Abbott RealTime HCV (Ref. 4J86).

Contaminarea și inhibarea

Consultați prospectul testului Abbott RealTime HCV (Ref. 4J86).

Contaminarea cauzată de produsul amplificat extern care conține dU

Laboratoarele care utilizează sau au utilizat testele de amplificarea HCV care includ prelucrarea ulterioară PCR a produsului amplificat pot fi contaminate din cauza produsului amplificat care conține dU. O astfel de contaminare poate cauza rezultate neconforme cu realitatea în cadrul Abbott RealTime HCV assay for DBS. Consultați secțiunea **Monitorizarea laboratorului privind prezența contaminării** de pe prospectul testului Abbott RealTime HCV (Ref. 4J86). Atunci când serurile de control negative sunt reactive în mod constant sau este posibil să se fi produs contaminarea cu produsul amplificat cu HCV care conține dU, se recomandă laboratorului să utilizeze procedura de control privind contaminarea cu Uracil-N-Glicozilază (UNG) dacă decontaminarea laboratorului nu a avut succes.

INSTRUCȚIUNI PRIVIND DEPOZITAREA

Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit (Ref. 4J86-90)



- Pachetele **noi** și **parțiale** Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Packs și recipientele Internal Control (IC) trebuie depozitate la -10 °C sau o temperatură mai scăzută atunci când nu sunt utilizate. Aveți grijă să evitați contactul direct al Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Pack cu probele, calibratorii și serurile de control.
- Depozitați pachetele **parțiale** cu reactivi de amplificarea CI la -10 °C sau o temperatură mai scăzută, cu capacul atașat, în poziție verticală și ferite de lumină, după utilizarea inițială. Dacă sunt depozitate astfel, pachetele **parțiale** cu reactivi de amplificarea cu master mix pregătit pot fi utilizate a doua oară în decurs de 14 zile de la utilizarea inițială. De asemenea, CI poate fi utilizat a doua oară în decurs de 14 zile de la decongelare, dacă este depozitat cu capacul atașat, la -10 °C sau o temperatură mai scăzută. Aruncați pachetele parțiale cu reactivi de amplificarea și CI după două utilizări. Cea de-a doua utilizare nu trebuie să depășească data expirării reactivului.

Abbott RealTime HCV Control Kit (Ref. 4J86-80)



- Depozitați serurile de control pozitive și negative Abbott RealTime HCV la -10 °C sau o temperatură mai scăzută.

Abbott RealTime HCV Calibrator Kit (Ref. 4J86-70)



- Depozitați Abbott RealTime HCV Calibrator A și Calibrator B la -10 °C sau o temperatură mai scăzută.

CONDIȚII DE TRANSPORT

Consultați prospectul testului Abbott RealTime HCV (Ref. 4J86).

INDICAȚII PRIVIND INSTABILITATEA SAU DETERIORAREA REACTIVILOR

Consultați prospectul testului Abbott RealTime HCV (Ref. 4J86).

PROCEDURA DE INSTALARE

Instalați fișierul aplicației Abbott RealTime HCV for DBS pe sistemul Abbott m2000sp și Abbott m2000rt de pe CD-ROM-ul aplicației combinate privind sistemul Abbott RealTime HCV m2000 ROW (Nr. de listă 01L69-040 sau mai recentă) înainte de a efectua testarea. Pentru informații detaliate despre instalarea fișierului aplicației, consultați secțiunea Instrucțiuni de operare din manualul de operare a Abbott m2000sp și Abbott m2000rt.

PRELEVAREA, DEPOZITAREA ȘI TRANSPORTUL PROBELOR LA UNITATEA DE TESTARE

Prelevarea și depozitarea probelor

- Pentru a pregăti DBS, utilizați sângele total EDTA sau obținut prin înțeparea degetului. Păstrați sângele total EDTA în condiții de temperatură controlată în timpul depozitării și expedierii (între 2 °C și 8 °C timp de cel mult 48 de ore sau la temperatura ambiantă, fără a depăși 30 °C timp de cel mult 24 de ore).
- Sângele total EDTA recoltat într-un tub trebuie amestecat temeinic efectuând mișcări ușoare de inversare înainte de a picura. Picurați sângele formând cercuri de un țol și jumătate (12 milimetri) pe fișa de hârtie Ahlstrom-Munktel TFN sau Whatman 903, asigurându-vă că întregul cerc este acoperit. Se recomandă să utilizați cel puțin 70 µL de sânge (aproximativ trei până la cinci picături de sânge) pentru fiecare cerc pentru a asigura acoperirea completă.
- Uscați fișa la aer, la temperatură ambiantă timp de cel puțin trei ore. Ambalați fiecare fișă într-o pungă etanșabilă cu pliculețe cu agenți deshidranți (cel puțin între două și trei pliculețe cu agenți deshidranți).
- Fișele cu probe DBS pot fi depozitate în condițiile specificate în tabelul de mai jos înainte de a prelucra testul.

Depozitarea fișelor cu probe DBS

Condiție	Durată maximă de depozitare
Între 2 °C și 30 °C la umiditate ambiantă	18 săptămâni
≤ 37 °C la umiditate ambiantă	12 săptămâni
≤ 45 °C la umiditate ambiantă	8 săptămâni
≤ 38 °C la umiditate ridicată (≤ 85 %)	4 săptămâni
Între -25 °C și -15 °C la umiditate ambiantă	18 săptămâni
-70 °C sau o temperatură mai scăzută la umiditate ambiantă	18 săptămâni

Transportul probelor

Expediați probele conform temperaturii și duratei de timp recomandate pentru

depozitare menționată în secțiunea **Prelevarea și depozitarea probelor** de mai sus. În ceea ce privește expedierile pe plan național și internațional, probele trebuie ambalate și etichetate în conformitate cu reglementările de stat, federale și internaționale aplicabile care acoperă transportul probelor clinice, de diagnosticare sau biologice.

PROCEDURA ABBOTT REALTIME HCV FOR DBS

Materiale necesare, dar care nu sunt furnizate

- Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit (Ref. 4J86-90)
- Abbott RealTime HCV Calibrator Kit (Ref. 4J86-70)
- Abbott RealTime HCV Control Kit (Ref. 4J86-80)

Pentru suprafața de pregătire a probelor cu instrumentul

Abbott m2000sp

- Abbott mSample Preparation System DBS Buffer Kit (Ref. 09N02-001)
- Abbott m2000sp instrument (Ref. 09K14-01, 09K14-02)
- Abbott mSample Preparation System (4 × 24 instrumente de pregătire) (Ref. 04J70-24)
- Pipete de precizie calibrate capabile să livreze între 20 și 1 000 µL (este posibil să fie nevoie de pipete de precizie calibrate capabile să livreze <20 µL dacă utilizați UNG.)
- Vârfuri de pipete cu barieră pentru aerosoli pentru pipete cu o capacitate între 20 și 1 000 µL (este posibil să fie nevoie de vârfuri de pipete cu barieră pentru aerosoli capabile să livreze <20 µL dacă utilizați UNG.)
- Vortex Mixer
- Master Mix Tube (Ref. 04J71-80)
- Abbott 96-Deep-Well Plate (Ref. 04J71-30)
- 5 mL Reaction Vessels (Ref. 04J71-20)
- 200 mL reagent vessels (Ref. 04J71-60)
- Abbott 96-Well Optical Reaction Plate (Ref. 04J71-70)
- Abbott Optical Adhesive Covers (Ref. 04J71-75)
- Abbott Adhesive Cover Applicators (Ref. 9K32-01)
- Abbott Splash-Free Support Base (Ref. 9K31-01)
- Abbott RealTime HCV m2000 ROW System Combined Application CD-ROM (Ref. 01L69-040 sau mai recentă)
- m2000 System 13mm DBS-PoST Set (Ref. 09N03-001)
- 1.4 mL Micro Vial 15mm Caps (Ref. 03N20-01) opțional
- Uracil N-Glycosylase (UNG)^a (Ref. 6L87-02)

^aDacă este nevoie, conform secțiunii **Contaminarea cauzată de produsul amplificat extern cu dU** din aceste instrucțiuni de utilizare.

Pentru suprafața de amplificare cu instrumentul Abbott m2000rt

- Abbott m2000rt instrument (Ref. 9K15-01)
- Abbott RealTime HCV m2000 ROW System Combined Application CD-ROM (CD-ROM-ul aplicației combinate pentru sistemul ROW) (Ref. 01L69-040 sau mai recentă)
- Abbott m2000rt Optical Calibration Kit (kit cu calibratori optici) (Ref. 04J71-93)

Alte materiale

- Dulap de siguranță biologică aprobat pentru lucrul cu materiale infecțioase
- Pungă etanșabilă pentru fișa DBS
- Pliculeț cu agent deshidratant pentru fișa DBS
- Fișă de hârtie Ahlstrom-Munktel TN și/sau Whatman 903
- Pungă de plastic etanșabilă pentru eliminarea plăcii de reacție cu 96 de godeuri
- Apă fără ARNeaze (Eppendorf sau un echivalent)^b
- Tuburi pentru micro-centrifugă de uz biologic molecular de 1,7 mL (Dot Scientific, Inc. sau un echivalent)^b
- Aplicatoare cu vârf de bumbac (Puritan sau un echivalent)^b

^bNotă: Aceste trei articole sunt utilizate pentru procedura de monitorizare a laboratorului privind prezența contaminării. Consultați secțiunea **PROCEDURI CONTROL DE CALITATE** din prospectul testului Abbott RealTime HCV (Ref. 4J86).

Măsurile de precauție procedurale

- Citiți aceste instrucțiuni de utilizare înainte de a prelucra probele.
- Reactivii de amplificare și controlul intern pot fi utilizate cel mult de două ori, așa cum s-a descris în aceste instrucțiuni de utilizare. Recipientele cu Abbott RealTime HCV Calibrators, Negative Control, Low Positive Control și High Positive Control sunt de unică folosință și trebuie aruncate după utilizare.
- Utilizați vârfuri de pipete cu barieră de aerosoli sau pipete de unică folosință, câte una pe rând, atunci când pipetați probele sau CI. Pentru a preveni contaminarea capului cilindric al pipetei în timpul pipetării, aveți grijă să evitați atingerea capului cilindric al pipetei la interiorul tubului sau

recipientului cu probă. Se recomandă utilizarea de vârfuri de pipete cu barieră de aerosoli extinsă.

- Procedurile de monitorizare a prezenței produselor de amplificare se regăsesc în secțiunea **PROCEDURI CONTROL DE CALITATE**.
- Pentru a reduce riscul de contaminare cu acid nucleic, curățați și dezinfectați scurgerile de probe cu ajutorul unui dezinfectant tuberculocid, cum ar fi 1,0 % hipoclorit de sodiu sau alți dezinfectanți adecvați.
- Abbott RealTime HCV Calibrators și Controls trebuie pregătite împreună cu probele de testat. Utilizarea Abbott RealTime HCV Controls și Calibrators este parte integrantă din performanța testului Abbott RealTime HCV. Consultați secțiunea **PROCEDURI CONTROL DE CALITATE**.
- Protocolul Abbott m2000sp Master Mix Addition trebuie inițializat în decurs de o oră de la finalizarea pregătirii probei.
- Dacă renunțați la protocolul Abbott m2000sp master mix addition, atunci aruncați reactivii de amplificare care au fost utilizați pentru a doua oară. Pachetele noi cu reactivi care se utilizează pentru prima dată pot fi păstrate și depozitate pentru o utilizare ulterioară, așa cum s-a descris în prezentul manual.
- Inițializați protocolul Abbott m2000rt în decurs de 50 de minute de la inițializarea protocolului Master Mix Addition. Dacă nu ați inițializat testarea cu instrumentul Abbott m2000rt în decurs de 50 de minute sau aceasta este întreruptă sau anulată, etanșați placa de reacție cu 96 de godeuri Abbott într-o pungă de plastic etanșabilă și eliminați-o conform manualului de operare a Abbott m2000rt împreună cu mânușile utilizate la manipularea plăcii.

IMPORTANT: Reactivii de amplificare care vor fi utilizați pentru a doua oară trebuie depozitați la -10 °C sau o temperatură mai scăzută în decurs de 50 de minute de la inițializarea protocolului Master Mix Addition.

PROTOCOL DE TESTARE: PROBE DBS CU

INSTRUMENTELE ABBOTT m2000sp ȘI ABBOTT m2000rt

Pentru o descriere detaliată a modului în care se efectuează un protocol cu instrumentul Abbott m2000sp și Abbott m2000rt, consultați secțiunea Instrucțiuni de operare din manualul de operare a Abbott m2000sp și Abbott m2000rt. Protocolul DBS necesită Abbott m2000sp Software Version 6.0 sau mai recentă. Respectați manualul de operare a Abbott m2000sp (Ref. 09K20 versiunea 6 sau mai recentă).

În cadrul fiecărei testări se poate procesa un număr total de 96 de probe.

Fiecare testare include un Abbott RealTime HCV Negative Control, Low Positive Control, și High Positive Control, prin urmare, se permite prelucrarea unui număr maxim de 93 de probe DBS per testare atunci când calibratorii nu sunt incluși. Prelucrați calibratorii și serurile de control direct ca probe lichide; pașii de la 1 la 5 sunt numai pentru DBS. Nu prelucrați probele de plasmă sau ser în cadrul testărilor în care se utilizează protocolul DBS. Pentru fiecare probă DBS, utilizați un singur Abbott Master Mix Tube pentru întreaga procedură de prelucrare a probelor. Asigurați-vă că probele DBS sunt etichetate pe durata întregii prelucrări.

1. Umpleți Abbott Master Mix Tube cu 1,3 mL de soluție tampon mDBS din Abbott mSample Preparation system DBS Buffer Kit (Ref. 09N02-001).

NOTĂ: Nu utilizați mLysis Buffer sau alți reactivi pentru acest pas

2. Țineți fișa de hârtie DBS perforată deasupra Abbott Master Mix Tube.

3. Împingeți cercul DBS din fișă cu ajutorul unui vârf de pipetă curat, un cerc DBS per Abbott Master Mix Tube. Fiecare DBS trebuie să aibă un diametru de aproximativ un țol și jumătate (12 milimetri).

NOTĂ: UTILIZAȚI UN VÂRF DE PIPETĂ NOU PENTRU FIECARE PROBĂ DBS PENTRU A PREVENI CONTAMINAREA ÎNCRUCIȘATĂ.

În mod alternativ, din hârtia DBS neperforată, tăiați un DBS întreg (un diametru de aproximativ un țol și jumătate) pentru fiecare specimen și transferați pe un Abbott Master Mix Tube (tub cu amestec principal).

NOTĂ: Evitați contactul direct al probelor DBS cu suprafața de tăiere. Decontaminați instrumentul utilizat pentru a tăia DBS între probe, dacă este cazul, conform bunelor practici de laborator.

4. Asigurați-vă că cercul DBS este complet scufundat în mDBS Buffer (soluție tampon DBS) apăsând tubul sau utilizând vârful de pipetă pentru a împinge DBS în soluția tampon.

NOTĂ: Dacă utilizați un vârf de pipetă pentru a împinge DBS în soluția tampon, asigurați-vă că vârful pipetei nu face ca soluția tampon DBS să își piardă din volum din cauza reținerii lichidului în vârf și/sau absorbției soluției tampon de către filtrul vârfului.

5. Agitați sau rotiți manual tuburile cu probă. Nu supuneți probele unei mișcări de turbionare. Incubați timp de 30 de minute (±2 minute) la temperatura ambiantă.

6. Între timp, decongealați serurile de control și controlul intern (CI) pentru test la o temperatură cuprinsă între 15 °C și 30 °C sau între 2 °C și 8 °C. Decongealați calibratorii la o temperatură cuprinsă între 15 °C și 30 °C sau între 2 °C și 8 °C numai dacă efectuați o testare a calibrării.

NOTĂ: Odată decongelate, serurile de control pentru test, CI și calibratorii pot fi depozitate la o temperatură cuprinsă între 2 °C și 8 °C timp de până la 24 de ore înainte de utilizare.

7. Supuneți fiecare calibrator și ser de control de test unei mișcări de turbionare de trei ori timp de 2–3 secunde înainte de fiecare utilizare. Asigurați-vă astfel încât conținutul fiecărui recipient să fie în partea inferioară atingând recipientele de bancul de lucru pentru a aduce lichidul la baza recipientului. Asigurați-vă că nu se formează bule sau spumă; dacă este cazul, scoateți cu un vârf de pipetă steril, utilizând un vârf nou pentru fiecare recipient.
8. Decongealați reactivii de amplificare la o temperatură cuprinsă între 15 °C și 30 °C sau între 2 °C și 8 °C și depozitați la o temperatură cuprinsă între 2 °C și 8 °C până când aveți nevoie de aceștia pentru procedura master mix de amplificare.
9. Selectați pachetele **noi** și/sau **parțiale** cu reactivi de amplificare de utilizat în cadrul testării. Consultați secțiunea Instrucțiuni de operare din manualul de operare a Abbott *m2000sp* (Ref. 09K20 versiunea 6 sau mai recentă), pentru instrucțiuni privind gestionarea inventarului pachetelor cu reactivi de amplificare. Pachetele cu reactivi de amplificare trebuie să aibă același număr de lot.
- Decongealați reactivii de amplificare **noi** la o temperatură cuprinsă între 15 °C și 30 °C sau între 2 °C și 8 °C și depozitați-i la o temperatură cuprinsă între 2 °C și 8 °C până când aveți nevoie de aceștia pentru procedura master mix de amplificare.

NOTĂ: Odată decongealați, reactivii de amplificare noi pot fi depozitați la o temperatură cuprinsă între 2 °C și 8 °C timp de cel mult 24 de ore, dacă nu îi utilizați imediat. NU depozitați pachetele parțiale cu reactivi de amplificare care se utilizează pentru a doua oară la o temperatură cuprinsă între 2 °C și 8 °C înainte de utilizare. Acestea trebuie păstrate la -10 °C sau o temperatură mai scăzută până când devin necesare pentru master mix addition. Odată scoase din congelator, expunerea cumulativă la temperatura camerei nu trebuie să depășească 25 de minute, inclusiv momentele în care pachetele sunt scoase de la depozitare, însă nu sunt utilizate. Dacă se depășesc cele 25 de minute, aruncați pachetele parțiale cu reactivi de amplificare.

Următorul tabel specifică numărul de recipiente cu reactivi și control intern pentru pregătirea probei necesare în funcție de numărul de reacții.

Cerințe privind reactivii și controlul intern pentru pregătirea probei				
Reactiv	Între 1 și 24 de reacții	Între 25 și 48 de reacții	Între 49 și 72 de reacții	Între 73 și 96 de reacții
<i>m</i> Microparticles (microparticule)	1 sticlă	2 sticle	2 sticle	2 sticle
<i>m</i> Lysis (liză)	1 sticlă	2 sticle	3 sticle	4 sticle
<i>m</i> Wash 1 (clătire 1)	1 sticlă	2 sticle	3 sticle	4 sticle
<i>m</i> Wash 2 (clătire 2)	1 sticlă	2 sticle	3 sticle	4 sticle
<i>m</i> Elution Buffer (soluție tampon de eluție)	1 sticlă	2 sticle	3 sticle	4 sticle
Control intern ^a	1 recipient nou sau 1 recipient parțial	1 recipient nou sau 2 recipiente parțiale	2 recipiente noi sau 3 recipiente parțiale	2 recipiente noi sau 4 recipiente parțiale

^a Se poate utiliza o combinație de recipiente noi și parțiale cu controale interne.

10. Inversați ușor sticlele Abbott *m*Sample Preparation pentru a asigura o soluție omogenă. Dacă se observă cristale în oricare din sticlele cu reactivi la deschidere, lăsați reactivul să se stabilizeze la temperatura camerei până când cristalele dispar. Nu utilizați reactivii până când cristalele nu sunt dizolvate.
11. Supuneți fiecare CI unei mișcări de turbionare de trei ori timp de 2–3 secunde înainte de fiecare utilizare.
12. Utilizați o pipetă de precizie calibrată **DEDICATĂ NUMAI UTILIZĂRII CU CONTROLUL INTERN** pentru a adăuga 500 µL de CI în fiecare sticlă *m*Lysis Buffer. Amestecați inversând ușor recipientul de 5 până la 10 ori pentru a minimiza producerea spumei. Recipientele parțiale cu CI pot fi acoperite din nou cu capac și depozitate la -10 °C sau o temperatură mai scăzută pentru o a doua utilizare.
13. Așezați serurile de control slab și intens pozitive, serurile de control

negative și calibratorii, dacă este cazul, în rafturile pentru probe Abbott *m2000sp*.

14. După finalizarea incubăției, agitați sau răsușiți manual tuburile cu probe DBS, apoi introduceți-le în rafturile pentru probe Abbott *m2000sp*.
- NOTĂ: Asigurați-vă că rafturile pentru probe Abbott *m2000sp* au fost calibrate mai ales pentru procedura Abbott RealTime HCV for DBS.**
15. Încărcați rafturile pentru probe cu atenție pentru a evita stropirea. Dacă utilizați codurile de bare de pe etichetele tuburilor, acestea trebuie să fie orientate corect pentru scanare. Asigurați-vă că fiecare tub este introdus fix în raftul pentru probe, astfel încât partea inferioară a tubului să ajungă în partea inferioară din interiorul raftului.
16. Încărcați rafturile pentru probe pline în Abbott *m2000sp* în poziții consecutive ale rafturilor pentru probe, primul raft fiind în extrema dreapta a mesei de lucru, iar orice raft suplimentar venind în partea stângă a primului raft.
17. Introduceți 5 mL Reaction Vessels (vase de reacție de 5 mL) în suportul pentru sub-sistemul de 1 mL Abbott *m2000sp*.
18. Încărcați reactivii pentru Abbott *m*Sample Preparation System și Abbott 96 Deep-Well Plate pe masa de lucru Abbott *m2000sp* așa cum s-a descris în secțiunea Instrucțiuni de operare din manualul de operare a Abbott *m2000sp*.
19. De pe ecranul Protocol, selectați fișierul aplicației DBS cu ARN HCV. Inițializați protocolul de extracție a probei așa cum s-a descris în secțiunea Instrucțiuni de operare din manualul de operare a Abbott *m2000sp*.
20. Introduceți valorile specifice calibratorului (necesar, dacă nu ați stocat o curbă de calibrare pe Abbott *m2000rt*) și lotului de control în câmpurile Sample Extraction (Extracție probă): Worktable Setup (Configurare masă de lucru), Calibrator și Control (Ser de control). Valorile specifice loturilor sunt specificate în fiecare Abbott RealTime HCV Calibrator și Control Kit Card.
21. Inițializați protocolul Abbott *m2000sp* Master Mix Addition (pasul 28) în decurs de o oră de la finalizarea pregătirii probei.

NOTĂ: Schimbați mănușile înainte de a manipula reactivii de amplificare.

22. Încărcați reactivii de amplificare și Master Mix Tube (tub cu amestec principal) (dacă este cazul) pe masa de lucru Abbott *m2000sp* după finalizarea pregătirii probei. Următorul tabel indică numărul de pachete cu reactivi de amplificare necesare în funcție de numărul de reacții. Dacă se utilizează numai un pachet cu reactivi de amplificare, nu este nevoie de Master Mix Tube (tub cu amestec principal).

Cerințe privind Amplification Reagent Pack ^a			
Între 1 și 24 de reacții	Între 25 și 48 de reacții	Între 49 și 72 de reacții	Între 73 și 96 de reacții
1 dacă este nou; până la 4 cu pachete parțiale	2 dacă sunt noi; până la 4 cu pachete parțiale	3 dacă sunt noi; până la 4 cu pachete parțiale	4 pachete noi sau parțiale

^a Consultați manualul de operare a Abbott *m2000sp* (Ref. 09K20 versiunea 6 sau mai recentă) pentru instrucțiuni privind gestionarea inventarului pentru a determina numărul maxim de reacții care pot fi testate cu pachetele parțiale selectate.

- Pachetele parțiale cu reactivi de amplificare pot fi utilizate numai pe același instrument Abbott *m2000sp* utilizat pentru pregătirea inițială a pachetului cu reactivi. Utilizarea unui pachet cu reactivi de amplificare pentru a doua oară pe un alt instrument va conduce la o eroare care poate întârzia testarea.
- Pachetele parțiale și noi cu reactivi de amplificare pot fi utilizate împreună.

IMPORTANT: Pachetele parțiale cu reactivi de amplificare trebuie depozitate la -10 °C sau la temperaturi mai scăzute până în momentul celei de-a doua utilizări. Confirmați dacă master mix s-a decongelat înainte de a așeza pachetele parțiale pe masa de lucru Abbott *m2000sp*. Odată scoase de la depozitare la -10 °C sau o temperatură mai scăzută, pachetele parțiale cu reactivi de amplificare care sunt utilizate pentru a doua oară trebuie utilizate în decurs de 25 de minute sau aruncate. Acest lucru se aplică expunerii cumulative la temperatura camerei, inclusiv momentele în care pachetele sunt scoase de la depozitare, fără a fi utilizate.

23. Asigurați-vă astfel încât conținutul pachetelor noi cu reactivi de amplificare să se afle în partea inferioară a recipientelor, înainte de a deschide reactivii de amplificare atingând recipientele aflate în poziție verticală de bancul de lucru de 5 până la 10 ori.
- Nu atingeți pachetele parțiale cu reactivi de amplificare care se utilizează pentru a doua oară. Atingerea poate conduce la pierderea volumului master mix prin capac.
24. Scoateți capacele. Dacă se depozitează un pachet nou cu reactivi de amplificare pentru o a doua utilizare, atașați din nou capacele la

recipiente pentru depozitare. Dacă intenționați să refolosiți capacele originale pentru a atașa din nou capacele la recipientele cu reactivi, păstrați capacele originale. Dacă intenționați să utilizați capace noi pentru a atașa din nou capacele la recipientele cu reactivi, puteți arunca capacele originale.

Dacă se utilizează Uracil N-Glicozilază (UNG) pentru controlul contaminării, urmați instrucțiunile de mai jos.

25. Utilizați o PIPETĂ DEDICATĂ NUMAI UTILIZĂRII DE REACTIVI pentru a adăuga un volum specificat de 1 U/μL UNG (Ref. 6L87-02) în recipientul cu reactivi din poziția 3 a pachetelor noi și parțiale cu reactivi de amplificare. Amestecați manual pipetând ușor în sus și în jos pentru toate pachetele parțiale. Nu amestecați pachetele noi.
 - Utilizați tabelul de mai jos pentru a determina volumul de UNG de adăugat la recipientul cu reactiv aflat în poziția 3 din pachetele noi și parțiale cu reactivi de amplificare. Recipientul cu reactiv aflat în poziția 3 dintr-un pachet nou cu reactiv conține enzimă de polimerază rTth termostabilă. Recipientul cu reactiv aflat în poziția 3 dintr-un pachet parțial cu reactiv conține master mix.

Volumul UNG de adăugat în recipientul cu reactiv aflat în poziția 3 din fiecare pachet cu reactivi de amplificare	
Testele rămase în pachet	Adăugați acest volum de UNG (μL)
1	5
2	6
3	7
4	8
5	9
6	10
7	11
8	12
9	13
10	13
11	14
12	15
13	16
14	17
15	18
16	19
17	20
18	21
19	22
20	23
21	24
22	25
23	26
24 (pachet nou)	27

NOTĂ: Volum UNG adăugat în recipientul cu reactiv aflat în poziția 3 depinde de numărul de teste rămase în pachet cu reactivi și nu de numărul de probe care se rulează. Consultați manualul de operare a Abbott m2000sp pentru instrucțiuni privind gestionarea inventarului pachetelor cu reactivi de amplificare și modul în care puteți determina numărul de teste rămase într-un pachet cu reactiv.

26. Pachetele parțiale de amplificare sunt încărcate în partea stângă a pachetelor noi cu reactivi de amplificare pe masa de lucru Abbott m2000sp.
27. Asigurați-vă că pachetele cu reactivi de amplificare sunt așezate ferm pe instrument.
28. Selectați placa corectă cu godeuri adânci care se potrivește cu extracția corespunzătoare de pregătire a probei. Inițializați protocolul Abbott m2000sp Master Mix Addition. Urmăriți instrucțiunile așa cum s-a descris în secțiunea Instrucțiuni de Operare din manualul de operare a Abbott m2000sp.

NOTĂ: Operatorul nu trebuie să umple manual godeurile goale/neumplute din Abbott 96-Well Optical Reaction Plate.

- După finalizarea extracției probei, Abbott m2000sp umple automat orice godeu gol din Abbott 96-Well Optical Reaction Plate mElution (eluție) atunci când se prelucrează mai mult de 48 de probe în cadrul unei testări. Placa nu se umple pentru testări care conțin 48 de probe sau mai puține.

- Dacă instrumentul trimite mesaje, suportul pentru reactivi 2 trebuie să rămână în loc, conținând cel puțin vasul cu reactivi pentru soluția tampon mElution (eluție) (Suport pentru reactivi 2, locația 6). Dacă ați descărcat acest vas cu reactivi, introduceți un vas nou cu reactivi cu eticheta soluției tampon mElution (eluție) în suportul pentru reactivi 2, poziția 6. Lichidul din sistem va fi adăugat în vasul cu reactivi și utilizat pentru a umple godeurile goale. De îndată ce acest proces este finalizat, sistemul va continua cu Master Mix Addition.

NOTĂ: Instrucțiunile de utilizare din sistem pentru caracteristica de umplere automată a plăcii se regăsesc în secțiunea 5, Instrucțiuni de operare din manualul de operare a Abbott m2000sp(Ref. 09K20 versiunea 6 sau mai recentă), modul de închidere la extracția probei.

- Inițializați protocolul Abbott m2000rt (pasul 33) în decurs de 50 de minute de la inițializarea protocolului Master Mix Addition (pasul 28).

NOTĂ: Dacă renunțați la testare din orice motiv după pasul 28, trebuie să utilizați o nouă placă de reacție optică cu 96 de godeuri Abbott dacă protocolul Abbott m2000sp Master Mix Addition (pasul 28) trebuie repetat.

29. Porniți și inițializați instrumentul Abbott m2000rt de pe suprafața de amplificare.

NOTĂ: Instrumentul Abbott m2000rt necesită 15 minute pentru a se încălzi.

NOTĂ: Scoateți mănușile înainte de a reveni în zona de pregătire a probei.

30. Etanșați placa de reacție optică cu 96 de godeuri Abbott după ce instrumentul Abbott m2000sp a terminat de adăugat probele și master mix conform secțiunii Instrucțiuni de operare din manualul de operare a Abbott m2000sp.
31. Așezați placa de reacție optică etanșată în Abbott Splash-Free Support Base (bază suport cu protecție împotriva stropirii) pentru transferul către instrumentul Abbott m2000rt.

Dacă se utilizează Uracil-N-Glicozilază (UNG), urmați instrucțiunile de mai jos:
32. Transferați placa optică etanșată în Abbott Splash-Free Support Base (bază suport cu protecție împotriva stropirii) și incubati la temperatura camerei (între 15 °C și 30 °C) timp de 10 minute. După incubarea la temperatura camerei, transferați placa de reacție optică cu 96 de godeuri Abbott pe Abbott Splash-Free Support Base (bază suport cu protecție împotriva stropirii) din instrumentul m2000rt.
33. Așezați Abbott 96-Well Optical Reaction Plate în instrumentul Abbott m2000rt. De pe ecranul Protocol, selectați fișierul aplicației DBS cu ARN HCV. Inițializați protocolul așa cum s-a descris în secțiunea Instrucțiuni de operare din manualul de operare a Abbott m2000rt.

NOTĂ: Se recomandă transferul comenzii de testare prin intermediul utilizării CD-ROM-ului sau al conexiunii la rețea, cu caracteristici de import și export al software-ului m2000sp și m2000rt. Dacă se creează manual o comandă de testare Abbott m2000rt introduceți ID-urile probelor în locațiile tăvilor PCR corespunzătoare, conform grilei „Wells for Selected Plate” (Godeuri pentru placa selectată), care se regăsește pe ecranul detaliat „PCR Plate Results” (Rezultatele plăcii PCR) de pe Abbott m2000sp. Consultați secțiunea 5 din manualul de operare Abbott m2000sp.

34. Dacă se va utiliza un pachet parțial cu reactivi de amplificare pregătiți pentru a doua oară, atașați capacele păstrate sau noi ale celor trei recipiente cu reactivi (Ref. 3N20-01) și depozitați rapid reactivii la -10 °C sau o temperatură mai scăzută, într-un loc ferit de lumină și în poziție verticală. Aruncați orice pachet cu reactivi de amplificare care s-a terminat sau a fost utilizat de două ori.

IMPORTANT: Reactivii de amplificare care vor fi utilizați pentru a doua oară trebuie depozitați la -10 °C sau o temperatură mai scăzută în decurs de 50 de minute de la inițializarea protocolului master mix addition.

PROCEDURI ULTERIOARE PRELUCRĂRII

1. Scoateți Abbott 96 Deep-Well Plate de pe masa de lucru și eliminați în conformitate cu manualul de operare a Abbott m2000sp.
2. Introduceți Abbott 96-Well Optical Reaction Plate într-o pungă de plastic etanșabilă și eliminați în conformitate cu manualul de operare Abbott m2000rt împreună cu mănușile utilizate la manipularea plăcii.
3. Curățați Abbott Splash-Free Support Base înainte de următoarea utilizare, conform manualului de operare a Abbott m2000rt.

PROCEDURI CONTROL DE CALITATE

Calibrarea optică Abbott m2000rt

Consultați prospectul testului Abbott RealTime HCV (Ref. 4J86).

Calibrarea testului

Consultați prospectul testului Abbott RealTime HCV (Ref. 4J86).

Pentru testarea DBS cu ajutorul Abbott m2000sp și Abbott m2000rt: De îndată ce calibrarea Abbott RealTime HCV este acceptată și stocată, aceasta poate fi utilizată timp de șase luni. În această perioadă de timp, toate probele ulterioare pot fi testate fără alte calibrări, cu excepția cazului în care:

- Se utilizează un Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit cu un număr de lot nou.
- Se utilizează un Abbott mSample Preparation System (instrumente de pregătire 4 x 24) cu un număr de lot nou.
- S-a instalat un fișier nou al aplicației Abbott RealTime HCV RNA DBS.

Detecția inhibării

Consultați prospectul testului Abbott RealTime HCV (Ref. 4J86).

Seruri de control pozitive și negative

Consultați prospectul testului Abbott RealTime HCV (Ref. 4J86).

Monitorizarea laboratorului privind prezența contaminării

Consultați prospectul testului Abbott RealTime HCV (Ref. 4J86).

REZULTATELE PROBELOR DBS

Rezultatul raportat privind concentrația probei DBS din testarea protocolului Abbott m2000rt DBS reprezintă concentrația virală HCV din plasma specimenului de sânge total din care s-a obținut specimenul DBS. Instrumentul Abbott m2000rt raportează automat rezultatele pe stația de lucru Abbott m2000rt. Rezultatele testelor pot fi raportate în unități internaționale IU/mL, sau Log IU/mL.

Interpretarea rezultatelor

Rezultat	Interpretare
Nu este detectat	Ținta nu este detectată
< 2,66 Log IU/mL ^a	Detectată
Între 2,66 și 8,00 Log IU/mL	
> 8,00 Log IU/mL	> ULQ ^b

^a 462 IU/mL

^b ULQ = limita superioară a determinării cantitative

LIMITĂRILE PROCEDURII

- PENTRU DIAGNOSTICUL IN VITRO**
- Performanța optimă a acestui test impune recoltarea, depozitarea și transportul corespunzător al probelor la unitatea de testare (consultați secțiunea **PRELEVAREA, DEPOZITAREA ȘI TRANSPORTUL PROBELOR LA UNITATEA DE TESTARE** din acest prospect).
- Probele de sânge total recoltate în tuburi EDTA pot fi utilizate pentru a genera DBS care sunt testate cu Abbott RealTime HCV assay for DBS. Utilizarea de alte anticoagulante nu au fost validate cu Abbott RealTime HCV assay for DBS.
- Utilizarea Abbott RealTime HCV assay for DBS este limitată la personalul care a fost instruit privind procedurile de pregătire și prelucrare prealabilă a DBS, testul de diagnosticare moleculară și sistemul Abbott m2000.
- Procedurile asociate instrumentelor și testului reduc riscul de contaminare cu produsul de amplificare. Cu toate acestea, contaminarea cu acid nucleic din calibratori, serurile de control pozitive sau probe trebuie să fie controlată prin intermediul bunelor practici de laborator și cu atenția respectare a procedurilor specificate în acest prospect.
- Așa cum se întâmplă în cazul testelor de diagnosticare, rezultatele generate de Abbott RealTime HCV assay for DBS trebuie interpretate în raport cu alte constatări clinice sau de laborator. Un specimen cu un rezultat „Not Detected” (Nedetectat) nu poate fi presupus a fi negativ privind ARN-ul HCV.
- Recoltarea, uscarea, depozitarea și manipularea incorectă a fișelor DBS pot conduce la rezultate ale testelor neconforme cu realitatea.
- Se pot utiliza fișe DBS Ahlstrom-Munktel TFN și Whatman 903. Utilizarea altor fișe nu a fost validată cu Abbott RealTime HCV assay.

CARACTERISTICILE SPECIFICE DE PERFORMANȚĂ PENTRU PROBELE DBS

Limita de detecție (LoD)

LoD a Abbott RealTime HCV assay este de 462 IU/mL cu tipul de probă DBS. LoD a fost determinat testând probele DBS pregătite cu o serie de diluție din standardul internațional al OMS pentru ARN-ul virusului hepatitei C diluat în sângele total negativ pentru HCV. Testarea fiecărei concentrații ARN HCV a fost efectuată cu patru loturi de reactivi de amplificare în decurs de trei zile. Rezultatele reprezentative ale performanței sensibilității analitice ale Abbott RealTime HCV assay for DBS sunt rezumate în **tabelul 1**.

Tabelul 1. Limita de detecție (LoD) a Abbott RealTime HCV for DBS

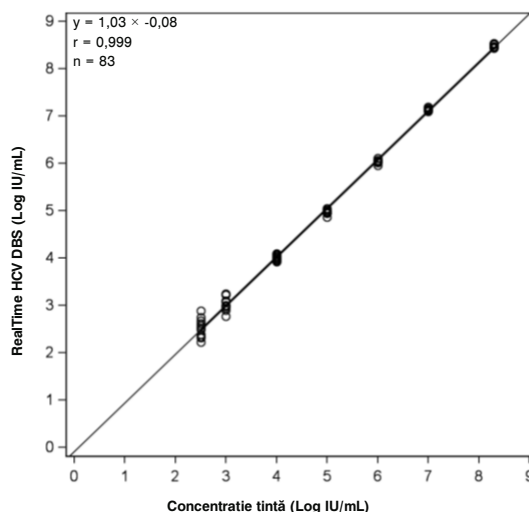
ARN HCV (IU/mL)	Număr testat	Număr detectat	Procent detectat
500	84	83	99
400	84	80	95
350	84	75	89
300	84	73	87
150	84	54	64
50	84	26	31

Analiza privind unitatea de probabilitate a datelor a determinat o concentrație a ARN-ului HCV detectată din picătura uscată de sânge cu o probabilitate de 95 % de 462 IU/mL (95% CI între 381 și 593 IU/mL).

Interval liniar

Limita superioară a determinării cantitative (ULQ) pentru Abbott RealTime HCV assay este de 100 milioane IU/mL, iar limita inferioară a determinării cantitative este echivalentă cu LoD (462 IU/mL) pentru revendicarea DBS. S-a pregătit un panel DBS cu șapte membri cu HCV Armored RNA diluat în concentrații cuprinse între 200 de milioane IU/mL și 316 IU/mL în sângele total negativ pentru HCV. Rezultatele reprezentative ale liniarității Abbott RealTime HCV assay for DBS sunt prezentate în **figura 1**.

Figura 1. Liniaritatea Abbott RealTime HCV Assay for DBS



Abbott RealTime HCV assay for DBS s-a dovedit a fi liniar în întregul interval de concentrații de ARN HCV testate (între 316 și 200 de milioane IU/mL, între 2,5 și 8,3 Log IU/mL).

Specificitate

Specificitatea țintă a Abbott RealTime HCV assay for DBS este mai mare de sau egală cu 99,5 %. Specificitatea a fost determinată prin analizarea a 119 probe sero-negative HCV, în cadrul a două loturi de reactivi de amplificare. Specificitatea generală a fost de 100 % (119/119).

Precizie

Precizia a fost evaluată prin testarea a unui panel DBS din șase membri țintă pentru a acoperi intervalul de concentrație a ARN-ului HCV cuprins între 316 IU/mL și 200 de milioane IU/mL. Membrii panelului cu concentrații mai mici de 5 Log IU/mL (100.000 IU/mL) au fost pregătiți cu probe clinice pozitive HCV diluate în sânge total negativ pentru HCV, în timp ce membrii panelului cu concentrații mai mari de 5 Log IU/mL (100.000 IU/mL) au fost pregătiți cu HCV Armored RNA diluat în sânge total negativ pentru HCV. Fiecare membru al panelului a fost testat în cinci retestări, o dată pe zi, timp de cinci zile, în cadrul a trei perechi Abbott m2000sp/rt a câte trei loturi de reactivi de amplificare. Abaterile standard (SD) au fost determinate în cadrul aceleiași măsurători, între măsurători și între teste (în cadrul aceleiași măsurători și între măsurători). Abbott RealTime HCV assay for DBS a fost proiectat pentru a obține o abatere standard (SD) de la un test la altul mai mică de sau egală cu 0,25 Log IU/mL de ARN HCV pentru probele care conțin concentrații de HCV cuprinse între 10.000 și 100 de milioane IU/mL. Rezultatele reprezentative ale preciziei Abbott RealTime HCV assay for DBS sunt rezumate în **tabelul 2**.

Tabelul 2. Precizia Abbott RealTime HCV Assay for DBS

Membri panel	N	Concentrație medie (IU/mL)	Concentrație medie (Log IU/mL)	Componentă SD în cadrul aceleiași măsurători ^{a,e}	Componentă SD între măsurători ^a	SD între teste ^{a,b}	Componentă SD între loturi/instrumente ^a	Total ^{c,e}
1	63 ^d	420	2,62	0,26	0,07	0,27	0,00	0,27
2	75	1.435	3,16	0,23	0,00	0,23	0,09	0,25
3	75	13.211	4,12	0,06	0,04	0,07	0,05	0,09
4	75	395.427	5,60	0,04	0,03	0,05	0,02	0,05
5	75	14.008.770	7,15	0,12	0,04	0,13	0,05	0,14
6	75	316.713.566	8,50	0,04	0,03	0,05	0,05	0,07

^a Deviația standard (SD) este exprimată în Log IU/mL.

^b Între teste conține componente în cadrul aceleiași măsurători și între măsurători.

^c Total include componente în cadrul aceleiași măsurători, între măsurători și între loturi/instrumente.

^d Concentrația medie a membrului panelului 1 este sub LOD. Estimările preciziei se bazează pe retestările care sunt determinate cantitativ.

^e SD în cadrul aceleiași măsurători, denumită și repetabilitate. SD total, denumită și reproductibilitate.

Repetabilitatea și reproductibilitatea pentru membrul panelului 1 (aproape LLoQ) au fost de 0,26 Log IU/mL și respectiv, 0,27 Log IU/mL, iar pentru membrul panelului 2 (aproape LLoQ) au fost de 0,23 Log IU/mL și respectiv, 0,25 Log IU/mL. Repetabilitatea și reproductibilitatea pentru membrul panelului 5 (aproape ULQ) au fost de 0,12 Log IU/mL și respectiv, 0,14 Log IU/mL, iar pentru membrul panelului 6 (aproape ULQ) au fost de 0,04 Log IU/mL și respectiv, 0,07 Log IU/mL.

Corelație

Determinarea cantitativă a ARN-ului HCV a fost comparată cu Abbott RealTime HCV assay care utilizează picături uscate de sânge și testul comparativ marcat cu CE, testul Abbott RealTime HCV care utilizează plasmă umană. Plasma și probele DBS provenite de la un număr total de 346 de subiecți (recoltate și testate în Georgia, Camerun și Grecia) au fost incluse în analiză. Atât DBS pregătit cu sânge venos, cât și DBS pregătit cu sânge capilar (puncție din deget) au fost testate cu Abbott RealTime HCV assay for DBS. Rezultatele cantitative ale probelor care s-au încadrat în intervalele dinamice ale testelor au fost analizate prin metoda de regresie liniară cu cele mai puține pătrate și metoda Bland-Altman pentru bias (DBS capilar versus plasmă N = 346, DBS venos versus plasmă N = 346 și DBS capilar versus DBS venos N = 345). În ceea ce privește corelarea DBS capilar cu plasma, coeficientul de corelație a fost de 0,843, panta a fost de 0,91 (95% CI cuprins între 0,85 și 0,97), iar segmentul a fost de 0,48 Log IU/mL (95% CI cuprins între 0,12 și 0,84) (**Figura 2**). În ceea ce privește corelarea DBS venos cu plasma, coeficientul de corelație a fost de 0,840, panta a fost de 0,94 (95% CI cuprins între 0,88 și 1,00), iar segmentul a fost de 0,31 Log IU/mL (95% CI cuprins între -0,07 și 0,69) (**Figura 3**). În ceea ce privește corelarea DBS capilar cu DBS venos, coeficientul de corelație a fost de 0,943, panta a fost de 0,91 (95% CI cuprins între 0,87 și 0,94), iar segmentul a fost de 0,53 Log IU/mL (95% CI cuprins între 0,33 și 0,72) (**Figura 4**). În plus, diagramele Bland-Altman pentru aceleași comparații sunt prezentate în **Figura 5**, **Figura 6** și **Figura 7**. Diferența de bias mediu dintre DBS capilar și plasmă a fost de -0,05 Log IU/mL. Diferența de bias mediu dintre DBS venos și plasmă a fost de -0,04 Log IU/mL. Diferența de bias mediu dintre DBS capilar și DBS venos a fost de -0,02 Log IU/mL.

Bias-ul estimat între DBS capilar și plasmă a fost evaluat la niveluri țintă LLoQ și ULQ. În plus, bias-ul estimat între DBS venos și plasmă a fost evaluat la niveluri țintă LLoQ și ULQ. Consultați **tabelul 3** privind rezumatul bias-ului estimat.

Tabelul 3. Bias estimat între DBS (capilar sau venos) și plasmă la LLoQ și ULQ

Comparație	Nivel	Nivel țintă sarcină virală (Log IU/mL)	Bias estimat (Log IU/mL)
DBS capilar versus plasmă	LLoQ	2,66	0,24
	ULQ	8,00	-0,26
DBS venos versus plasmă	LLoQ	2,66	0,15
	ULQ	8,00	-0,17

Figura 2. DBS capilar și plasmă

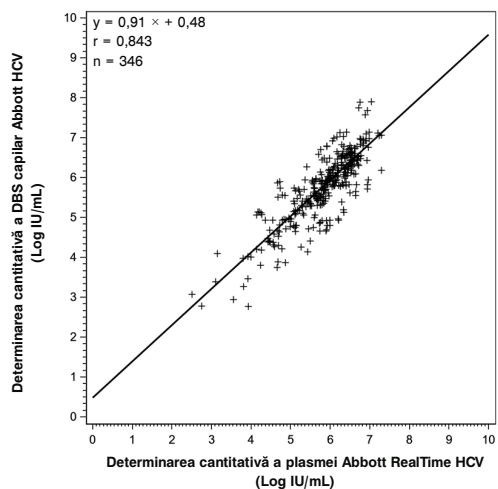


Figura 5. DBS capilar versus plasmă

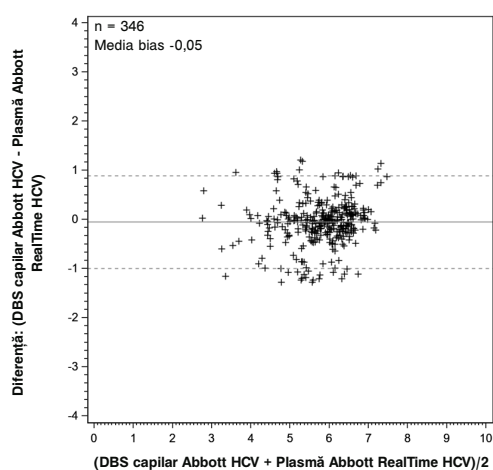


Figura 3. DBS venos și plasmă

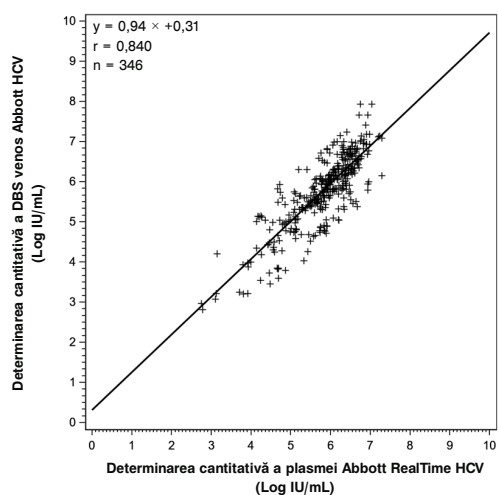


Figura 6. DBS venos versus plasmă

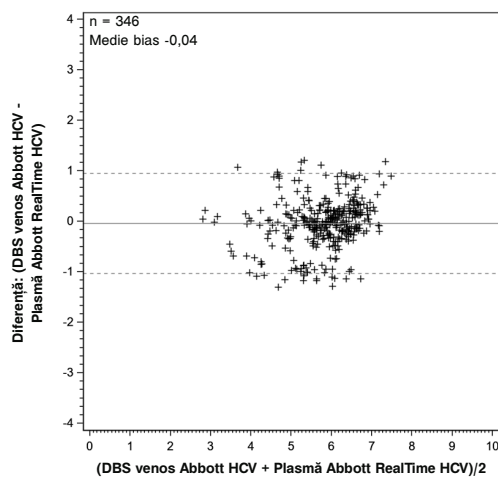


Figura 4. DBS capilar și DBS venos

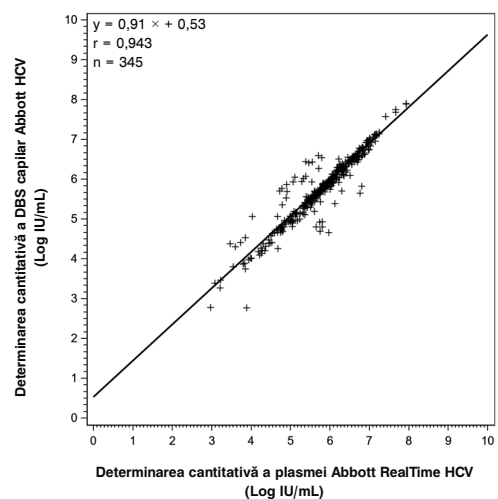
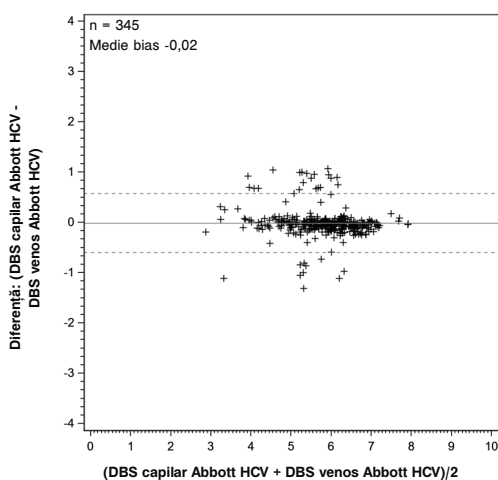


Figura 7. DBS capilar versus DBS venos



BIBLIOGRAFIE

1. Gower E, Estes C, Blach S, Razavi-Shearer K, Razavi H. Global epidemiology and genotype distribution of the hepatitis C virus infection. *J Hepatol.* 2014;61(1 Suppl):S45-S57. doi:10.1016/j.jhep.2014.07.027
2. Guidelines for the screening, care and treatment of persons with chronic hepatitis C infection. World Health Organization (WHO); updated April 2016. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/205035>
3. AASLD/IDSA HCV guidance panel. *Recommendations for testing, managing, and treating hepatitis C.* AASLD/IDSA; updated October 24, 2022. <https://www.hcvguidelines.org/>
4. European Association for the Study of the Liver. EASL Recommendations on Treatment of Hepatitis C 2018. *J Hepatol.* 2018;69(2):461-511. doi:10.1016/j.jhep.2018.03.026
5. Miller MH, Agarwal K, Austin A, et al. Review article: 2014 UK consensus guidelines - hepatitis C management and direct-acting anti-viral therapy. *Aliment Pharmacol Ther.* 2014;39(12):1363-1375. doi:10.1111/apt.12764
6. Davis GL, Esteban-Mur R, Rustgi V, et al. Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin for the treatment of relapse of chronic hepatitis C. International Hepatitis Interventional Therapy Group. *N Engl J Med.* 1998;339(21):1493-1499. doi:10.1056/NEJM199811193392102
7. Manns MP, McHutchison JG, Gordon SC, et al. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial. *Lancet.* 2001;358(9286):958-965. doi:10.1016/s0140-6736(01)06102-5
8. Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR, et al. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med.* 2002;347(13):975-982. doi:10.1056/NEJMoa020047
9. Hadziyannis SJ, Sette H Jr, Morgan TR, et al. Peginterferon-alpha2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose. *Ann Intern Med.* 2004;140(5):346-355. doi:10.7326/0003-4819-140-5-200403020-00010
10. Orlent H, Deltenre P, Francque S, et al. Update of the Belgian Association for the Study of the Liver guidelines for the treatment of chronic hepatitis C genotype 1 with protease inhibitors. *Acta Gastroenterol Belg.* 2012;75(2):245-259.
11. Halfon P, Bourlière M, Pénaranda G, Khiri H, Ouzan D. Real-time PCR assays for hepatitis C virus (HCV) RNA quantitation are adequate for clinical management of patients with chronic HCV infection. *J Clin Microbiol.* 2006;44(7):2507-2511. doi:10.1128/JCM.00163-06
12. Kowdley KV, Nelson DR, Lalezari JP, et al. On-treatment HCV RNA as a predictor of sustained virological response in HCV genotype 3-infected patients treated with daclatasvir and sofosbuvir. *Liver Int.* 2016;36(11):1611-1618. doi:10.1111/liv.13165
13. Yoshida EM, Sulkowski MS, Gane EJ, et al. Concordance of sustained virological response 4, 12, and 24 weeks post-treatment with sofosbuvir-containing regimens for hepatitis C virus. *Hepatology.* 2015;61(1):41-45. doi:10.1002/hep.27366
14. WHO Guidelines on Hepatitis B and C Testing. World Health Organization (WHO); 2017. <https://www.who.int/publications/i/item/9789241549981>
15. Saldanha J, Heath A, Aberham C, et al. World Health Organization collaborative study to establish a replacement WHO international standard for hepatitis C virus RNA nucleic acid amplification technology assays. *Vox Sang.* 2005;88(3):202-204. doi:10.1111/j.1423-0410.2005.00606.x

ASISTENȚĂ TEHNICĂ

În ceea ce privește asistența tehnică, contactați Abbott Technical Services la numărul 1-800-553-7042 (pe teritoriul SUA) sau la numărul +49-6122-580 (în afara teritoriului SUA) sau vizitați site-ul web Abbott pe www.molecular.abbott.

REZUMAT PRIVIND SIGURANȚA ȘI PERFORMANȚA

Un rezumat privind siguranța și performanța (SSP) pentru acest dispozitiv este disponibil pe <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>. Aceasta este locația SSP după lansarea Bazei de Date Europene pentru Dispozitive Medicale. Căutați acest dispozitiv utilizând UDI-DI furnizat pe exteriorul ambalajului dispozitivului.

Abbott RealTime HCV este importat pe teritoriul Uniunii Europene de către Abbott Diagnostics GmbH, situat în Max-Planck-Ring 2, 65205 Wiesbaden, Germania



Abbott Molecular Inc.
1300 East Touhy Avenue
Des Plaines, IL 60018 USA



Abbott GmbH
Max-Planck-Ring 2
65205 Wiesbaden, Germany



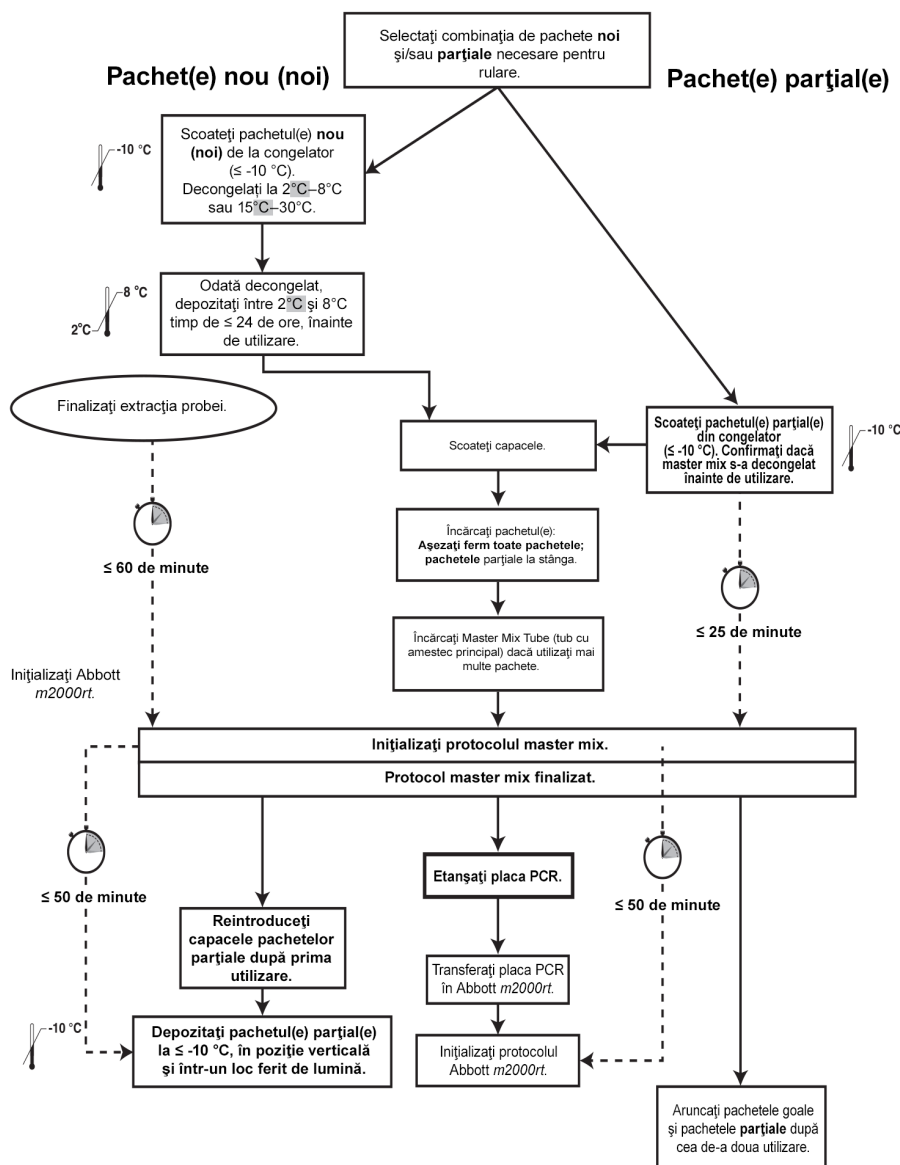
© 2020, 2024 Abbott. Toate drepturile rezervate.
51-608440/R3
August 2024

ANEXA 1. PREZENTAREA GENERALĂ A CARACTERISTICII DE UTILIZARE PRELUNGITĂ A REACTIVILOR DE AMPLIFICARE ABBOTT REALTIME HCV

Caracteristica de utilizare prelungită a reactivilor de amplificare permite utilizarea unui pachet cu reactivi de amplificare și a unui control intern (CI) de cel mult două ori. Pachetele cu reactivi de amplificare care nu au fost încă utilizate pentru a pregăti master mix sunt denumite pachete **noi** cu reactivi de amplificare. Pachetele cu reactivi de amplificare care au fost utilizate o singură dată și care conțin master mix pregătit sunt denumite pachete **parțiale** cu reactivi de amplificare. Consultați instrucțiunile furnizate în prezentul manual pentru detalii suplimentare.

Condiții de depozitare (Amplification Reagent Pack și recipiente cu control intern)		
Tip de pachet	Temperatură de depozitare	Durată de depozitare
Pachete noi	-10 °C sau o temperatură mai scăzută	Până la data afișată pe etichetă
CI nou	-10 °C sau o temperatură mai scăzută	Până la data afișată pe etichetă
Pachete parțiale	-10 °C sau o temperatură mai scăzută (ferite de lumină)	Până la 14 zile după utilizarea inițială
CI parțial	-10 °C sau o temperatură mai scăzută	Până la 14 zile după utilizarea inițială

- Dacă utilizați UNG pentru procedura de control al contaminării, consultați protocolul de testare, pasul 25–32 pentru instrucțiuni specifice.



- Pachetele cu reactivi de amplificare eligibile pentru utilizarea prelungită trebuie să aibă un număr de serie format din șase cifre deasupra codului de bare.
- Pachetele **parțiale** cu reactivi de amplificare pot fi utilizate pentru a doua oară numai pe același instrument utilizat inițial. Utilizarea acestora pe un alt instrument va genera o eroare de prelucrare care poate întârzia testarea.
- Pachetele **parțiale** și **noi** cu reactivi de amplificare pot fi utilizate împreună. Toate pachetele cu reactivi de amplificare utilizate pe instrument pentru o testare trebuie să aibă același număr de lot.

Abbott RealTime HCV Supplement for Dried Blood Spot (DBS)

et

GTIN

REF

04J86-010

IVD

REF 04J86-010

51-608440/R3

51-608440/R3

MÄRKUS: Muudatused on esile tõstetud.

Kasutatud tähistest selgitused	
	Globaalne kaubandustoote kood
	Viitenumber
	In vitro diagnostika meditsiiniseade
	Maksimaalne lubatud aeg
	Temperatuuri ülempiir
	Temperatuuripiirang
	Volitatud esindaja Euroopa Ühenduses/Euroopa Liidus
	Tootja

RAHVUSVAHELINE KLIENDITEENINDUS: VÕTKE ÜHENDUST LÄHIMA ABBOTTI VOLITATUD ESINDAJAGA

Lugege see pakendi infoleht enne kasutamist hoolikalt läbi. Infolehes toodud juhiseid tuleb vastavalt järgida. Analüüsitulemuste usaldusväärsus ei ole tagatud, kui esineb mis tahes kõrvalekaldeid pakendi infolehes esitatud juhistest.

See pakendi infoleht on lisa analüüsi Abbott RealTime HCV (kat-nr 4J86) pakendi infolehele kuiva verepleki (Dried Blood Spot, DBS) proovituubi jaoks.

TEADE KASUTAJALE

Selle seadmega seotud tõsistest vahejuhtumitest tuleb teavitada tootjat ja pädevat asutust liikmesriigis, kus kasutaja ja/või patsient asub. Tootja teavitamiseks vajaliku kontaktteabe leiate selle juhendi klienditeeninduse või tehnilise toe jaotistest.

NIMETUS

Abbott RealTime HCV

KASUTUS DBS-I PUHUL

Analüüs Abbott RealTime HCV on mõeldud in vitro pöördtranskriptsiooni polümeraasi ahelreaktsiooni (RT-PCR) analüüsina C-hepatiidi viiruse RNA (HCV RNA) kvantitatiivseks määramiseks veres, mis on võetud kuiva verepleki meetodil (DBS) (st saadud venipunktuuri või kapillaarvere kaudu) HCV-infektsiooniga isikutelt. Analüüs Abbott RealTime HCV on ette nähtud kasutamiseks viirusevastast ravi saavatel HCV-infektsiooniga patsientidel. Analüüs Abbott RealTime HCV ei ole ette nähtud vere, plasma, seerumi või kudede doonorite HCV sõeluuringuks ega diagnostiliseks testiks HCV-infektsiooni olemasolu kinnitamiseks.

ETTENÄHTUD KASUTAJA

Analüüsi Abbott RealTime HCV ettenähtud kasutajateks on laboritöötajad.

TESTI KOKKUVÕTE JA SELGITUS

C-hepatiidi viirus (HCV) on üks peamisi maksahaiguse põhjuseid. Hinnanguliselt umbes 1.1% elanikkonnast põeb kroonilist C-hepatiiti¹ ja ligikaudu 700 000 inimest sureb igal aastal C-hepatiidiga seostuvate maksahaiguste tagajärjel². HCV on positiivse ahelaga RNA viirus, mis kandub edasi peamiselt intravenoosse narkootilise aine kasutamise ja veretoodete kaudu. Umbes 55 kuni 85% HCV-infektsiooniga isikutel areneb välja krooniline hepatiit, kusjuures kuni 30% krooniliselt nakatunud isikutest areneb välja tsirroos.¹ Tsiroosiga patsientidel on

hepatotsellulaarse kartsinoomi esinemissagedus 2 kuni 4% aastas.¹

HCV RNA taseme kvantitatiivne mõõtmine perifeerses veres on osutunud oluliseks parameetriks erinevate anti-HCV ravimeetodite puhul.⁶⁻¹³ Otsetoimeliste viirusevastaste raviskeemide kasutamisel on HCV-infektsiooni ravi oluliselt edasi arenenud. Anti-HCV ravi eesmärk on saavutada püsiv viroloogiline ravivastus (SVR), mis on esitatud tuvastatava HCV RNA jätkuva puudumisena.²⁻⁵ HCV-viiruskoormuse mõõtmisi on kasutatud ravi kestuse ja ravivastuse alusel juhitava ravi individualiseerimiseks või viirusevastase ravi püsiva või mittepüsiva viroloogilise ravivastuse määramiseks ja prognoosimiseks.²⁻⁵

Enamasti esineb ülemaailmselt valdavalt rohkem HCV-d madala ja keskmise sissetulekuga riikides.¹⁴ Aktiivse HCV-infektsiooniga patsientide tuvastamise võimalused on nendes väheste ressurssidega piirkondades väga piiratud. DBS-i meetodil kogutud täisverd võib kasutada alternatiivina seerumile või plasmale HCV RNA testimiseks. DBS-i meetod on teostatav alternatiiv, mille korral puuduvad paljud logistilised ja tehnilised piirangud, mis on seotud seerumi või plasma kogumise, töötlemise, ladustamise ja saatmisega. Maailma Terviseorganisatsiooni (WHO) suunised C-hepatiidi testimise kohta sisaldavad soovitusi DBS-i meetodi kasutamiseks HCV viroloogiliseks testimiseks piiratud ressurssidega piirkondades.¹⁴

DBS-i analüüs Abbott RealTime HCV kasutab pöördtranskriptsiooni polümeraasi ahelreaktsiooni (RT-PCR) tehnoloogiat koos homogeense reaalaajas fluorestseeruva määramisega HCV RNA kvantitatiivseks määramiseks DBS-is. HCV genoomi konserveerunud regiooni valik näeb ette genotüüpide 1 kuni 6 avastamise. Analüüs on standarditud vastavalt C-hepatiidi viiruse RNA teisele WHO rahvusvahelisele standardile (NIBSC kood 96/798)¹⁵ ja tulemused on esitatud rahvusvahelistes mõõtühikutes/mL (IU/mL) või nende kümnendlogaritmekvivalendis.

PROTSEDUURI BIOLOOGILISED PÕHIMÕTTED

DBS-i analüüs Abbott RealTime HCV nõuab kolme reaktiivikomplekti:

- Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit
- Abbott RealTime HCV Control Kit
- Abbott RealTime HCV Calibrator Kit

DBS-i analüüs Abbott RealTime HCV kasutab RT-PCR-i inimese DBS-i proovidest võetud HCV RNA genoomist amplifitseeritud toote genereerimiseks. DBS-i analüüs Abbott RealTime HCV koosneb analüüsieelsest DBS-i töötusest, proovide ettevalmistamisest, RT-PCR-i koostusest, amplifikatsioonist, määramisest ja tulemuste aruandlusest. Analüüsieelne DBS-i töötus toimub puhvrikomplekti Abbott mSample Preparation System DBS Buffer Kit abil enne proovi laadimist süsteemi Abbott m2000sp. Kõik analüüsieelsele DBS-i töötusele järgnevad etapid viiakse süsteemides Abbott m2000sp ja Abbott m2000rt läbi automaatselt. Täpsemat teavet proovi ettevalmistamise, RT-PCR-i koostuse, amplifikatsiooni ja määramise kohta leiate analüüsi Abbott RealTime HCV (kat-nr 4J86) pakendi infolehest.

AMPLIFITSEERIMISREAKTIIVI PIKENDATUD KASUTUSAEG

Valikulise amplifitseerimisreaktiivi pikendatud kasutusaeg võimaldab kasutada amplifitseerimisreaktiivi pakendeid ja sisekontrolle kokku 2 korda. Ettevalmistatud master mixi sisaldavaid amplifitseerimisreaktiivi pakendeid võib enne teistkordset kasutamist säilitada -10 °C juures või külmemal temperatuuril korgiga kaetult ja valguse eest kaitstult kuni 14 päeva. Sisekontrolle (IC) võib enne teistkordset kasutamist säilitada -10 °C juures või külmemal temperatuuril korgiga kaetult kuni 14 päeva. Teisel kasutuskorral ei tohi ületada reaktiivi aegumistähtaega.

Selle omaduse ülevaade on esitatud pakendi infolehe 1. lisas.

Kasutamata (esimest korda kasutatavaid) amplifitseerimisreaktiivi pakendeid ja sisekontrolle nimetatakse pakendi infolehes uuteks amplifitseerimisreaktiivi pakenditeks ja sisekontrollideks. Üks kord kasutatud master mixi sisaldavaid amplifitseerimisreaktiivi pakendeid nimetatakse poolikuteks amplifitseerimisreaktiivi pakenditeks. Üks kord kasutatud sisekontrolli viaale nimetatakse poolikuteks sisekontrolli viaalideks.

NUKLEIINHAPPEGA SASTUMISE VÄLTIMINE

Vt analüüsi Abbott RealTime HCV (kat-nr 4J86) pakendi infolehte.

REAKTIIVID

Vt analüüsi Abbott RealTime HCV (kat-nr 4J86) pakendi infolehte.

HOIATUSED JA ETTEVAATUSABINÕUD

IVD

Kasutamiseks *in vitro* diagnostikas.

Kuiva verepleki (DBS) analüüs Abbott RealTime HCV ei ole ette nähtud vere, plasma, seerumi või kudede doonorite HCV sõeluuringuks ega diagnostiliseks testiks HCV-infektsiooni olemasolu kinnitamiseks.

OHUTUSABINÕUD

Vt analüüsi Abbott RealTime HCV (kat-nr 4J86) pakendi infolehte. DBS-i analüüsiks Abbott RealTime HCV kasutatakse ainult seadmeid Abbott m2000sp ja Abbott m2000rt.

ERIEETVAATUSABINÕUD

Ettevaatus DBS-i proovide käsitlemisel

DBS-i analüüs Abbott RealTime HCV on ette nähtud kasutamiseks üksnes täisvere või DBS-i proovidega, mida on käsitsetud ja säilitatud vastavalt jaotises **PROVIDE KOGUMINE, SÄILITAMINE JA ANALÜÜSIKOHTA TRANSPORTIMINE** esitatud juhistele.

Vt Abbott RealTime HCV analüüsi (kat-nr 4J86) pakendi infolehte.

DBS-iga seotud eriettevaatusabinõud käsitlemisel:

- Veenduge, et DBS-i kaardid on enne kuivatamisega kotis hoiustamist täielikult kuivanud. DBS-i määrimine ning valesti kuivatamine, säilitamine ja käsitlemine võib moonutada analüüsi tulemusi.
- Ristsaastumise vältimiseks kasutage iga DBS-i proovi pleki perforatsioonid DBS-i kaardilt välja lükkamisel uut pipetiotsakut. Perforeerimata DBS-i kaardi kasutamise korral dekontamineerige pleki väljutamiseks kasutatav töövahend nii enne kui ka pärast DBS-i prooviga kokkupuutumist.

Tööpiirkonnad

Seadmete Abbott m2000sp ja Abbott m2000rt kasutamise korral on soovitatav töötada ainult kahes spetsiaalses alas: proovide ettevalmistamise ala ja amplifitseerimise ala.

Vt analüüsi Abbott RealTime HCV (kat-nr 4J86) pakendi infolehte.

Aerosooliga saastumine

Vt analüüsi Abbott RealTime HCV (kat-nr 4J86) pakendi infolehte.

Saastumine ja selle tõkestamine

Vt analüüsi Abbott RealTime HCV (kat-nr 4J86) pakendi infolehte.

Saastumine välise dU-sisaldusega amplifitseeritud proovist

Laborid, kus kasutatakse või on kasutatud HCV amplifikatsioonianalüüsi, mis hõlmavad amplifitseeritud proovi PCR-järgset töötlemist, võivad olla saastunud dU-sisaldusega amplifitseeritud tootega. Selline saastumine võib põhjustada DBS-i analüüsi Abbott RealTime HCV ebatäpseid tulemusi. Vt analüüsi Abbott RealTime HCV (kat-nr 4J86) pakendi infolehte alajaotist **Labori jälgimine saaste avastamiseks**. Kui negatiivsed kontrollained on püsivalt reaktiivsed või kui tõenäoliselt on toimunud saastumine dU-sisaldusega HCV amplifitseeritud tootega, on soovitatav kasutada uratsiil-N-glükosülaasi (UNG) saastumistõrje toimingut, kui labori dekontamineerimine ei õnnestu.

HOIUSTAMINE

Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit (kat-nr 4J86-90)

- **Uusi ja osalisi** Abbott RealTime HCV amplifikatsioonireaktiivi pakke ja sisekontrolli (IC) katsuteid tuleb hoiustada -10°C juures või madalamal temperatuuril, kui neid ei kasutata. Otsese kokkupuute vältimiseks tuleb kasutusel olev Abbott RealTime HCV amplifikatsioonireaktiivi pakk hoolikalt eraldada proovidest, kalibraatoritest ja kontrollainetest.
- **Osalist** amplifikatsioonireaktiivi pakid ja sisekontroll tuleb säilitada -10°C juures või madalamal temperatuuril ja hoida korgiga, püstasendis ja valguse eest kaitstuna. Selliselt hoiustatud osalisi amplifikatsioonireaktiivi pakke koos valmis master mixiga saab teist korda kasutada 14 päeva jooksul pärast esmast kasutust. Sisekontrolli (IC) tohib samuti teist korda kasutada 14 päeva jooksul pärast sulatamist, kui seda on hoitud korgiga -10°C juures või külmemas. Pärast kahte kasutuskorda tuleb osalist amplifikatsioonireaktiivi pakid ja IC ära visata. Teisel kasutuskorral ei tohi ületada reaktiivi aegumistähtaega.

Abbott RealTime HCV Control Kit (kat-nr 4J86-80)

- -10°C Abbott RealTime HCV negatiivseid ja positiivseid kontrollaineid tuleb säilitada -10°C juures või külmemas.

Abbott RealTime HCV Calibrator Kit (kat-nr 4J86-70)

- -10°C Abbott RealTime HCV kalibraatorit A ja kalibraatorit B tuleb säilitada -10°C juures või külmemas.

TRANSPORTIMISTINGIMUSED

Vt analüüsi Abbott RealTime HCV (kat-nr 4J86) pakendi infolehte.

REAGENTIDE EBASTABIILSUSE VÕI HALVENEMISE ILMINGUD

Vt Abbott RealTime HCV analüüsi (kat-nr 4J86) pakendi infolehte.

TOIMINGUD INSTRUMENTIDEGA

Enne analüüsi teostamist tuleb rakenduse fail Abbott RealTime HCV for DBS paigaldada süsteemidele Abbott m2000sp ja Abbott m2000rt CD-ROMilt Abbott RealTime HCV m2000 ROW System Combined Application CD-ROM (kat-nr 01L69-040 või uuem). Üksikasjalikku teavet rakenduse failide installimise kohta leiate süsteemide Abbott m2000sp ja Abbott m2000rt käsiraamatute jaost „Kasutusjuhised“.

PROVIDE KOGUMINE, SÄILITAMINE JA ANALÜÜSIKOHTA TRANSPORTIMINE

Proovide kogumine ja säilitamine

- DBS-i valmistamiseks kasutage sõrmest võetud veretilka või EDTA-ga täisverd. EDTA-ga täisverd tuleb säilitamise ja transportimise ajal hoida kontrollitud temperatuuritingimustes (2°C kuni 8°C juures kuni 48 tundi või toatemperatuuril mitte üle 30°C juures kuni 24 tundi).
- Katsutisse kogutud EDTA-ga täisverd tuleb enne verepleki tegemist hoolikalt segada, pöörates katsuti ettevaatlikult ümber. Tilgutage veri Ahlstrom-Munktel TFN paberkaardi poeletolistele (12 mm) rõngastele või Whatman 903-le ja veenduge, et kogu rõngas on kaetud. Täieliku katvuse tagamiseks on soovitatav kasutada iga ringi kohta vähemalt $70\text{ }\mu\text{L}$ verd (ligikaudu 3 kuni 5 veretilkat).
- Kuivatage kaarti toatemperatuuril õhu käes vähemalt kolm tundi. Pakkige iga kaart suletavasse kotti koos kuivatamisega pakikestega (vähemalt 2-3 kuivatamisega pakikest).
- DBS-i proovidega kaarte saab enne analüüsi teostamist säilitada vastavalt allpool toodud tabelis näidatud tingimustele.

DBS-i proovikaardi säilitamine

Tingimus	Maksimaalne säilitusaeg
2°C kuni 30°C keskkonna niiskuse juures	18 nädalat
$\leq 37^{\circ}\text{C}$ keskkonna niiskuse juures	12 nädalat
$\leq 45^{\circ}\text{C}$ keskkonna niiskuse juures	8 nädalat
$\leq 38^{\circ}\text{C}$ suure niiskuse juures ($\leq 85\%$)	4 nädalat
-25°C kuni -15°C keskkonna niiskuse juures	18 nädalat
-70°C või külmemas keskkonna niiskuse juures	18 nädalat

Proovide transportimine

Transportige proove vastavalt soovitatavale säilitamistemperatuurile ja -ajale, mis on loetletud jaotises **Proovide kogumine ja säilitamine**. Riigisisel ja rahvusvahelisel transportimisel tuleks proovid pakendada ja märgistada vastavalt kehtivatele riiklikele, föderaalsetele ja rahvusvahelistele eeskirjadele, mis hõlmavad kliiniliste, diagnostiliste või bioloogiliste proovide vedu.

ABBOTT REALTIME HCV PROTSEDUUR DBS-I PUHUL

Vajalikud vahendid, mida pole komplektis

- Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit (kat-nr 4J86-90)
- Abbott RealTime HCV Calibrator Kit (kat-nr 4J86-70)
- Abbott RealTime HCV Control Kit (kat-nr 4J86-80)

Abbott m2000sp Instrument Sample Preparation Area jaoks

- Abbott mSample Preparation System DBS Buffer Kit (kat-nr 09N02-001)
- Süsteem Abbott m2000sp (kat-nr 09K14-01, 09K14-02)
- Abbott mSample Preparation System (4×24 preparaati) (kat-nr 04J70-24)
- Kalibreeritud täppispiipetid, millega saab doseerida $20\text{--}1000\text{ }\mu\text{L}$ (UNG-ga võib olla vaja kalibreeritud pipette, millega saab doseerida $<20\text{ }\mu\text{L}$).

- Aerosoolitõkkega pipetiotsakud 20–1000 µL pipettide jaoks (UNG kasutamisel võib olla vaja aerosoolitõkkega pipetiotsakud, millega saab doseerida <20).
- Vorteks
- Master Mix Tube (kat-nr 04J71-80)
- Abbott 96-Deep-Well Plate (kat-nr 04J71-30)
- 5 mL reaktsioonianum (kat-nr 04J71-20)
- 200 mL reaktsioonianum (kat-nr 04J71-60)
- Abbott 96-Well Optical Reaction Plate (kat-nr 04J71-70)
- Abbott Optical Adhesive Covers (kat-nr 04J71-75)
- Abbott Adhesive Cover Applicators (kat-nr 9K32-01)
- Abbott Splash-Free Support Base (kat-nr 9K31-01)
- Abbott RealTime HCV m2000 ROW System Combined Application CD-ROM (kat-nr 01L69-040 või uuem)
- m2000 System 13 mm DBS-PoST Set (kat-nr 09N03-001)
- 1.4 mL mikrovial 15 mm korgiga (kat-nr 03N20-01) valikuline
- Uratsiil-N-glükosülaas (UNG)^a (kat-nr 6L87-02)

^aVajaduse korral selle pakendi infolehe jaotise **Saastumine välise dU-d sisaldava amplifitseeritud saadusega** kohaselt.

Abbotti m2000rt instrumendi amplifitseerimisala jaoks

- Instrument Abbott m2000rt (kat-nr 9K15-01)
- Abbott RealTime HCV m2000 ROW System Combined Application CD-ROM (kat-nr 01L69-040 või suurem)
- Abbott m2000rt Optical Calibration Kit (kat-nr 04J71-93)

Muud materjalid

- Bioloogilise ohutuse kapp, mis on heaks kiidetud töötamiseks nakkusohlike materjalidega
- DBS-i kaardi suletav kott
- Kuivatusaine pakk DBS-i kaardi jaoks
- Ahlstrom-Munktelii TFN-paberkaart ja/või Whatman 903
- Suletav kilekott 96 auguga reaktsiooniplaadi kõrvaldamiseks
- RNAasita vesi (Eppendorf või samaväärne)^b
- 1.7 mL molekulaarbioloogilise astmega mikrotsentrifuugikatsutid (Dot Scientific, Inc. või samaväärne)^b
- Vatiotstega aplikaatorid (Puritan või samaväärne)^b

^bMärkus. Kõiki 3 kasutatakse laborijärelevalve protseduuris saaste olemasolu tuvastamiseks. Vt analüüsi Abbott RealTime HCV analüüsi (kat-nr 4J86) pakendi infolehe jaotist **KVALITEEDIKONTROLLI PROTSEDUURID**.

Protseduurilised ettevaatusabinõud

- Lugege seda pakendi infolehte hoolikalt enne proovide töötlemist.
- Amplifikatsioonireaktiive ja sisekontrolli saab kasutada kuni 2 korda, nagu on kirjeldatud selles pakendi infolehes. Kalibraatorid Abbott RealTime HCV Calibrators Negative Control (negatiivne kontroll), Low Positive Control (madal positiivne kontroll) ja High Positive Control (kõrge positiivne kontroll) on ette nähtud vaid ühekordseks kasutamiseks ning tuleks pärast kasutamist kõrvaldada.
- Proovide või sisekontrolli pipetamiseks kasutage aerosoolbarjääriga pipetiotsi või ühekordselt kasutatavaid pipette ainult 1 kord. Pipetimisel pipetitrulli saastumise ärahoidmiseks tuleb olla ettevaatlik, vältimaks pipetitrulli kokkupuudet proovikatsuti või mahuti sisemusega. Soovitatav on kasutada laiendatud aerosoolbarjääriga pipetiotsi.
- Amplifikatsioonisaaduse olemasolu jälgimisprotseduurid leiduvad jaotises **KVALITEEDIKONTROLLI PROTSEDUURID**.
- Nukleiinhappesaaste ohu vähendamiseks puhastage ja desinfitseerige proovide mahaloksumise korral, sealhulgas kasutage tuberkuloidset desinfitseerimisvahendit, nagu 1.0% naatriumhüpoklorit vm sobiv desinfitseerimisvahend.
- Kalibraatorid ja kontrollained Abbott RealTime HCV tuleb ette valmistada koos testitavate proovidega. Kalibraatorid ja kontrollained Abbott RealTime HCV on analüüsi Abbott RealTime HCV toimivuse seisukohast üliolulised. Vt jaotist **KVALITEEDIKONTROLLI PROTSEDUURID**.
- Abbott m2000sp master mixi lisamise protokolliga tuleb alustada 1 tunni jooksul pärast seda, kui proov on ette valmistatud.
- Kui Abbott m2000sp master mixi lisamise protokoll katkestatakse, siis kõrvaldage amplifikatsioonireaktiivid, mida teist korda kasutati. Uued, esmakordselt kasutatavad reaktiivipakid võib alles hoida ning säilitada hiljem kasutamiseks, nagu on selles juhendis kirjeldatud.
- Abbott m2000rt protokolliga tuleb alustada 50 minuti jooksul master mixi lisamise protokollist alustamisest. Kui instrumendi Abbott

m2000rt kaitust ei alustata 50 minuti jooksul või seda häiritakse või katkestatakse, sulgege Abbotti 96 auguga optiline reaktsiooniplaat (Abbott 96-Well Optical Reaction Plate) suletavasse kilekotti ning kõrvaldage see süsteemi Abbott m2000rt käsiraamatu kohaselt plaadi käsitsemiseks kasutatud kinnastega.

OLULINE. Teist korda kasutatavaid amplifikatsioonireaktiive tuleb hoida temperatuuril –10 °C või külmemas 50 minuti jooksul alates master mixi lisamisprotokollist alustamisest.

ANALÜÜSIPROTOKOLL: DBS-I PROOVID INSTRUMENTIDEGA ABBOTT m2000sp JA ABBOTT m2000rt

Instrumendi Abbott m2000sp ja instrumendi Abbott m2000rt protokoll teostamise üksikasjaliku kirjelduse leiame süsteemide Abbott m2000sp ja Abbott m2000rt käsiraamatute jaost „Kasutusjuhised“. DBS-i protokoll nõuab Abbott m2000sp tarkvaraversiooni 6.0 või uuemat versiooni. Järgige süsteemi Abbott m2000sp käsiraamatut (kat-nr 09K20, versioon 6 või uuem).

Iga käitusega saab töödelda kokku 96 proovi. Igas käituses osalevad negatiivne kontroll Abbott RealTime HCV Negative Control, madal positiivne kontroll Abbott RealTime HCV Low Positive Control, ja kõrge positiivne kontroll Abbott RealTime HCV High Positive Control, võimaldades seega kuni 93 DBS-i proovi töötlust käituse kohta kalibraatoreid arvestamata. Töödelge kalibraatoreid ja kontrollaineid otse vedelproovidena, etapid 1 kuni 5 on ainult DBS-i jaoks. Ärge töödelge plasma- ega seerumiproove ühelgi käitusel, kus kasutatakse DBS-i protokoll. Iga DBS-i proovi kohta tuleks kasutada ühte katsutit Abbott Master Mix Tube kogu proovitötlusprotseduuri ulatuses. Veenduge, et DBS-i proovid oleksid kogu töötuse vältel märgistatud.

1. Täitke katsuti Abbotti Master Mix Tube 1.3 mL mDBS-i puhvriga proovi ettevalmistamissüsteemi Abbott mSample Preparation DBS-i puhvrikomplektist DBS Buffer Kit (kat-nr 09N02-001).

MÄRKUS. Ärge kasutage selles etapis lüüsihuvrit mLysis Buffer ega ühtegi muud reaktiivi.

2. Hoidke perforatsiooniga DBS-i paberkaart katsuti Abbotti Master Mix Tube kohal.
3. Lükake DBS-i rõngas kaardist välja puhta pipetiotsa abil, 1 DBS-i rõngas katsuti Abbotti Master Mix Tube kohta. Iga DBS-i läbimõõt peaks olema umbes 12 millimeetrit.

MÄRKUS. KASUTAGE RISTSAASTUMISE ÄRAHOIDMISEKS IGA DBS-I PROOVI JAKS UUT PIPETIOTSAT.

Teine võimalus on lõigata perforatsiooniga DBS-i paberist välja 1 terve DBS (umbes 1.30 cm läbimõõduga) iga proovi kohta ja viia see segu katsutisse Abbotti Master Mix Tube.

MÄRKUS. Vältige lõikepinna otsest kokkupuudet DBS-i proovidega. Dekontamineerige DBS-i lõikeriist vajaduse korral proovide vahel heade laboritavade kohaselt.

4. Veendumaks, et DBS-i rõngas oleks mDBS-i puhvrissse täielikult kastetud, koputage katsutit pipetiotsaga, et lükata DBS puhvrissse.
- MÄRKUS.** Kui DBS lükatakse puhvrissse pipetiotsaga, siis veenduge, et pipetiots ei põhjustaks DBS-i puhvri mahukadu otsas oleva vedeliku ja/või puhvri imendumise tõttu otsafiltrisse.
5. Loksutage või keerutage proovikatsuteid käsitsi. Ärge segage proove vorteksil. Inkubeerige 30 minutiks (±2 minutit) ümbritseva keskkonna temperatuuril.

6. Sulatage vahepeal analüüsi kontrollainet ja sisekontrolli (IC) temperatuuril 15 °C kuni 30 °C või 2 °C kuni 8 °C. Sulatage kalibraatoreid temperatuuril 15 °C kuni 30 °C või 2 °C kuni 8 °C ainult kalibreerimiskäituse tegemisel.

MÄRKUS. Sulatatuna võib analüüsi kontrollaineid ja kalibraatoreid hoida temperatuuril 2 °C kuni 8 °C pärast kasutamist kuni 24 tundi.

7. Segage iga analüüsi kalibraatorit ja iga kontrollainet vorteksil enne kasutamist 3 korda 2 kuni 3 sekundit. Veendumaks, et iga viali sisu oleks põhjas, koputage viaale laual, et vedelik läheks viali põhja. Veenduge, et ei tekiks mulle ega vahtu. Kui neid esineb, eemaldage need steriilse pipetiotsaga, kasutades iga viali jaoks uut otsa.
8. Sulatage amplifikatsioonireaktiivid temperatuuril 15 °C kuni 30 °C või 2 °C kuni 8 °C ja hoidke neid temperatuuril 2 °C kuni 8 °C, kuni on master mixi amplifitseerimiseks vajalik.
9. Valige **uued** ja/või **osalised** amplifikatsioonireaktiivi pakid, mida käituseks kasutatakse. Amplifikatsioonireaktiivi paki varude haldamise juhendi kohta vt süsteemi Abbott m2000sp käsiraamatu (kat-nr 09K20, versioon 6 või uuem) jaost „Kasutusjuhised“. Amplifikatsioonireaktiivi pakidel peab olema sama partinumber. Sulatage **uued** amplifikatsioonireaktiivid temperatuuril 15 °C kuni 30 °C või 2 °C kuni 8 °C ja hoidke neid temperatuuril 2 °C kuni 8 °C, kuni master mix on amplifitseerimiseks vajalik.

MÄRKUS. Sulatatuna võib uusi amplifikatsioonireaktiive hoida temperatuuril 2 °C kuni 8 °C kuni 24 tundi, kui neid kohe ei kasutata. Osalise amplifitseerimise reaktiivipakke, mida kasutatakse teist korda, EI TOHI hoida enne kasutamist temperatuuril 2 °C kuni 8 °C. Neid tuleb hoida temperatuuril –10 °C või külmemas, kuni neid on vaja master mixi lisamiseks. Külmikust eemaldamise järel ei tohi neid toatemperatuuril säilitada kauem kui 25 minutit, sealhulgas juhul, kui pakid eemaldatakse säilituskohast, kuid neid ei kasutata. Kui 25 minutit on ületatud, kõrvaldage osalise amplifitseerimise reaktiivipakid.

Järgmises tabelis on toodud proovide ettevalmistamise reaktiivide ja sisekontrolli vialide arv olenevalt reaktsioonide arvust.

Proovi ettevalmistamise reaktiivide ja sisekontrolli nõuded				
Reaktiiv	1 kuni 24 reaktsiooni	25 kuni 48 reaktsiooni	49 kuni 72 reaktsiooni	73 kuni 96 reaktsiooni
mMicroparticles	1 pudel	2 pudelit	2 pudelit	2 pudelit
mLysis	1 pudel	2 pudelit	3 pudelit	4 pudelit
mWash 1	1 pudel	2 pudelit	3 pudelit	4 pudelit
mWash 2	1 pudel	2 pudelit	3 pudelit	4 pudelit
mElution Buffer	1 pudel	2 pudelit	3 pudelit	4 pudelit
Sisekontroll ^a	1 uus vial või 1 osaline vial	1 uus vial või 2 osalist vial	2 uut vial või 3 osaline vial	2 uut vial või 4 osaline vial

^a Kasutada võib kombinatsiooni uutest ja osalistest sisekontrolli vialidest.

- Pöörake pudeleid Abbott mSample Preparation ettevaatlikult ümber, et tagada ühtlane lahus. Kui mis tahes reaktiivipudelis esineb avamisel kristalle, laske reaktiivil toatemperatuuril selgineda, kuni kristallid kaovad. Ärge kasutage reaktiive enne, kui kristallid on lahustunud.
- Segage iga IC-d vorteksiga 3 korda 2 kuni 3 sekundit.
- Kasutage kalibreeritud täppispipetti, **MIS ON ETTE NÄHTUD AINULT SISEKONTROLLI JAOKS**, ja lisage 500 µL IC-d igasse puhvri mLysis Buffer pudelisse. Segage anumad ettevaatliku ümberpööramise teel 5–10 korda, et vahutamise oleks võimalikult vähene. IC osalisi viale võib uuesti sulgeda ning hoida temperatuuril –10 °C või külmemas teise kasutuskorra jaoks.
- Viige madal ja kõrge positiivne kontrollaine, negatiivne kontrollaine ja kalibraatorid (kui need on olemas) Abbott m2000sp proovialustele.
- Kui inkubeerimine on valmis, loksutage või keerutage DBS-i proovikatsuteid käsitsi ja seejärel viige need Abbott m2000sp proovialustele.
- MÄRKUS. Veenduge, et Abbott m2000sp proovialused oleksid kalibreeritud spetsiaalselt Abbott RealTime HCV DBS-i protseduuriks.**
- Laadige proovialused ettevaatlikult täis, et vältida pritsimist. Kui kasutusel on vöötkoodid, peavad need olema suunatud paremale, et neid oleks võimalik skannida. Veenduge, iga katsuti oleks proovialusele paigutatud kindlalt, nii et katsuti alaosa ulatuks aluse põhja siseküljeni.
- Laadige täidetud proovialused süsteemile Abbott m2000sp järjestikuses asendis, nii et esimene alus jääks töölaual paremale serva ja mis tahes järgmine alus sellest edasi vasakule.
- Viige 5 mL reaktsioonianumad süsteemi Abbott m2000sp 1 mL alamsüsteemi kandjale.
- Laadige proovide ettevalmistamise süsteemi Abbott mSample Preparation System reaktiivid Abbotti 96 sügava auguga (Abbott 96 Deep-Well Plate) alusele töölaual Abbott m2000sp, nagu on kirjeldatud süsteemi Abbott m2000sp käsiraamatu jaos „Kasutusjuhised“.
- Valige ekraanil Protocol (Protokoll) rakenduse fail HCV RNA DBS. Käivitage proovi ekstraheerimise protokoll, nagu on kirjeldatud süsteemi Abbott m2000sp käsiraamatu jaos „Kasutusjuhised“.

- Sisestage kalibraatori (vajalik, kui kalibreerimiskõverat pole süsteemis Abbott m2000rt salvestatud) ja kontrollaine partiipspetsiifilised väärtused jaotise Sample Extraction (Proovi ekstraheerimine) väljadele Worktable Setup (Töölaua seadistamine), Calibrator (Kalibraator) ja Control (Kontrollaine). Partiipspetsiifilised väärtused on määratud iga Abbott RealTime HCV kalibraatori- ja kontrollainekomplekti kaardiga.

- Abbott m2000sp Master Mix lisamise protokolliga (etapp 28) tuleb alustada 1 tunni jooksul pärast seda, kui proov on ette valmistatud.

MÄRKUS. Vahetage enne amplifikatsioonireaktiivide käsitsemist kindad.

- Laadige amplifikatsioonireaktiivid ja (vajaduse korral) master mixi katsuti süsteemi Abbott m2000sp töölauale, kui proov on ette valmistatud. Järgmises tabelis on toodud proovide valmistamise amplifikatsioonireaktiivide vajalike pakide arv olenevalt reaktsioonide arvust. Kui kasutatakse ainult 1 reaktiivipakki, pole master mixi katsuti vajalik.

Vajalike amplifikatsioonireaktiivi pakide (Amplification Reagent Pack) arv ^a			
1 kuni 24 reaktsiooni	25 kuni 48 reaktsiooni	49 kuni 72 reaktsiooni	73 kuni 96 reaktsiooni
1 uus; kuni 4 osaliste pakki	2 uut; kuni 4 osaliste pakki	3 uut; kuni 4 osaliste pakki	4 uut või osalist pakki

^a Juhised varude haldamiseks, et teha kindlaks testitavate reaktsioonide maksimumarv valitud osaliste pakkidega, leiate süsteemi Abbott m2000sp käsiraamatust (kat-nr 09K20, versioon 6 või uuem versioon).

- Osalisi amplifitseerimise reaktiivipakke saab kasutada ainult samal süsteemil Abbott m2000sp, mida kasutati reaktiivipaki algseks ettevalmistamiseks. Amplifikatsioonireaktiivide paki teistkordsel kasutamisel muul instrumendil tekib tõrge, mis võib viia kaituse viibimiseni.
 - Osalisi ja uusi amplifikatsioonireaktiivi pakke võib kasutada koos.
- OLULINE.** Osalisi amplifikatsioonireaktiivi pakke tuleb hoida temperatuuril –10 °C või külmemas ja sealt eemaldada vaid vahetult enne teist kasutust. Kontrollige enne osaliste pakide paigutamist Abbott m2000sp töölauale, et master mix oleks üles sulanud. Kui teist korda kasutatavad osalised amplifikatsioonireaktiivi pakid temperatuurilt –10 °C või külmemalt hoiutemperatuurilt eemaldada, tuleb neid kasutada 25 minuti jooksul või need kõrvaldada. See kehtib kumulatiivse toatemperatuuriga kokkupuute kohta, sealhulgas juhud, kui pakid eemaldatakse säilitukohast, kuid neid ei kasutata.
- Veendumaks, et uute amplifikatsioonireaktiivi pakide sisu oleks enne amplifikatsioonireaktiivide avamist vialide põhjas, koputage viale püstasendis vastu töölauda 5–10 korda.
 - Ärge koputage osalisi amplifikatsioonireaktiivi pakke, mida kasutatakse teist korda. Koputamine võib kaasa tuua master mixi kadumise korki.
 - Eemaldage korgid. Kui teiseks kasutamiseks säilitatakse uut amplifikatsioonireaktiivi pakki, tuleb vialid säilitamiseks uuesti sulgeda. Kui kavatsete reaktiivivialide uuesti sulgemiseks kasutada algseid korke, hoidke need alles. Kui kavatsete reaktiivivialide uuesti sulgemiseks kasutada uusi korke, võib algsed kõrvaldada.
- Kui saastekontrolliks kasutatakse uratsiil-N-glükosülaasi (UNG), järgige alltoodud juhiseid.**
- Lisage AINULT REAKTIIVIDEGA KASUTAMISEKS ETTE NÄHTUD PIPETI ABIL kindlas mahus 1 U/µL UNG-d (kat-nr 6L87-02) reaktiivivialide uute ja osaliste amplifikatsioonireaktiivi pakide asendis 3. Pipettige kõiki osalisi pakke segamiseks õrnalt käsitsi üles-alla. Ärge uusi pakke segage.
 - Alltoodud tabeli abil saate kindlaks teha UNG mahu, mis tuleb reaktiivivialide uute ja osaliste amplifikatsioonireaktiivi pakide asendis 3 lisada. Uue reaktiivipaki asendis 3 sisaldab reaktiivivial termostabiilset rTth-polümeraasi ensüümi. Osalise reaktiivipaki asendis 3 sisaldab reaktiivivial master mixi.

Reaktiivivialli iga amplifikatsioonireaktiivi paki asendis 3 lisatava UNG maht	
Pakki allesjäävad testid	Lisage UNG-d selles mahus (µL)
1	5
2	6
3	7
4	8
5	9
6	10
7	11
8	12
9	13
10	13
11	14
12	15
13	16
14	17
15	18
16	19
17	20
18	21
19	22
20	23
21	24
22	25
23	26
24 (uus pakk)	27

MÄRKUS. Reaktiivivialli iga amplifikatsioonireaktiivi paki asendis 3 lisatava UNG maht on olnud reaktiivipakki allesjäänud testide arvust ja mitte analüüsivate proovide arvust. Juhiste saamiseks amplifikatsioonireaktiivi paki varude haldamiseks ja reaktiivipakki allesjäänud testide arvu kindlakstegemise kohta vt süsteemi *m2000sp* käsiraamatust.

26. Osalisel amplifikatsioonipakid laaditakse Abbott *m2000sp* töölaual uutest amplifikatsioonireaktiivi pakidest vasakule.
27. Veenduge, et amplifikatsioonireaktiivi pakid oleksid instrumendile kindlalt paigutatud.
28. Valige sobiv sügavate aukudega plaat, mis vastaks vajalikule proovi ettevalmistamise ekstraheerimisviisile. Alustage Abbott *m2000sp* master mixi lisamise protokoll. Järgige juhiseid, mis on toodud süsteemi Abbott *m2000sp* käsiraamatu jaos „Kasutusjuhised“.

MÄRKUS. Kasutaja ei tohi käsitsi täita ühtegi optilise reaktsiooni-plaadi Abbott 96-Well Optical Reaction Plate tühja/täitmata süvendit.

- Kui proovid on ekstraheeritud, täidab Abbott *m2000sp* automaatselt optilisel reaktsiooniplaadil Abbott 96-Well Optical Reaction Plate mis tahes tühjad augud elueerimispuhvriga *mElution Buffer*, kui käituse jooksul töödeldakse üle 48 proovi. Plaat ei täideta, kui käitustes on proove 48 või vähem.
- Kui instrument sellest märku annab, peaks reaktiivikandja 2 jääma paika, sisaldades minimaalselt puhvrit *mElution Buffer* (reaktiivikandja 2, asukoht 6). Kui see reaktsiooniarvum on maha laaditud, viige reaktiivikandja 2 asukohta 6 uus reaktiiviarvum märgisega *mElution Buffer*. Reaktiiviarvumasse lisatakse süsteemivedelik, millega täidetakse tühjad süvendid. Kui see toiming on valmis, jätkab süsteem master mixi lisamisega.

MÄRKUS. Plaatide automaattäitmise funktsiooni kasutamise süsteemijuhised leiate süsteemi *m2000sp* käsiraamatu (kat-nr 09K20, versioon 6 või uuem) jaost 5 „Kasutusjuhised“, „Proovi ekstraheerimise suletud režiim“.

- Abbott *m2000rt* protokolliga (etapp 33) tuleb alustada 50 minuti jooksul master mixi lisamise protokoll alustamisest (etapp 28).

MÄRKUS. Kui analüüs katkestatakse mis tahes põhjusel pärast etappi 28, tuleb kasutada optilist reaktsiooniplaati Abbott 96-Well Optical Reaction Plate, kui Abbott *m2000sp* master mixi lisamise protokoll (etapp 28) on vaja korrata.

29. Lülitage sisse ja käivitage Abbott *m2000rt* instrument amplifikatsioonialas.

MÄRKUS. Abbott *m2000rt* vajab soojenemiseks 15 minutit.

MÄRKUS. Eemaldage enne proovi ettevalmistamise alasse naasmist kindad.

30. Sulgege optiline reaktsiooniplaad Abbott 96-Well Optical Reaction Plate, kui Abbott *m2000sp* instrument on lõpetanud proovide ja master mixi lisamise, nii nagu on kirjeldatud süsteemi Abbott *m2000sp* käsiraamatu jaos „Kasutusjuhised“.
31. Viige suletud optiline reaktsiooniplaad pritsmevabale tugialusele Abbott Splash-Free Support Base ülekandeks *m2000rt* instrumendile.

Kui kasutatakse uratsiil-N-glükosülaasi (UNG), järgige alltoodud juhiseid.

32. Kandke suletud optiline plaat Abbotti pritsmevabalt tugialuselt üle ja inkubeerige seda toatemperatuuril (15 °C kuni 30 °C) 10 minutit. Pärast inkubeerimist toatemperatuuril viige optiline reaktsiooniplaad Abbott 96-Well Optical Reaction Plate Abbotti pritsmevaba tugialus Abbott *m2000rt* instrumendile.
33. Asetage optiline reaktsiooniplaad Abbott 96-Well Optical Reaction Plate Abbott *m2000rt* instrumendile. Valige ekraanil Protocol (Protokoll) rakenduse fail HCV RNA DBS. Käivitage protokoll, mis on toodud süsteemi Abbott *m2000sp* käsiraamatu jaos „Kasutusjuhised“.

MÄRKUS. Soovitav on testide järjestuse ülekanne CD-ROM-i või võrguühenduse abil koos *m2000sp* ja *m2000rt* tarkvara ekspordi- ja impordifunktsioonidega. Kui loote Abbott *m2000sp* testide järjestuse käsitsi, sisestage proovi ID-d vastavates PCR-aluste asukohtades vastavalt tabelile „Wells for Selected Plate“ (Auk valitud plaadi jaoks), mis on toodud Abbott *m2000sp* üksikasjaekraanil „PCR Plate Results“ (PCR-plaadi tulemused). Vt süsteemi Abbott *m2000sp* käsiraamatu 5. jagu.

34. Kui ettevalmistatud osalise amplifikatsioonireaktiivi pakki kasutatakse teist korda, sulgege 3 reaktiivivialli alleshoidut või uute korkidega (kat-nr 3N20-01) ja ladustage reaktiivid kiiresti temperatuuril –10 °C või külmemas, kaitstuna valguse eest ja püstasendis. Kõrvaldage mis tahes amplifikatsioonireaktiivi pakid, mis on otsas või mida on kasutatud kaks korda.

OLULINE. Teist korda kasutatavaid amplifikatsioonireaktiivid tuleb ladustada temperatuuril –10 °C või külmemas 50 minuti jooksul alates master mixi lisamise protokoll alustamisest.

TÖÖTLUSJÄRGSED PROTSEDUURID

1. Eemaldage sügavate aukudega plaadid Abbott 96 Deep-Well Plate töölaual ja kõrvaldage need vastavalt süsteemi Abbott *m2000sp* käsiraamatule.
2. Pange optiline reaktsiooniplaad Abbott 96-Well Optical Reaction Plate suletavasse kilekotti ning kõrvaldage see süsteemi Abbott *m2000rt* käsiraamatu kohaselt plaadiga ümberkäimiseks kasutatud kinnastega.
3. Puhastage Abbotti pritsmevaba tugialus enne järgmist kasutuskorda vastavalt süsteemi *m2000rt* käsiraamatule.

KVALITEEDIKONTROLI PROTSEDUURID

Abbott *m2000rt* optiline kalibreerimine

Vt analüüsi Abbott RealTime HCV (kat-nr 4J86) pakendi infolehte.

Analüüsi kalibreerimine

Vt analüüsi Abbott RealTime HCV (kat-nr 4J86) pakendi infolehte.

DBS-i testide jaoks süsteemidel Abbott *m2000sp* and Abbott *m2000rt* tehke järgmist. Kui Abbott RealTime HCV kalibreerimine on kinnitatud ja talletatud, saab seda kasutada 6 kuud. Selle aja jooksul võib kõiki järgmisi proove testida ilma täiendava kalibreerimiseta, v.a järgmistel juhtudel.

- Kasutatakse uue partii numbriga Abbott RealTime HCV amplifikatsioonireaktiivi komplekti.
- Kasutatakse uue partii numbriga süsteemi Abbott *mSample Preparation System* (4 × 24 ettevalmistamist).
- Installitakse uus Abbott RealTime HCV RNA DBS-i rakenduse fail.

Inhibeerimise tuvastamine

Vt analüüsi Abbott RealTime HCV (kat-nr 4J86) pakendi infolehte.

Negatiivsed ja positiivsed kontrollained

Vt analüüsi Abbott RealTime HCV (kat-nr 4J86) pakendi infolehte.

Labori jälgimine saaste tuvastamiseks

Vt analüüsi Abbott RealTime HCV (kat-nr 4J86) pakendi infolehte.

DBS-i PROOVIDE TULEMUSED

Saadud DBS-i proovi kontsentratsiooni tulemus süsteemi Abbott m2000rt DBS-i protokollil analüüsist tähistab HCV viiruskontsentratsiooni täisvereproovi plasmas, kust DBS-i proov võeti. Süsteem Abbott m2000rt väljastab tulemused automaatselt Abbott m2000rt tööjaamas. Analüüsitulemused saab esitada rahvusvahelistes ühikutes IU/mL või Log IU/mL.

Tulemuste tõlgendamine

Tulemus	Tõlgendus
Not Detected (Pole tuvastatud)	Sihtmärki ei tuvastatud
< 2.66 Log IU/mL ^a	Tuvastatud
2.66 to 8.00 Log IU/mL (2.66 kuni 8.00 Log IU/mL)	
> 8.00 Log IU/mL	> ULQ ^b

^a 462 IU/mL

^b ULQ = upper limit of quantitation (koguseline ülempiir)

PROTSEDUURI PUUDUJÄÄGID

- KASUTAMISEKS IN VITRO DIAGNOSTIKAS**
- Selle testi optimaalne toimivus eeldab sobiva proovi kogumist, säilitamist ja transporti analüüsikohta (vt selle pakendi infolehe jaotist **PROOVIDE KOGUMINE, SÄILITAMINE JA ANALÜÜSIKOHTA TRANSPORTIMINE**).
- EDTA-ga katsutitesse võetud täisvereproovidest on võimalik saada DBS, mida testitakse DBS-i analüüsiga Abbott RealTime HCV. DBS-i analüüsi RealTime HCV puhul on lubatud ka muude hüübimisvastaste ainete kasutamine.
- DBS-i analüüs Abbott RealTime HCV on kasutamiseks mõeldud ainult töötajatele, kellel on väljaõpe DBS-i valmistamise ja eeltötluse, molekulaardiagnostika analüüsi ning süsteemi Abbott m2000 alal.
- Instrumendid ja analüüsiprotseduurid vähendavad amplifikatsioonisaadusega saastumise riski. Siiski tuleb heade laboritavade ning infolehel kirjeldatud protseduuridest hoolika kinnipidamise teel vältida kalibraatoritest, positiivsetest kontrollainetest või proovidest pärit nukleiinhapetega saastumist.
- Nagu mis tahes diagnostilise testi puhul, tuleb DBS-i analüüsi Abbott RealTime HCV tulemusi tõlgendada koos muude kliiniliste ja laboritulemustega. Proovi, mille tulemus on „Not Detected“ (Pole tuvastatud), ei saa lugeda HCV RNA suhtes negatiivseks.
- DBS-i kaartide ebasobiv kogumine, kuivatamine, säilitamine ja käsitsemine võib muuta testitulemused ebatäpseks.
- Kasutada võib DBS-i kaarte Ahlstrom-Munktel TFN ja Whatman 903. Analüüsi RealTime HCV puhul on lubatud ka muude kaartide kasutamine.

SPETSIIFILISED TOIMIVUSOMADUSED DBS-I PROOVIDE JAKKS

Avastamispiir (LoD)

Analüüsi Abbott RealTime HCV avastamispiiri on DBS-i proovitüübi korral 462 IU/mL. LoD kindlakstegemiseks testiti DBS-i proove, mis olid valmistatud WHO rahvusvahelise C-hepatiidi viiruse rahvusvahelise standardi RNA sarilahjendusega HCV-negatiivses täisveres. Iga HCV RNA kontsentratsiooni testid tehti amplifikatsioonireaktiivide 4 partii abil 3 päeva jooksul. Tulemused, mis näitavad DBS-i analüüsi Abbott RealTime HCV analüütilise tundlikkuse toimivust, on esitatud tabelis 1.

Tabel 1. DBS-i analüüsi Abbott RealTime HCV avastamispiir (LoD)

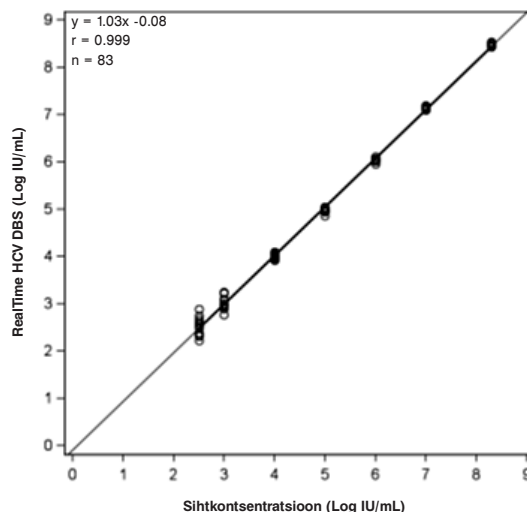
HCV RNA (IU/mL)	Testitute arv	Tuvastatud arv	Tuvastatud protsent
500	84	83	99
400	84	80	95
350	84	75	89
300	84	73	87
150	84	54	64
50	84	26	31

Andmete Probit-analüüsiga tehti kindlaks, et 95% tõenäosusega kuiva verepleki testis tuvastatud HCV RNA kontsentratsioon oli 462 IU/mL (95% CI 381 kuni 593 IU/mL).

Lineaarne vahemik

Analüüsi Abbott RealTime HCV koguseline ülempiir (ULQ) on 100 miljonit IU/mL ja koguseline alampiir on võrdne DBS-i tulemuse LoD-ga (462 IU/mL). 7-osaline DBS-i paneel valmistati HCV-ga ümbritsetud RNA-ga, mis oli lahjendatud kontsentratsioonini vahemikus 200 miljonit IU/mL kuni 316 IU/mL HCV-negatiivses täisveres. Tulemused, mis näitavad DBS-i jaoks ette nähtud analüüsi Abbott RealTime HCV lineaarsust, on esitatud joonisel 1.

Joonis 1. DBS-i analüüsi Abbott RealTime HCV lineaarsus



DBS-i analüüs Abbott RealTime HCV näidati olevat kogu HCV RNA testitud kontsentratsioonivahemike ulatuses lineaarne (316 kuni 200 miljonit IU/mL, 2.5 kuni 8.3 Log IU/mL).

Spetsiifilisus

DBS-i analüüsi Abbott RealTime HCV sihtspetsiifilisus on suurem kui 99.5% või võrdne. Spetsiifilisuse kindlakstegemiseks analüüsiti 119 HCV seronegatiivset proovi amplifikatsioonireaktiivide 2 partii vahel. Spetsiifilisus oli kokku 100% (119/119).

Kordustäpsus

Kordustäpsuse mõõtmiseks testiti 6-osalist DBS-i paneeli, mida oli sihitud HCV RNA kontsentratsioonivahemiku 316 IU/mL kuni 200 miljonit IU/mL katmiseks. Paneeliosad kontsentratsiooniga alla 5 Log IU/mL (100,000 IU/mL) valmistati HCV-positiivse kliinilise prooviga, mida oli lahjendatud HCV-negatiivse täisverega, samas kui üle 5 Log IU/mL (100,000 IU/mL) kontsentratsiooniga paneeliosad valmistati HCV-ga ümbritsetud RNA-ga, mida oli lahjendatud HCV-negatiivse täisverega. Iga paneeliosa testiti kord päevas 5 replikaadiga 5 päeva vältel paarides 3 süsteemil Abbott m2000sp/rt koos amplifikatsioonireaktiivide 3 partiiiga. Käituse sees, käituste vahel ja analüüsides vahel (käituse sees ja nende vahel) tehti kindlaks standardhälve (SD). DBS-i analüüsi Abbott RealTime HCV on välja töötatud eesmärgiga saavutada analüüsivaheline standardhälve (SD), mis on väiksem või võrdne 0.25 Log IU/mL HCV RNA-ga proovide puhul, mille HCV kontsentratsioon on 10,000 kuni 100 miljonit IU/mL. Tulemused, mis näitavad DBS-i analüüsi Abbott RealTime HCV kordustäpsust, on esitatud tabelis 2.

Tabel 2. DBS-i jaoks ette nähtud analüüsi Abbott RealTime HCV kordustäpsus

Paneeliosa	N	Keskmine kontsentratsioon (IU/mL)	Keskmine kontsentratsioon (Log IU/mL)	Käitusesiseste komponentide SD ^{a,e}	Käitustevaheliste komponentide SD ^a	Analüüsivahelise SD ^{a,b}	Partiidevahelise/instrumendi komponentide SD ^a	Kokku ^{c,e}
1	63 ^d	420	2.62	0.26	0.07	0.27	0.00	0.27
2	75	1435	3.16	0.23	0.00	0.23	0.09	0.25
3	75	13,211	4.12	0.06	0.04	0.07	0.05	0.09
4	75	395,427	5.60	0.04	0.03	0.05	0.02	0.05
5	75	14,008,770	7.15	0.12	0.04	0.13	0.05	0.14
6	75	316,713,566	8.50	0.04	0.03	0.05	0.05	0.07

^a Standardhälve (SD) on ühikutes Log IU/mL.

^b Analüüsivahelise standardhälve sisaldab käitusesiseseid ja käitustevahelisi komponente.

^c Kogusumma sisaldab käitusesiseseid, käitustevahelisi ja partiidevahelisi/instrumendi komponente.

^d Paneeliosa 1 keskmine kontsentratsioon on alla LoD. Kordustäpsuse mõõtmine põhineb testitud replikaatidel.

^e Käitusesisest SD-d nimetatakse ka korduvuseks. SD-de kogusummat nimetatakse ka korratavuseks.

Korduvus ja korratavus olid paneeliosal 1 (LLoQ lähedane) vastavalt 0.26 Log IU/mL ja 0.27 Log IU/mL ning paneeliosal 2 (LLoQ lähedane) vastavalt 0.23 Log IU/mL ja 0.25 Log IU/mL. Korduvus ja korratavus olid paneeliosal 5 (ULoQ lähedane) vastavalt 0.12 Log IU/mL ja 0.14 Log IU/mL ning paneeliosal 6 (ULoQ lähedane) vastavalt 0.04 Log IU/mL ja 0.07 Log IU/mL.

Korrelatsioon

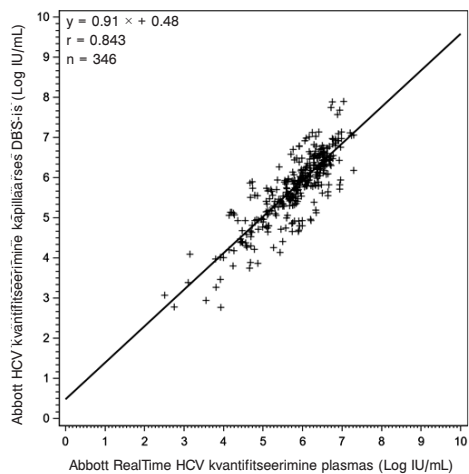
HCV RNA kvantifitseerimist võrreldi Abbott RealTime HCV analüüsi kuiva verepleki meetodil CE-märgisega võrdlusanalüüsiga Abbott RealTime HCV inimese vereplasmat testides. Analüüsi kaasati plasma- ja DBS-i proovid kokku 346 patsiendilt (kogutud ja testitud Gruusias, Kamerunis ja Kreekas). Testiti nii veeniverest ettevalmistatud DBS-i kui ka kapillaarverest ettevalmistatud DBS-i (näpuveri) DBS-i analüüsiga Abbott RealTime HCV. Analüüsi dünaamilistesse vahemikesse kuuluvate proovide kvantitatiivseid tulemusi analüüsiti lineaarse vähimruutude regressioonimeetodi ja Bland-Altmani analüüsimeetodiga (kapillaarne DBS versus plasma N = 346, venoosne DBS versus plasma N = 346, ja kapillaarne DBS versus venoosne DBS N = 345). Kapillaarse DBS-i ja plasma vahelise korrelatsiooni korral oli korrelatsioonikoefitsient 0.843, tõus oli 0.91 (95% CI 0.85 kuni 0.97) ning algordinaat oli 0.48 Log IU/mL (95% CI 0.12 kuni 0.84) (**Joonis 2**). Venoosse DBS-i ja plasma vahelise korrelatsiooni korral oli korrelatsioonikoefitsient 0.840, tõus oli 0.94 (95% CI 0.88 kuni 1.00) ning algordinaat oli 0.31 Log IU/mL (95% CI -0.07 kuni 0.69) (**Joonis 3**). Kapillaarse DBS-i ja venoosse DBS-i korrelatsiooni korral oli korrelatsioonikoefitsient 0.943, tõus oli 0.91 (95% CI 0.87 kuni 0.94) ning algordinaat oli 0.53 Log IU/mL (95% CI 0.33 kuni 0.72) (**Joonis 4**). Lisaks on **joonistel 5, 6** ning **7** ära toodud samade võrdluste Bland-Altmani graafikud. Keskmine erinevus kapillaarse DBS-i ja plasma vahel oli -0.05 Log IU/mL. Keskmine erinevus venoosse DBS-i ja plasma vahel oli -0.04 Log IU/mL. Keskmine erinevus kapillaarse DBS-i ja venoosse DBS-i vahel oli -0.02 Log IU/mL.

Kapillaarse DBS-i ja plasma vahelist prognoositav erinevust hinnati LLoQ ja ULoQ sihttasemetel. Lisaks hinnati venoosse DBS-i ja plasma vahel prognoositav erinevust LLoQ ja ULoQ sihttasemetel. Prognoositav erinevuste väärtuste kokkuvõte on esitatud tabelis **Tabel 3**.

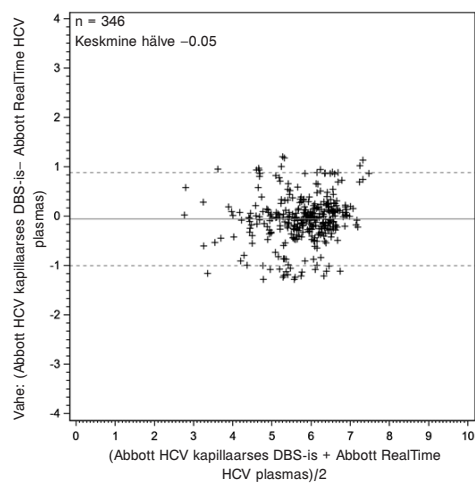
Tabel 3. DBS-i (kapillaarne või venoosne) ja plasma prognoositav erinevus LLoQ ja ULoQ juures

Võrdlus	Tase	Viiruskoormuse sihttase (Log IU/mL)	Prognoositav erinevus (Log IU/mL)
Kapillaarne DBS vs plasma	LLoQ	2.66	0.24
	ULoQ	8.00	-0.26
Venoosne DBS vs plasma	LLoQ	2.66	0.15
	ULoQ	8.00	-0.17

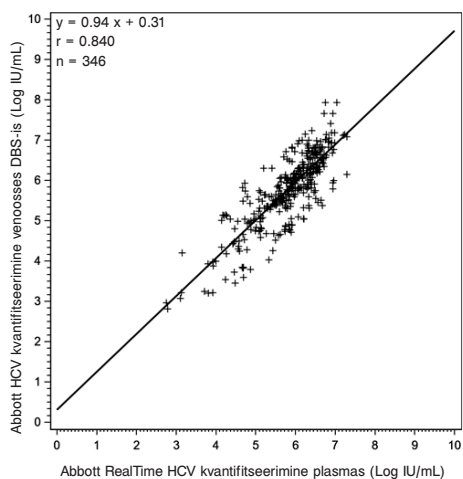
Joonis 2. Kapillaarne DBS ja plasma



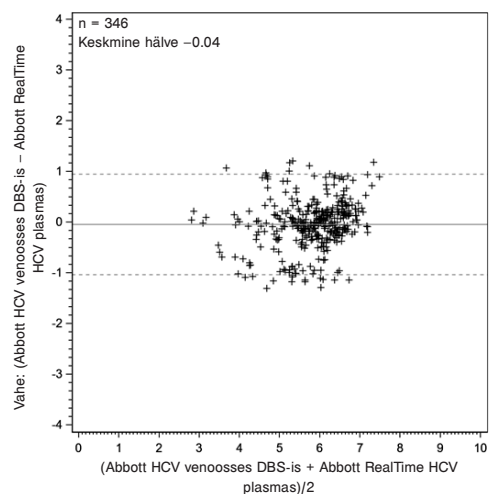
Joonis 5. Kapillaarne DBS vs plasma



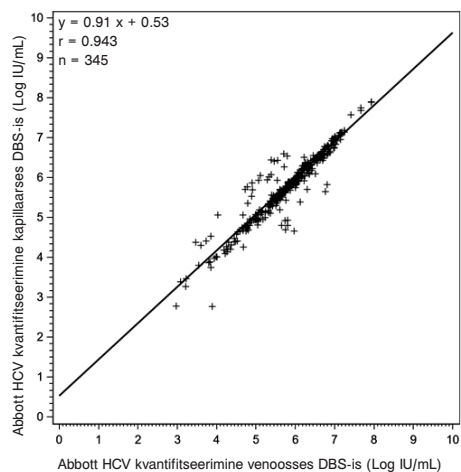
Joonis 3. Venoosne DBS ja plasma



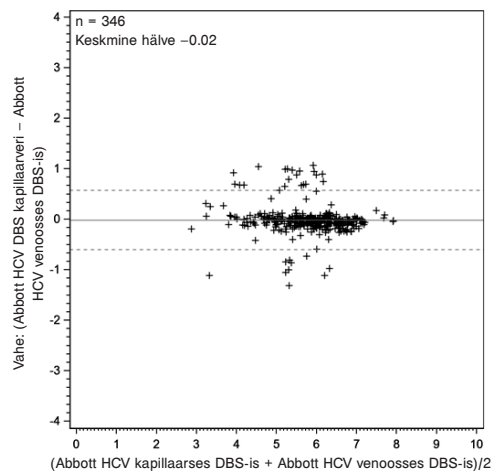
Joonis 6. Venoosne DBS vs plasma



Joonis 4. Kapillaarne DBS ja venoosne DBS



Joonis 7. Kapillaarne DBS vs venoosne DBS



BIBLIOGRAAFIA

1. Gower E, Estes C, Blach S, Razavi-Shearer K, Razavi H. Global epidemiology and genotype distribution of the hepatitis C virus infection. *J Hepatol.* 2014;61(1 Suppl):S45-S57. doi:10.1016/j.jhep.2014.07.027
2. Guidelines for the screening, care and treatment of persons with chronic hepatitis C infection. World Health Organization (WHO); updated April 2016. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/205035>
3. AASLD/IDSA HCV guidance panel. *Recommendations for testing, managing, and treating hepatitis C.* AASLD/IDSA; updated October 24, 2022. <https://www.hcvguidelines.org/>
4. European Association for the Study of the Liver. EASL Recommendations on Treatment of Hepatitis C 2018. *J Hepatol.* 2018;69(2):461-511. doi:10.1016/j.jhep.2018.03.026
5. Miller MH, Agarwal K, Austin A, et al. Review article: 2014 UK consensus guidelines - hepatitis C management and direct-acting anti-viral therapy. *Aliment Pharmacol Ther.* 2014;39(12):1363-1375. doi:10.1111/apt.12764
6. Davis GL, Esteban-Mur R, Rustgi V, et al. Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin for the treatment of relapse of chronic hepatitis C. International Hepatitis Interventional Therapy Group. *N Engl J Med.* 1998;339(21):1493-1499. doi:10.1056/NEJM199811193392102
7. Manns MP, McHutchison JG, Gordon SC, et al. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial. *Lancet.* 2001;358(9286):958-965. doi:10.1016/s0140-6736(01)06102-5
8. Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR, et al. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med.* 2002;347(13):975-982. doi:10.1056/NEJMoa020047
9. Hadziyannis SJ, Sette H Jr, Morgan TR, et al. Peginterferon-alpha2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose. *Ann Intern Med.* 2004;140(5):346-355. doi:10.7326/0003-4819-140-5-200403020-00010
10. Orlent H, Deltenre P, Francque S, et al. Update of the Belgian Association for the Study of the Liver guidelines for the treatment of chronic hepatitis C genotype 1 with protease inhibitors. *Acta Gastroenterol Belg.* 2012;75(2):245-259.
11. Halfon P, Bourlière M, Pénaranda G, Khiri H, Ouzan D. Real-time PCR assays for hepatitis C virus (HCV) RNA quantitation are adequate for clinical management of patients with chronic HCV infection. *J Clin Microbiol.* 2006;44(7):2507-2511. doi:10.1128/JCM.00163-06
12. Kowdley KV, Nelson DR, Lalezari JP, et al. On-treatment HCV RNA as a predictor of sustained virological response in HCV genotype 3-infected patients treated with daclatasvir and sofosbuvir. *Liver Int.* 2016;36(11):1611-1618. doi:10.1111/liv.13165
13. Yoshida EM, Sulkowski MS, Gane EJ, et al. Concordance of sustained virological response 4, 12, and 24 weeks post-treatment with sofosbuvir-containing regimens for hepatitis C virus. *Hepatology.* 2015;61(1):41-45. doi:10.1002/hep.27366
14. WHO Guidelines on Hepatitis B and C Testing. World Health Organization (WHO); 2017. <https://www.who.int/publications/i/item/9789241549981>
15. Saldanha J, Heath A, Aberham C, et al. World Health Organization collaborative study to establish a replacement WHO international standard for hepatitis C virus RNA nucleic acid amplification technology assays. *Vox Sang.* 2005;88(3):202-204. doi:10.1111/j.1423-0410.2005.00606.x

Märkus numbrite vormingu kohta:

- Koma või tühikut kasutatakse tuhandete eraldajana (näide: 10,000 proovi, 10 000 proovi).
- Punkti kasutatakse kümnendarvus täisarvu eraldamiseks arvu murdosast (näide: 3.12%).

TEHNILINE TUGI

Kui vajate tehnilist tuge, helistage ettevõtte Abbott tehnilisele toele numbril 1-800-553-7042 (USA piires) või +49-6122-580 (väljaspool USA-d) või külastage ettevõtte Abbott kodulehte aadressil www.molecular.abbott.

SEADME OHUTUSE JA TOIMIVUSE KOKKUVÕTE

Selle seadme ohutuse ja toimivuse kokkuvõte (Summary of Safety and Performance, SSP) on saadaval veebisaidil

<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>. SSP leiab sealt pärast Euroopa meditsiiniseadmete andmepanga otsingumootori käivitumist. Kasutage seadme otsimiseks selle ümbrispakendile märgitud UDI-DI koodi.

Analüüsi Abbott RealTime HCV impordib Euroopa Liitu Abbott Diagnostics GmbH (aadress: Max-Planck-Ring 2, 65205 Wiesbaden, Germany).



Abbott Molecular Inc.
1300 East Touhy Avenue
Des Plaines, IL 60018 USA



Abbott GmbH
Max-Planck-Ring 2
65205 Wiesbaden, Germany

© 2020, 2024 Abbott. Kõik õigused kaitstud.

51-608440/R3

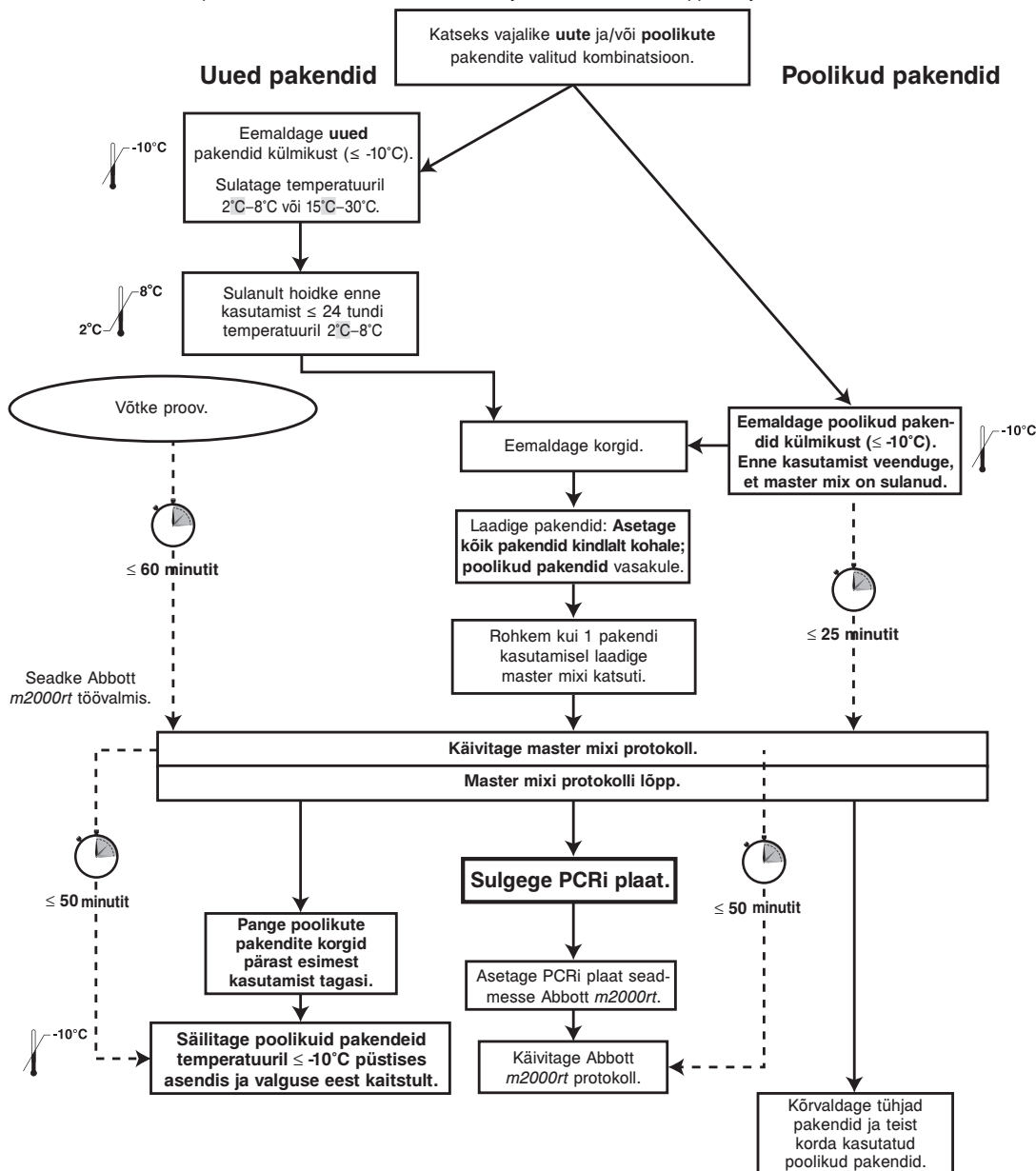
August 2024

LISA 1. ABBOTT REALTIME HCV AMPLIFIKATSIOONIREAKTIIVI LAIENDATUD KASUTUSE ÜLEVAADE

Amplifikatsioonireaktiivi laiendatud kasutuse funktsioon võimaldab kasutada amplifikatsioonireaktiivi pakki ja sisekontrolli (IC) maksimaalselt kaks korda. Amplifikatsioonireaktiivi pakki, mida pole veel kasutatud master mixi valmistamiseks, nimetatakse **uueks** amplifikatsioonireaktiivi pakiks. Amplifikatsioonireaktiivi pakki, mida on ühe korra kasutatud ja mis sisaldavad valmis master mixi, nimetatakse **osaliseks** amplifikatsioonireaktiivi pakiks. Lisateavet leiate käesolevas juhendis esitatud juhistest.

Säilitamistingimused (amplifikatsioonireaktiivi pakk (Amplification Reagent Pack) ja sisekontrolli viaalid (Internal Control Vials))		
Paki tüüp	Säilitamistemperatuur	Säilitamisaeg
Uued pakid	-10 °C või külmem	Kuni etiketil toodud kuupäevani
Uus IC	-10 °C või külmem	Kuni etiketil toodud kuupäevani
Osalist pakid	-10 °C või külmem (valguse eest kaitstuna)	Kuni 14 päeva pärast esmakasutust
Osaline IC	-10 °C või külmem	Kuni 14 päeva pärast esmakasutust

- Kui kasutate saastekontrolli protseduuriks UNG-d, vt konkreetsete juhiste saamiseks etappe 25 ja 32.



- Amplifikatsioonireaktiivi pakidel, mis sobivad pikemaks kasutamiseks, peab olema võõtkoodi kohal 6-kohaline seerianumber.
- Osalisi** amplifikatsioonireaktiivi pakke võib kasutada teist korda ainult algse kasutusega samal instrumendil. Nende kasutamisel muu instrumendiga võib tekkida töötlustõrge, mis võib käitust viivitada.
- Osalisi** ja **uusi** amplifikatsioonireaktiivi pakke võib kasutada koos. Kõigil instrumendiga analüüsimiseks kasutatavatel reaktiivpakidel peab olema sama partiinumber.