

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 04J86-10**¹ 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 Abbott RealTime HCV

	Date	Outcome
Prequalification listing	10 December 2019	listed
Dossier review	N/A	N/A
Site inspection(s) of quality management system	21 November 2019	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 WHO has been notified and has undertaken a review. Amendments to the report are summarized 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 dossier assessment section of this public report.	16 September 2024.

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 <i>m</i> 2000sp instrument	9K14-02
Abbott <i>m</i> 1000sp instrument	4J72-01
Abbott <i>m</i> 24sp instrument	3N06-01
Abbott RealTime HCV <i>m</i> 2000 ROW System Combined Application CD-ROM	1L69-07 or higher
Abbott <i>m</i> 2000sp software with version 6.0 or higher	50-148400 or higher
5 mL Reaction Vessels	General Lab material
Abbott <i>m</i> Sample 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 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.

Commitments for prequalification:

Abbott Molecular Inc. committed to including a table of the number of specimens per analyte tested for potentially interfering substances in the IFU by May 31, 2024. The amended IFU was submitted, assessed, and accepted. The commitment was closed.

Manufacturing site inspection

In accordance with the WHO procedure for abridged prequalification assessment, a desk assessment was performed in lieu of an onsite inspection. The desk assessment covered the site(s) of manufacture of Abbott RealTime HCV, as per the *“Information for manufacturers on prequalification inspection procedures for the sites of manufacture of diagnostics”* (PQDx_014 version 4).

The desk assessment found that the manufacturer had an acceptable quality management system and good manufacturing practices in place that ensured the consistent manufacture of a product of good quality.

The desk assessment was found to be acceptable on 21 November 2019 and that the quality management system for 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 $-0.05 \log_{10}$ IU/ mL (limits of agreement: -0.42 to $0.32 \log_{10}$ 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 é um teste diagnóstico de laboratório para a detecção de infecção por vírus da hepatite C (HCV) em amostras de sangue, plasma ou tecido de doadores, nem como teste de diagnóstico confirmatório da presença de infecção pelo HCV.

CONTÉÚDO:

1. **INTERNAL CONTROL** Abbott RealTime HCV Internal Control (4 frascos, 1,2 mL por frasco). <0,01% de Amorned RNA[®] (ARN protegido) não-infeccioso com sequência de controlo interno em plasma humano negativo. Plasma humano negativo testado e considerado não-reactivo para HBeAg, ADN do HBV, ARN do HCV, ARN do HIV, anticorpos anti-HIV-1/HIV-2 e anti-HCV. Conservantes: 0,1% de ProClin[®] 300 e 0,15% de ProClin[®] 950.

2. **AMPLIFICATION REAGENT PACK** Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Pack (4 pacotes, 24 testes/ pacote). Cada Reagent Pack contém:

- 1 Frasco (0,141 mL) de enzima rTth da polimerase termossensível (2,9 a 3,5 Unidades) (p) numa solução tamponada.
- 1 Frasco (1,10 mL) de reagente de oligonucleotídeos do HCV. <0,1% de oligonucleotídeos sintéticos (4 primers e 2 sondas) e <0,3% de dNTPs numa solução tamporada com um coante de referência. Conservantes: 0,1% de ProClin[®] 300 e 0,15% de ProClin[®] 950.
- 1 Frasco (0,40 mL) de solução de activação. Solução de cloreto de manganésio 30 mM. Conservantes: 0,1% de ProClin[®] 300 e 0,15% de ProClin[®] 950.

ProClin é uma marca comercial registada de Rohm and Haas. Amorned RNA é uma marca comercial registada de Ambion. Abbott RealTime é uma marca comercial de Abbott Laboratories.

Abbott RealTime é un test diagnostic de laboratoire pour la détection d'infection par le virus de la hépatite C (HCV) dans des échantillons de sang, de plasma ou de tissu de donneurs, non comme test de diagnostic confirmatoire de la présence d'infection par le virus de la hépatite C.

CONTENU :

1. **INTERNAL CONTROL** Abbott RealTime HCV Internal Control (4 flacons, 1,2 mL par flacon). <0,01% d'Amorned RNA[®] (ARN protégé) non-infectieux avec séquence de contrôle interne dans du plasma humain négatif. Plasma humain négatif testé et considéré non réactif pour HBeAg, ADN du HBV, ARN du HCV, ARN du VIH, anticorps anti-HIV-1/HIV-2 et anti-HCV. Conservateurs : 0,1% de ProClin[®] 300 et 0,15% de ProClin[®] 950.

2. **AMPLIFICATION REAGENT PACK** Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Pack (4 emballages, 24 tests/emballage). Chaque emballage contient :

- 1 flacon (0,141 mL) d'enzyme rTth polymérase thermosensible (2,9 à 3,5 Unités) (p) dans une solution tamponée.
- 1 flacon (1,10 mL) de réactif de oligonucleotides du HCV. <0,1% d'oligonucleotides synthétiques (4 primers et 2 sondes) et <0,3% de dNTPs dans une solution tamponée contenant un coadjuvant de référence. Conservateurs : 0,1% de ProClin[®] 300 et 0,15% de ProClin[®] 950.
- 1 flacon (0,40 mL) de solution d'activation. Solution de chlorure de manganèse 30 mM. Conservateurs : 0,1% de ProClin[®] 300 et 0,15% de ProClin[®] 950.

ProClin est une marque commerciale de Rohm and Haas. Amorned RNA est une marque commerciale de Ambion. Abbott RealTime est une marque commerciale de Abbott Laboratories.



Abbott RealTime HCV

(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:

- INTERNAL CONTROL** Abbott RealTime HCV Internal Control (4 vials, 1.2 mL per vial). <0.01% noninfectious Amorned RNA[®] with internal control sequence in negative human plasma. Negative human plasma tested and found to be nonreactive for HBeAg, HBV DNA, HCV RNA, HIV RNA, anti-HIV-1/HIV-2, and anti-HCV Preservatives: 0.1% ProClin[®] 300 and 0.15% ProClin 950.
- 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/L) 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. Amorned RNA is a registered trademark of Ambion. Abbott RealTime is a trademark of Abbott Laboratories.

Abbott RealTime HCV

(4x24 Tests)



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



REF



IVD



i



1434



10°C

51-602125/R5



GTIN



LOT



REF



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



Abbott RealTime HCV

(pt) Para utilização *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 da hepatite C (ARN do HCV) de amostras de plasma e soro de indivíduos infectados pelo vírus da hepatite C (VHC). O ensaio Abbott RealTime HCV não se destina a ser utilizado para o rastreio do HCV em amostras de sangue, plasma, soro ou tecido de doadores, nem como teste de diagnóstico confirmatório da presença de infecção pelo HCV.

Conteúdo:

- INTERNAL CONTROL** Abbott RealTime HCV Internal Control (4 frascos, 1,2 mL por frasco). <0,01% de Amorned RNA[®] (ARN protegido) não-infeccioso com sequência de controlo interno em plasma humano negativo. Plasma humano negativo testado e considerado não-reactivo para HBeAg, ADN do HBV, ARN do HCV, ARN do HIV, anticorpos anti-HIV-1/HIV-2 e anti-HCV. Conservantes: 0,1% de ProClin[®] 300 e 0,15% de ProClin[®] 950.
- 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 (Rt) da polimerase termossensível (2,9 a 3,5 Unidades) (p) numa solução tamponada.
 - 1 Frasco (1,10 mL) de reagente de oligonucleotídeos do HCV. <0,1% de oligonucleotídeos sintéticos (4 primers e 2 sondas) e <0,3% de dNTPs numa solução tamponada com um coante de referência. Conservantes: 0,1% de ProClin[®] 300 e 0,15% de ProClin[®] 950.
 - 1 Frasco (0,40 mL) de reagente de activação. Solução de cloreto de manganésio 30 mM. Conservantes: 0,1% de ProClin[®] 300 e 0,15% de ProClin[®] 950.

ProClin é uma marca comercial registada de Rohm and Haas. Amorned RNA é uma marca comercial registada de Ambion. Abbott RealTime é uma marca comercial de Abbott Laboratories.

Abbott RealTime HCV

(4x24 Tests)



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



REF



IVD



i



1434



10°C

51-602125/R5



GTIN



LOT



REF

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

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

Abbott

Product of USA / Produkt aus USA / Produit des Etats-Unis /
Producto de EE.UU. / Prodotto negli USA / Fabricado nos EUA

1.1.1 Amplification reagent label



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

Abbott RealTime HCV

(en) For *In Vitro* Diagnostic 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.

Conteúdo:

1. **CONTROL** Abbott RealTime HCV Negative Control (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** Abbott RealTime HCV Low Positive Control (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** Abbott RealTime HCV High Positive Control (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.

ProClin is a registered trademark of Rohm and Haas.
Armored RNA is a trademark of Ambion.
Abbott RealTime is a trademark of Abbott Laboratories.



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

Abbott RealTime HCV

(pt) Para utilização *in vitro*. Os Abbott RealTime HCV Controls são utilizados para estabelecer a validade do ensaio Abbott RealTime HCV quando utilizado para a quantificação do ARN do vírus da hepatite C (HCV) em soro e plasma humanos de indivíduos infectados pelo HCV.

Conteúdo:

1. **CONTROL** Abbott RealTime HCV Negative Control (8 frascos, 1,8 mL por frasco). Plasma humano negativo testado e considerado não-reativo para HBSAg, anti-HBc, ARN do HCV, ARN do HBV, anticorpos anti-HIV-1/HIV-2 e anti-HCV. Conservantes: 0,1% de ProClin® 300 e 0,15% de ProClin 950.
2. **CONTROL** Abbott RealTime HCV Low Positive Control (8 frascos, 1,3 mL por frasco). Armored RNA® (ARN protegido) não-infeccioso com sequências de HCV 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: 0,1% de ProClin 300 e 0,15% de ProClin 950.
3. **CONTROL** Abbott RealTime HCV High Positive Control (8 frascos, 1,3 mL por frasco). ARN protegido não-infeccioso com sequências de HCV em plasma humano negativo. Plasma humano negativo testado e considerado não-reativo para HBSAg, ADN do HBV, ARN do HIV, anticorpos anti-HIV-1/HIV-2 e anti-HCV. Conservantes: 0,1% de ProClin 300 e 0,15% de ProClin 950.

ProClin é uma marca comercial registrada de Rohm and Haas.
Armored RNA é uma marca comercial de Ambion.
Abbott RealTime é uma marca comercial de Abbott Laboratories.



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



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



(de) *In-vitro*-Diagnostikum. Die Abbott RealTime HCV Kontrollen dienen zur Herstellung der Testgültigkeit des Abbott RealTime HCV Assays bei der quantitativen Bestimmung von Hepatitis-C-virus-Ribonukleinsäure (HCV-RNA) in Humanum und -plasma von ProClin ist ein eingetragenes Warenzeichen von Rohm und Haas.
Armored RNA ist ein Warenzeichen von Ambion.
Abbott RealTime ist ein Warenzeichen von Abbott Laboratories.
(fr) Pour diagnostic *in vitro*. Les contrôles Abbott RealTime HCV sont utilisés pour établir la validité des analyses effectuées avec le réactif Abbott RealTime HCV lors de la mesure quantitative de l'ARN du virus de l'hépatite C (HVC) dans le sérum ou le plasma d'individus infectés par le VHC.
Continu :
1. **CONTROL** Contrôle négatif Abbott RealTime HCV (8 flacons de 1,8 ml par flacon). Le plasma humain négatif a été testé et trouvé non réactif pour l'AgHBs, l'ARN VHB, l'ARN VHC, l'ARN VIH et pour les anticorps anti-HIV-1/-HIV-2 et anti-VHC. Conservateurs : ProClin® 300 à 0,1 % et ProClin 950 à 0,15 %.
2. **CONTROL** Contrôle positif bas Abbott RealTime HCV (8 flacons de 1,3 ml chacun). Armored RNA® non infectueux comprenant des séquences VHC dans du plasma humain négatif. Le plasma humain négatif a été testé et trouvé non réactif pour l'AgHBs, l'ARN VHB, l'ARN VHC, l'ARN VIH et pour les anticorps anti-HIV-1/-HIV-2 et anti-VHC. Conservateurs : ProClin® 300 à 0,1 % et ProClin 950 à 0,15 %.
3. **CONTROL** Contrôle positif haut Abbott RealTime HCV (8 flacons de 1,3 ml chacun). ARN protégé non infectueux comprenant des séquences VHC dans du plasma humain négatif. Le plasma humain négatif a été testé et trouvé non réactif pour l'AgHBs, l'ARN VHB, l'ARN VHC, l'ARN VIH et pour les anticorps anti-HIV-1/-HIV-2 et anti-VHC. Conservateurs : ProClin® 300 à 0,1 % et ProClin 950 à 0,15 %.
ProClin ist ein eingetragenes Warenzeichen von Rohm und Haas.
Armored RNA ist ein Warenzeichen von Ambion.
Abbott RealTime ist ein Warenzeichen von Abbott Laboratories.
(en) For *In vitro* Diagnostic 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.
Continu :
1. **CONTROL** Control negative Abbott RealTime HCV (8 bottles of 1.8 mL per bottle). 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** Control positive low Abbott RealTime HCV (8 bottles of 1.3 mL per bottle). 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** Control positive high Abbott RealTime HCV (8 bottles of 1.3 mL per bottle). 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.
ProClin is a registered trademark of Rohm and Haas.
Armored RNA is a trademark of Ambion.
Abbott RealTime is a trademark of Abbott Laboratories.

Control Kit



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

REF 4J86-80

IVD



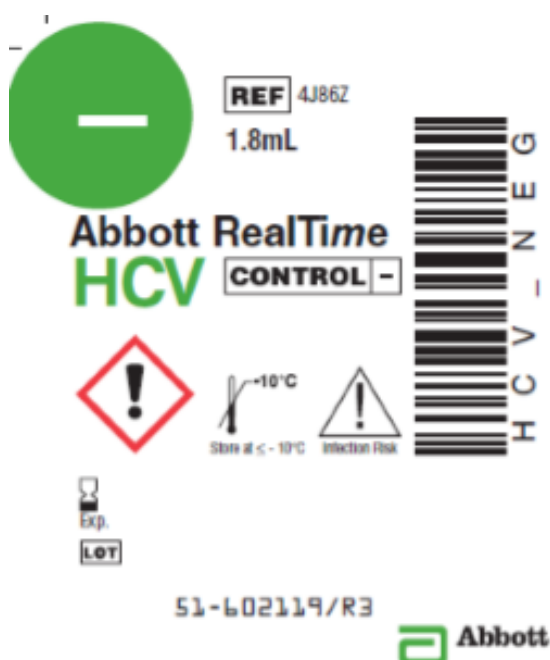
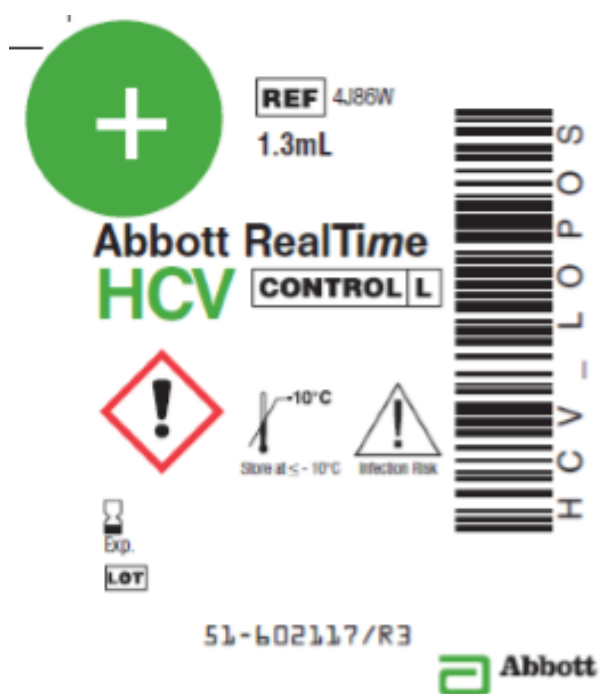
51-602120/R5

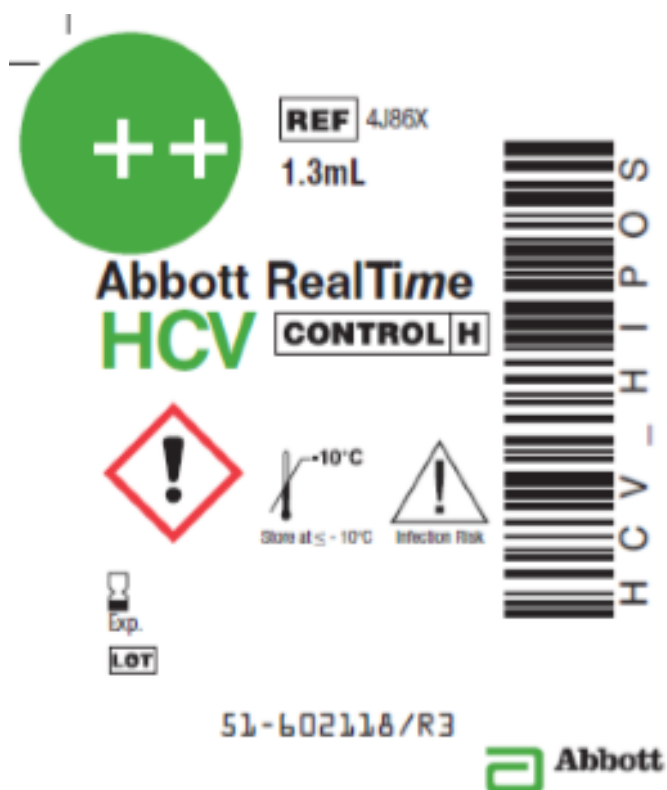
GTIN

LOT



REF

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)**

Abbott RealTime HCV est une marque déposée de Abbott Laboratories.
Armored RNA est une marque commerciale enregistrée d'Abbott Laboratories.
ProCin est une marque déposée de Rohm and Haas.

2. **CAL B** Calibratore B Abbott RealTime HCV (12 provette, 1,3 ml per provetta). Armored RNA non infettivo con sequenze di HCV in plasma umano negativo testato e considerato non reattivo per HBSAg, HBV DNA, HCV RNA, HIV RNA, anti-HIV-1/HIV-2 e anti-HCV. Conservantes: 0,1% di ProCin 300 e 0,15% di ProCin 950.

1. **CAL A** Calibratore A Abbott RealTime HCV (12 provette, 1,3 ml per provetta). Armored RNA non infettivo con sequenze di HCV in plasma umano negativo testato e considerato non reattivo per HBSAg, HBV DNA, HCV RNA, HIV RNA, anti-HIV-1/HIV-2 e anti-HCV. Conservantes: 0,1% di ProCin 300 e 0,15% di ProCin 950.

Contenuto:
Armored RNA è un marchio commerciale registrato di Ambion.
Abbott RealTime HCV per la determinazione quantitativa dell'RNA del virus dell'epatite C (HCV) in campioni di siero e plasma umano prelevati dai soggetti con infezione da HCV.

(f) Per uso diagnostico *in vitro*. I calibratori Abbott RealTime HCV vengono utilizzati per la calibrazione del dosaggio Abbott RealTime HCV per la determinazione quantitativa dell'RNA del virus dell'epatite C (HCV) in campioni di siero e plasma.

Abbott RealTime HCV è una marca commerciale registrata di Abbott Laboratories.
Armored RNA è una marca commerciale registrata di Ambion.
ProCin è una marca commerciale registrata di Rohm and Haas.

2. **CAL B** Calibratore B Abbott RealTime HCV (12 tubos de 1,3 ml cada uno). Armored RNA no infeccioso com sequências de HCV em 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: 0,1% de ProCin 300 e 0,15% de ProCin 950.

1. **CAL A** Calibratore A Abbott RealTime HCV (12 tubos de 1,3 ml cada uno). Armored RNA no infeccioso com sequências de HCV em 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: 0,1% de ProCin 300 e 0,15% de ProCin 950.

Conteúdo:
Armored RNA é uma marca comercial registrada de Ambion.
Abbott RealTime HCV en la determinación cuantitativa del RNA del virus de la hepatitis C (HVC) en suero y plasma humano de individuos infectados con el HVC.

(g) Para uso diagnóstico *in vitro*. Los calibradores Abbott RealTime HCV se usan para la calibración del ensayo Abbott RealTime HCV en la determinación cuantitativa del RNA del virus de la hepatitis C (HVC) en suero y plasma humano de individuos infectados con el HVC.

Abbott RealTime HCV est une marque déposée de Abbott Laboratories.
Armored RNA est une marque commerciale enregistrée d'Abbott Laboratories.
ProCin est une marque déposée de Rohm and Haas.

2. **CAL B** Calibrateur B Abbott RealTime HCV (12 racons de 1,3 ml chacun). Armored RNA non infectieux avec des séquences de HCV dans du plasma humain négatif et considéré non réactif pour l'HBsAg, l'ADN du VHB, l'ARN du VIH, les anticorps anti-VIH-1/VIH-2 et anti-HCV. Conservateurs : ProCin 300 à 0,1 % et ProCin 950 à 0,15 %.

1. **CAL A** Calibrateur A Abbott RealTime HCV (12 racons de 1,3 ml chacun). Armored RNA non infectieux avec des séquences de HCV dans du plasma humain négatif et considéré non réactif pour l'HBsAg, l'ADN du VHB, l'ARN du VIH, les anticorps anti-VIH-1/VIH-2 et anti-HCV. Conservateurs : ProCin 300 à 0,1 % et ProCin 950 à 0,15 %.

Contenu :
Armored RNA est une marque commerciale enregistrée d'Abbott Laboratories.
Abbott RealTime HCV est une marque déposée de Abbott Laboratories.
ProCin est une marque déposée de Rohm and Haas.

(f) Pour diagnostic *in vitro*. Les calibrateurs Abbott RealTime HCV sont utilisés pour la calibration du dosage Abbott RealTime HCV lors de la mesure quantitative de l'ARN du virus de l'hépatite C (HCV) dans du sérum ou du plasma d'individus infectés par le VHC.

Abbott RealTime HCV est ein eingetragenes Warenzeichen von Ambion.
Armored RNA ist ein eingetragenes Warenzeichen von Rohm und Haas.
ProCin ist ein eingetragenes Warenzeichen von Rohm und Haas.

2. **CAL B** Abbott RealTime HCV Kalibrator B (12 Flaschen, 1,3 ml pro Flasche). Nicht infektiöse HCV-Sequenzen in negativem Humanplasma. Negatives Humanplasma wurde getestet und war nicht reaktiv für HBsAg, HBV DNA, HCV RNA, HIV RNA, anti-HIV-1/-HIV-2 und anti-HCV.

1. **CAL A** Abbott RealTime HCV Kalibrator A (12 Flaschen, 1,3 ml pro Flasche). Nicht infektiöse HCV-Sequenzen in negativem Humanplasma. Negatives Humanplasma wurde getestet und war nicht reaktiv für HBsAg, HBV DNA, HCV RNA, HIV RNA, anti-HIV-1/-HIV-2 und anti-HCV.

Infekt:
Armored RNA ist ein eingetragenes Warenzeichen von Ambion.
Abbott RealTime HCV ist ein eingetragenes Warenzeichen von Rohm und Haas.

(g) *In-vitro*-Diagnostik. Die Abbott RealTime HCV Kalibratoren dienen zur Kalibrierung des Abbott RealTime HCV Assays bei der quantitativen Bestimmung von Hepatitis-C-viraler Ribonukleinsäure (HCV RNA) in Humanserum und -plasma von HIV-Infizierten Personen.

Abbott RealTime HCV

(en) For *In Vitro* Diagnostic 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.

Contents:

- CAL A** Abbott RealTime HCV Calibrator A (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% ProCin[®] 300 and 0.15% ProCin 950.
- CAL B** Abbott RealTime HCV Calibrator B (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% ProCin 300 and 0.15% ProCin 950.

ProCin is a registered trademark of Rohm and Haas.
Armored RNA is a registered trademark of Ambion.
Abbott RealTime is a trademark of Abbott Laboratories.

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

REF 4J86-70

IVD

1434

-10°C

51-602115R/5

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

GTIN

LOT

REF

Abbott RealTime HCV

(pt) Para utilização *in vitro*. Os Abbott RealTime HCV Calibrators destinam-se à calibração do ensaio Abbott RealTime HCV, quando utilizado para a determinação quantitativa do ARN do vírus da hepatite C (HCV) em soro e plasma humanos de indivíduos infectados pelo HCV.

Conteúdo:

- CAL A** Abbott RealTime HCV Calibrator A (12 frascos, 1,3 ml por frasco). Armored RNA[®] (ARN protegido) não-infeccioso com sequências de HCV 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: 0,1% de ProCin 300 e 0,15% de ProCin 950.
- CAL B** Abbott RealTime HCV Calibrator B (12 frascos, 1,3 ml por frasco). ARN protegido não-infeccioso com sequências de HCV 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: 0,1% de ProCin 300 e 0,15% de ProCin 950.

ProCin é uma marca comercial registrada de Rohm and Haas.
Armored RNA é uma marca comercial registrada de Ambion.
Abbott RealTime é uma marca comercial de Abbott Laboratories.

Calibrator Kit

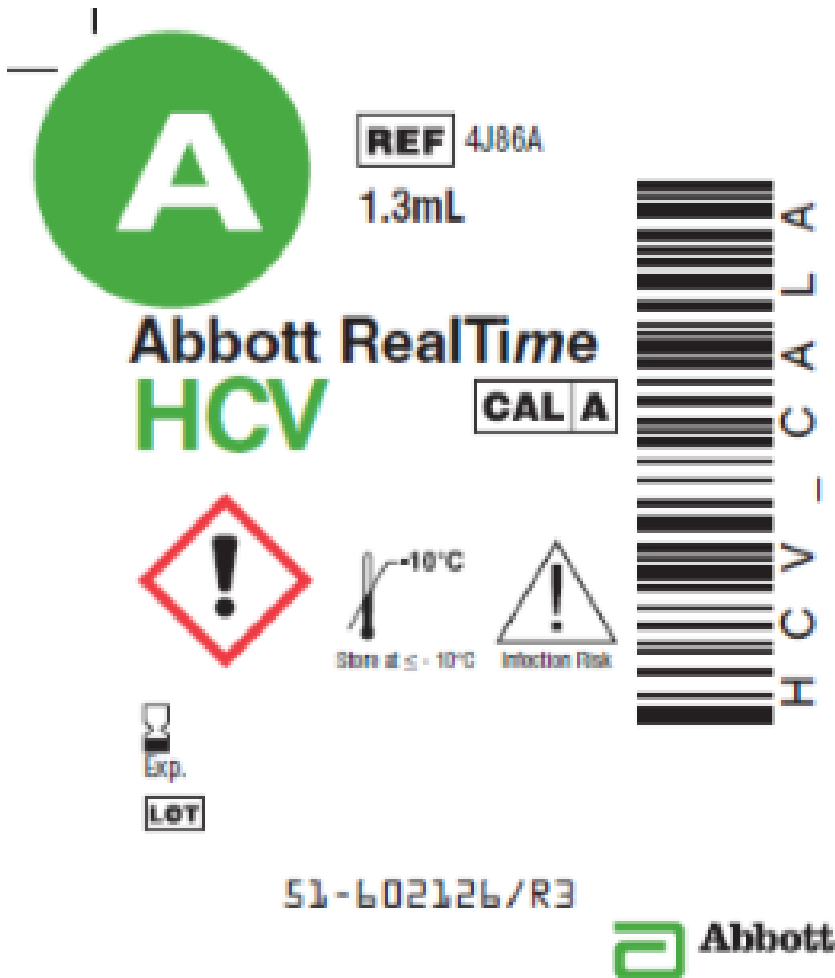
Product of USA / Produkt aus USA / Produit aus Etats-Unis / Producto de EE.UU. / Prodotto degli USA / Fabricado nos EUA

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

www.abbottmolecular.com

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

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.

REF 4J86

51-602124/R13

REF 4J86

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.

14. Seal the Abbott 96-Well Optical Reaction Plate according to the instructions in the Abbott *m2000rt* Operations Manual.
15. 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 5000g for 5 minutes. Transfer to the Amplification Area.

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

Amplification Area

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.

POST PROCESSING PROCEDURES

1. Clean the PCR cooler as described in the PCR cooler instruction manual and return to the Reagent Preparation Area.
2. 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.
3. Clean the Splash-Free Support Base before next use, according to the Abbott *m2000rt* Operations Manual.
4. 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.

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.

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.

3. 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.
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 *m*Lysis Buffer. Mix by gently inverting the container 5 to 10 times to minimize foaming.

6. **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 2,000g 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.
7. Place the low and high positive controls, the negative control, the calibrators, if applicable, and the patient specimens into the Abbott *m2000sp* sample rack.
 8. Place the 5 mL Reaction Vessels into the Abbott *m2000sp* 1 mL subsystem carrier.
 9. 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.
 10. 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.

11. 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.
12. 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

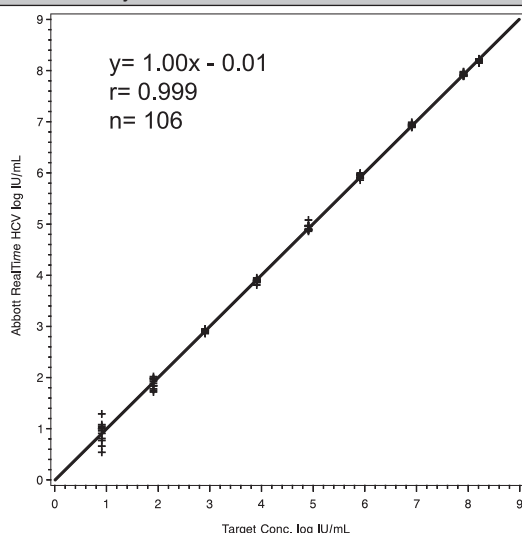
^a One sample was inhibited and was excluded from the data analysis.

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).

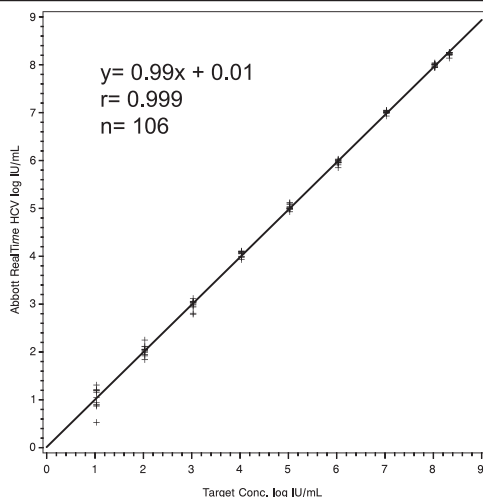
Linear Range

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

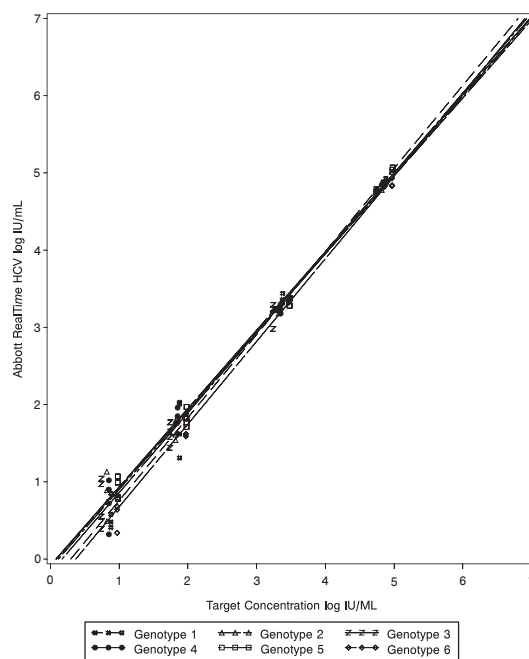
Microorganism / Virus	Microorganism / Virus
Human immunodeficiency virus 1	Vaccinia virus
Human immunodeficiency virus 2	BK human polyomavirus
Human T-lymphotropic virus 1	Human papilloma virus 16
Hepatitis B virus	Human papilloma virus 18
Epstein-Barr virus	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
Herpes simplex 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

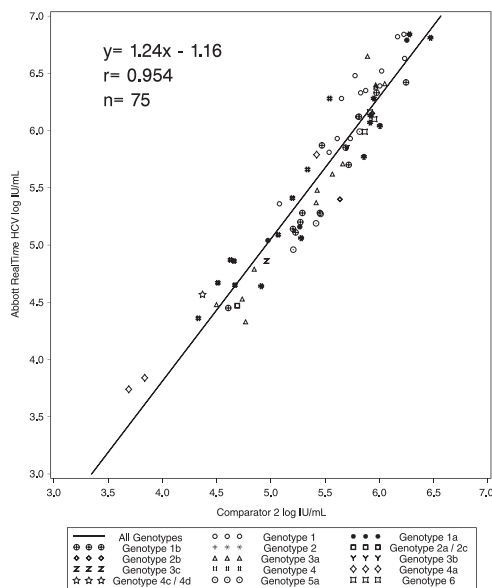


In the second study, a total of 75 specimens representative of each genotype were tested with the Abbott RealTime HCV assay. The results are summarized in Table 8. The correlation between the Abbott RealTime HCV assay results and those of a comparator assay is shown in Figure 4. Method comparison analysis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

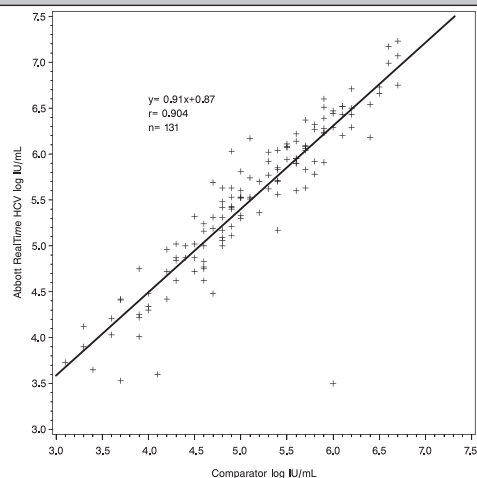
Table 9. HCV Genotype Transcript Quantitation

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

HCV Calibrators

NOTE: Changes Highlighted

Key to Symbols Used	
REF	List Number
IVD	In Vitro Diagnostic Medical Device
LOT	Lot Number
	Expiration Date
CAL A	Calibrator (A - B)
	Store at $\leq -10^{\circ}\text{C}$
	Consult instructions for use
	Warning
	CAUTION: Handle human sourced materials as potentially infectious. Consult instructions for use. (Infection Risk)
EC/REP	Authorized Representative
	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 and healthcare 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-A3,⁴ 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—Third Edition*. CLSI Document M29-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2005.
5. World Health Organization. *Laboratory Biosafety Manual*. 3rd ed. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2004.

Technical Assistance

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

Armored RNA is a registered trademark of Ambion.

ProClin is a registered trademark of Rohm and Haas.

Abbott RealTime is a trademark of Abbott Laboratories.

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.
Des Plaines, IL 60018 USA



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

www.abbottmolecular.com

©2005, 2020 Abbott. All Rights Reserved.

June 2020

HCV Controls

NOTE: Changes Highlighted

Key to Symbols Used	
REF	List Number
IVD	In Vitro Diagnostic Medical Device
LOT	Lot Number
CONTROL -	Negative Control
CONTROL L	Positive Control Low
CONTROL H	Positive Control High
 -10°C	Store at ≤ -10°C
	Warning
	Consult instructions for use
	CAUTION: Handle human sourced materials as potentially infectious. Consult instructions for use. (Infection Risk)
EC REP	Authorized Representative
	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 and healthcare 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-A3,³ 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—Third Edition*. CLSI Document M29-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2005.
4. World Health Organization. *Laboratory Biosafety Manual*. 3rd ed. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2004.

Technical Assistance

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

Armored RNA is a registered trademark of Ambion.

ProClin is a registered trademark of Rohm and Haas.

Abbott RealTime is a trademark of Abbott Laboratories.

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.
Des Plaines, IL 60018 USA



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

www.abbottmolecular.com

© 2005, 2020 Abbott. All Rights Reserved.

June 2020

Abbott RealTime HCV

Supplement for Dried Blood Spot (DBS)

en

GTIN

REF

04J86-010

IVD

REF 04J86-010

51-608440/R1

51-608440/R1

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 Limitation

EC REP

Authorized Representative in the European Community



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 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 and healthcare 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 m2000sp system. Following the pre-analytical DBS treatment, all subsequent steps are executed automatically by the m2000sp and 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. RealTime HCV assay for DBS only uses *m2000sp* and *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 1L69-040 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. 9K14-01, 9K14-02)
- 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. 1L69-040 or higher)
- m2000 System 13mm DBS-PoS Set (List No. 09N03-001)
- 1.4 mL Micro Vial 15mm Caps (List No. 3N20-01) 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. 1L69-040 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

^b**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 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 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. A negative control, a low positive control, and a 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 mDBS buffer from the Abbott mSample Preparation system DBS Buffer Kit (List No. 09N02-001).

NOTE: Do not use mLysis 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 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 a 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 mDBS 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
mMicroparticles	1 bottle	2 bottles	2 bottles	2 bottles
mLysis	1 bottle	2 bottles	3 bottles	4 bottles
mWash 1	1 bottle	2 bottles	3 bottles	4 bottles
mWash 2	1 bottle	2 bottles	3 bottles	4 bottles
mElution 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 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.
 - 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 mLysis 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 m2000sp sample racks.
 - After the incubation is complete, manually shake or swirl the DBS sample tubes and then place them into the Abbott m2000sp sample racks.
- NOTE: Ensure that the Abbott m2000sp 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 m2000sp 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 m2000sp 1 mL subsystem carrier.
 - Load the Abbott mSample 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 section.
 - From the Protocol screen, select the HCV RNA DBS application file. Initiate the sample extraction protocol as described in the Abbott m2000sp Operations Manual, Operating Instruction section.

- 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 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 m2000sp 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 m2000sp 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 m2000sp 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 m2000sp 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 *m2000sp* and *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 *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)

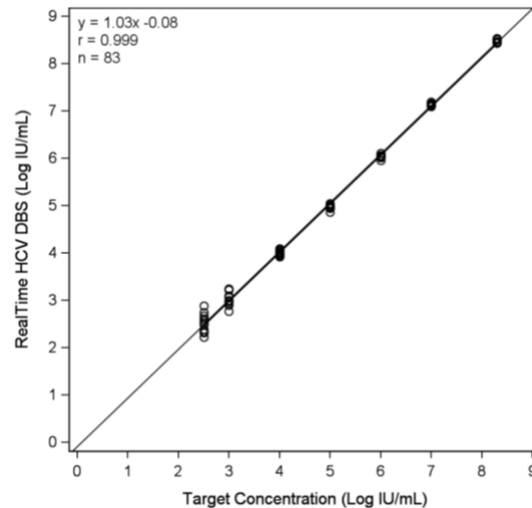
HCV RNA (IU/mL)	Number Tested	Number Detected	Percent Detected
500	84	83	99
400	84	80	95
350	84	75	89
300	84	73	87
150	84	54	64
50	84	26	31

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 *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 LOD. 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 ULOQ) were 0.12 Log IU/mL and 0.14 Log IU/mL respectively, and for Panel Member 6 (near ULOQ) 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 ULOQ target levels. In addition, predicted bias between DBS Venous and Plasma was evaluated at LLOQ and ULOQ 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 ULOQ

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

Figure 2. DBS Capillary and Plasma

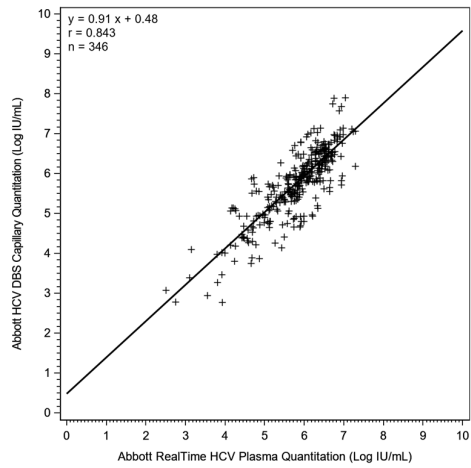


Figure 5. DBS Capillary Versus Plasma

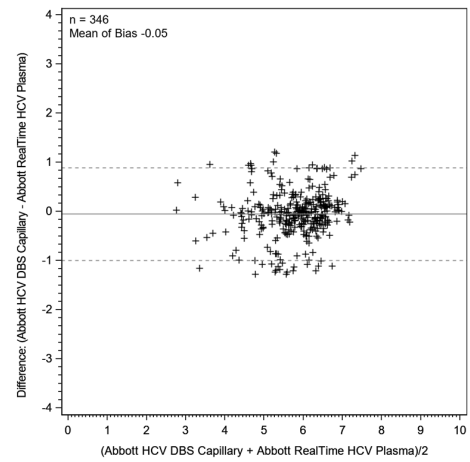


Figure 3. DBS Venous and Plasma

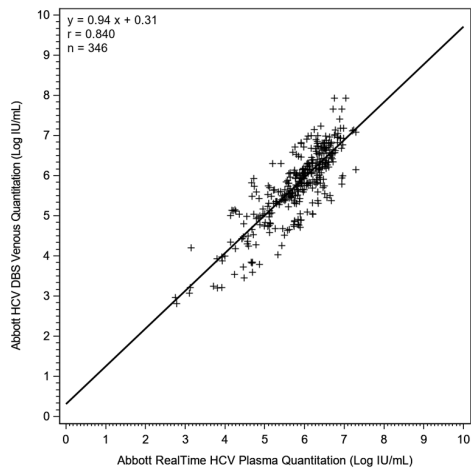


Figure 6. DBS Venous Versus Plasma

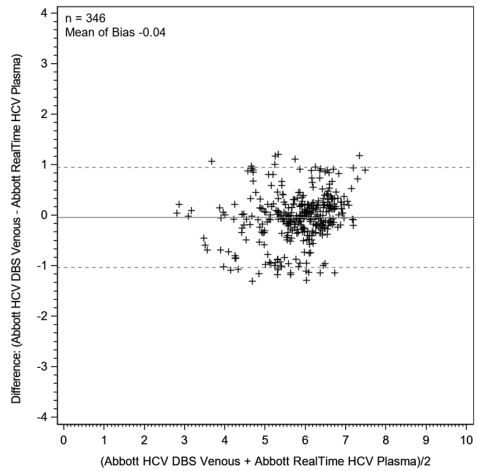


Figure 4. DBS Capillary and DBS Venous

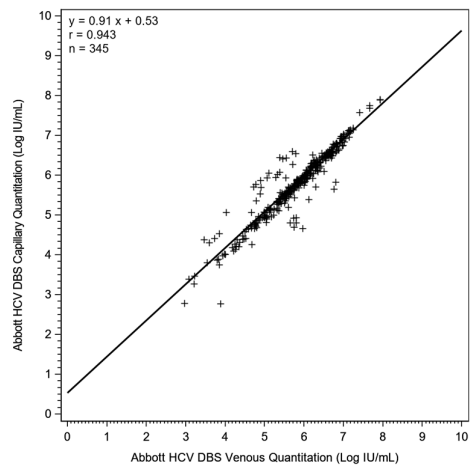
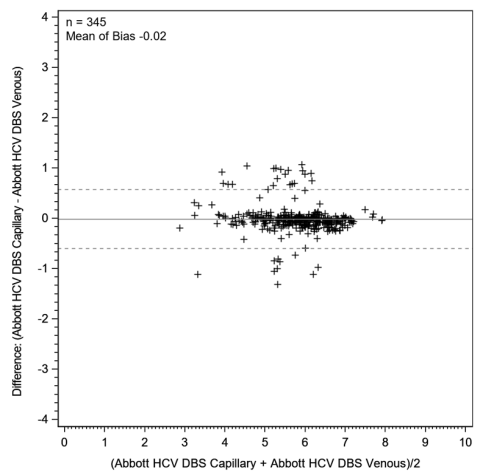


Figure 7. DBS Capillary Versus DBS Venous



BIBLIOGRAPHY

1. Gower E, Estes C, Blach S, et al. Global epidemiology and genotype distribution of the hepatitis C virus infection. *J Hepatol*. 2014; 61(1):S45-S57.
2. World Health Organization Updated Version April 2016: Guidelines for the screening, care and treatment of persons with hepatitis C infection. <http://www.who.int/hepatitis/publications/hepatitis-c-guidelines-2016/en/>.
3. AASLD/IDSA Recommendations for testing, managing and treating hepatitis C, revised April, 2017. www.hcvguidelines.org.
4. European Association of the Study of the Liver. Recommendation on Treatment of Hepatitis C 2018. *J. Hepatology* (2018).
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;39:1363-75.
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. *N Engl J Med* 1998;339(21):1493-9.
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):958-65.
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):975-82.
9. Hadziyannis SJ, Sette H Jr., Morgan TR, et al. Peginterferon-[alpha]2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose. *Ann Intern Med* 2004;140(5):346-55.
10. Orlent H, Deltenre P, Francque S, et al. Update of the Belgian Association for the Study of Liver Guidelines for the Treatment of Chronic Hepatitis C Genotype 1 with Protease Inhibitors. *Acta Gastro-Enterologica Belgica* 2012;LXXV:245-259.
11. Halfon P, Bourliere M, Penaranda G, Khiri H, and OuzinD. Real-time PCR assays for hepatitis C virus (HCV) RNA quantitation are adequate for clinical management of patients with chronic HCV infection. *J. Clin Microbiology* 2006;44(7): 2507-2511.
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):1611-8.
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):41-5.
14. WHO guidelines on hepatitis B and C testing. Geneva: World Health Organization; 2017.
15. Saldanha J, Heath A., 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 Sanguinis* 2005 Apr; 88 (3):202-204.

TECHNICAL ASSISTANCE

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

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 Abbott. All Rights Reserved.

www.abbottmolecular.com

51-608440/R1

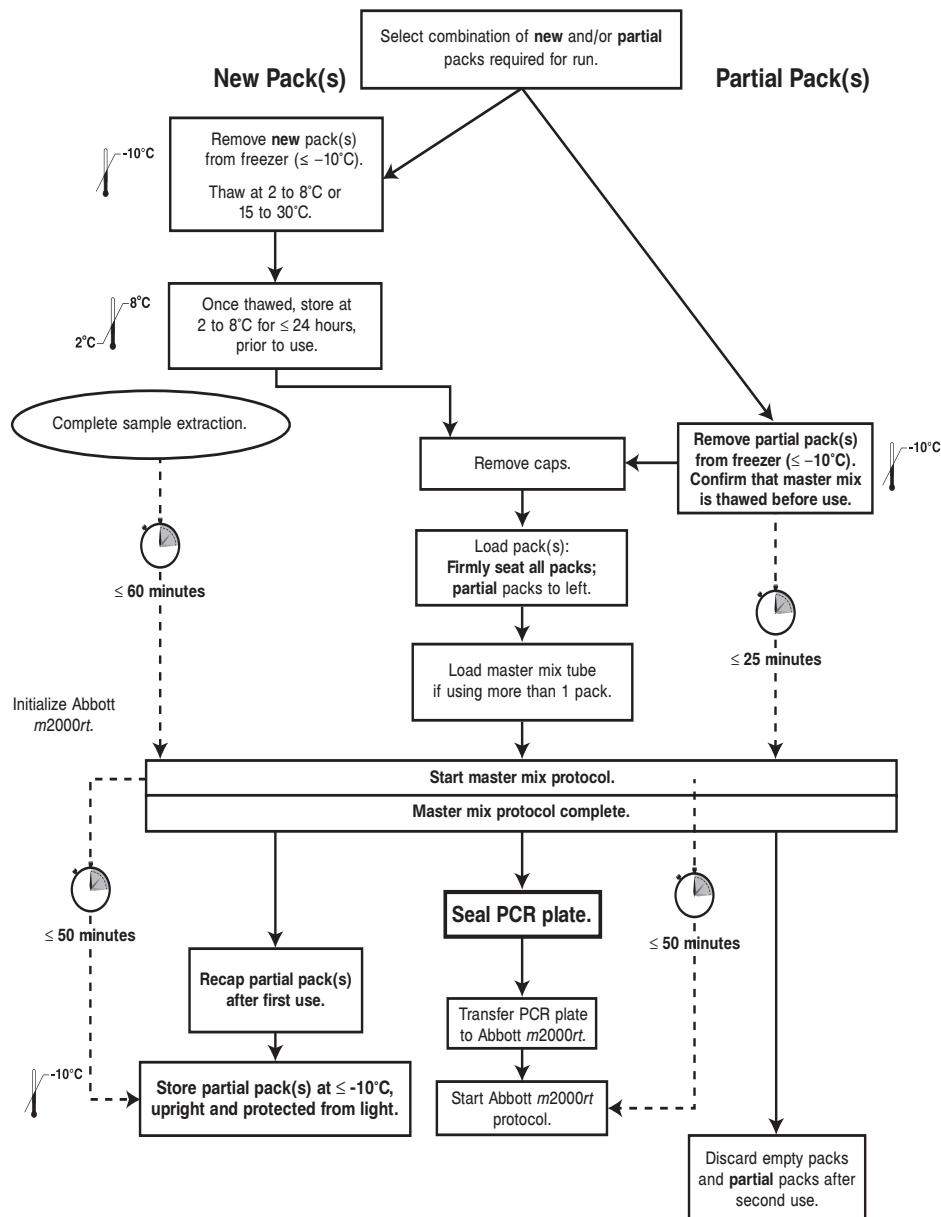
July 2020

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/R1

REF 04J86-010

51-608440/R1

Erläuterung der verwendeten Symbole	
	Global Trade Item Number
	Referenznummer
	In-vitro-Diagnostikum
	Maximal zulässige Zeit
	Oberer Temperaturgrenzwert
	Temperaturgrenze
	Bevollmächtigter in der Europäischen Gemeinschaft
	Hersteller

KUNDENDIENST INTERNATIONAL: WENDEN SIE SICH 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 (Listennr. 4J86), speziell geeignet für den Probentyp Dried Blood Spot (DBS, Trockenblutproben).

HINWEIS FÜR BENUTZER

Wenn in Bezug auf dieses Produkt ein schwerwiegender Vorfall auftritt, muss dieser dem Hersteller und der zuständigen Behörde des Mitgliedsstaats gemeldet werden, in dem der Benutzer und/oder Patient ansässig ist. Zum Melden eines solchen Vorfalls an den Hersteller sind die Kontaktinformationen im Abschnitt zur technischen Unterstützung in dieser Anweisung zu nutzen.

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 aufbracht 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 weder zur HCV-Untersuchung von Blut-, Plasma-, Serum- oder Gewebespindern noch als Diagnostikum für den Nachweis einer HCV-Infektion vorgesehen.

VORGESEHENE BENUTZER

Die vorgesehenen Benutzer des Abbott RealTime HCV-Assays sind Labormitarbeiter und medizinisches Fachpersonal.

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 Richtlinien 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 (IU/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 Erstellung von Ergebnisberichten. Die präanalytische DBS-Behandlung wird mit dem Abbott mSample Preparation System DBS Buffer Kit durchgeführt, bevor die Probe in das m2000sp System geladen wird. Nach der präanalytischen DBS-Behandlung werden alle nachfolgenden Schritte automatisch von den Systemen m2000sp und m2000rt ausgeführt.

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

REAGENZIEN

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

WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

IVD

In-vitro-Diagnostikum

Der Abbott RealTime HCV-Assay ist weder zur HCV-Untersuchung von Blut-, Plasma-, Serum- oder Gewebespendern noch als Diagnostikum für den Nachweis einer HCV-Infektion vorgesehen.

SICHERHEITSVORKEHRUNGEN

Siehe Packungsbeilage des Abbott RealTime HCV-Assays (Listennr. 4J86). Der RealTime HCV-Assay für DBS verwendet nur die Geräte *m2000sp* und *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 **PROBENGEWINNUNG, LAGERUNG UND TRANSPORT ZUM TESTSTANDORT** beschrieben behandelt und gelagert wurden.

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

Kontamination durch Aerosole

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

Kontamination und Hemmung

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

Kontamination durch externe dU-(Desoxy-Uridin)haltige Amplifikationsprodukte

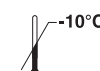
Labore, die HCV-Amplifikationsassays verwenden oder verwendet haben, die die post-PCR-Verarbeitung des amplifizierten Produkts beinhalten, sind möglicherweise durch dU-haltige Amplifikationsprodukte kontaminiert. Eine derartige Kontamination kann zu ungenauen Ergebnissen im Abbott RealTime HCV-Assay für DBS führen. Weitere Informationen finden Sie im Abschnitt **Kontaminationsüberprüfung im Labor** in der Packungsbeilage des Abbott RealTime HCV-Assays (Listennr. 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 (Listennr. 4J86-90)

- 
- **Neue** und **partielle** Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Packs und Internal Control(IC)-Fläschchen müssen bei -10 °C oder kälter gelagert werden, wenn sie nicht verwendet werden. Es ist darauf zu achten, dass Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Pack, das 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 (Listennr. 4J86-80)

- 
- Die Abbott RealTime HCV Negative und Positive Controls müssen bei -10 °C oder kälter gelagert werden.

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

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

VERSANDBEDINGUNGEN

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

ANZEICHEN AUF INSTABILITÄT ODER VERSCHLECHTERUNG DER REAGENZIEN

Siehe Packungsbeilage des Abbott RealTime HCV-Assays (Listennr. 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 (Listennr. 1L69-040 oder höher). Detaillierte Informationen zur Installation von Anwendungsdateien finden Sie in den Abbott *m2000sp* und Abbott *m2000rt* Operations Manuals, Kapitel Anweisungen zur Bedienung.

PROBENGEWINNUNG, LAGERUNG UND TRANSPORT ZUM TESTSTANDORT

Probengewinnung 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

Zustand	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 **Probengewinnung 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 (Listennr. 4J86-90)
- Abbott RealTime HCV Calibrator Kit (Listennr. 4J86-70)
- Abbott RealTime HCV Control Kit (Listennr. 4J86-80)

Für den Probenvorbereitungsbereich des Abbott *m2000sp* Geräts

- Abbott *mSample* Preparation System DBS Buffer Kit (Listennr. 09N02-001)
- Abbott *m2000sp* Gerät (Listennr. 9K14-01, 9K14-02)
- Abbott *mSample* Preparation System (4 × 24 Präparationen) (Listennr. 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
- Master Mix Tube (Listennr. 04J71-80)
- Abbott 96-Deep-Well Plate (Listennr. 04J71-30)
- 5 mL Reaction Vessels (Listennr. 04J71-20)
- 200 mL Reagent Vessels (Listennr. 04J71-60)
- Abbott 96-Well Optical Reaction Plate (Listennr. 04J71-70)
- Abbott Optical Adhesive Covers (Listennr. 04J71-75)
- Abbott Adhesive Cover Applicators (Listennr. 9K32-01)
- Abbott Splash-Free Support Base (Listennr. 9K31-01)
- Abbott RealTime HCV m2000 ROW System Combined Application CD-ROM (Listennr. 1L69-040 oder höher)
- m2000 System 13mm DBS-PoSST Set (Listennr. 09N03-001)
- 1.4 mL Micro Vial 15mm Caps (Listennr. 3N20-01) optional
- Uracil N-Glycosylase (UNG)^a (Listennr. 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 (Listennr. 9K15-01)
- Abbott RealTime HCV m2000 ROW System Combined Application CD-ROM (Listennr. 1L69-040 oder höher)
- Abbott m2000rt Optical Calibration Kit (Listennr. 04J71-93)

Sonstige Materialien

- Biologische Sicherheitswerkbank, zugelassen für die Arbeit mit infektiösen Materialien
- Verschießbarer Beutel für DBS-Karte
- Trockenmittelpackung für DBS-Karte
- Ahlstrom-Munktel TFF-Papierkarte und/oder Whatman 903
- Verschießbarer 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
- Watteabchen (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 (Listennr. 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 % 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 m2000rt-Protokoll muss innerhalb von 50 Minuten nach Einleitung des Protokolls zur Master Mix Addition gestartet werden. Wenn der Abbott m2000rt Geräteaufbau 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 Operations Manual 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 eingelagert 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 Operations Manuals, Kapitel Anweisungen zur Bedienung. Das DBS-Protokoll erfordert die Abbott m2000sp Software-Version 6.0 oder höher. Bitte befolgen Sie das Abbott m2000sp Operations Manual (Listennr. 09K20, Version 6 oder höher).

In einem Durchlauf können insgesamt 96 Proben bearbeitet werden. In jedem Durchlauf sind eine 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. Calibrators und Controls 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 Master Mix Tube für das gesamte Probenverarbeitungsverfahren verwendet werden. Die DBS-Proben müssen während der gesamten Verarbeitung gekennzeichnet sein.

1. Das Abbott Master Mix Tube mit 1,3 ml mDBS-Puffer aus dem Abbott mSample Preparation System DBS Buffer Kit füllen (Listennr. 09N02-001).

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

2. Die perforierte DBS-Papierkarte über das Abbott Master Mix Tube halten.
3. Den DBS-Kreis mit einer sauberen Pipettenspitze aus der Karte herausdrücken, 1 DBS-Kreis pro Master Mix Tube. 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 Master Mix Tube 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 Schaumbällchen 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 im Abbott m2000sp Operations Manual (Listennr. 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 Flaschen 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
Internal Control ^a	1 neues Fläschchen oder 1 partielles 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 Internal Control verwendet werden.

- Die Flaschen für die Abbott mSample Preparation 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 INTERNAL CONTROL 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 Reaction Vessels in den Abbott m2000sp Träger für das 1-ml-Subsystem stellen.
- Die Reagenzien für das Abbott mSample Preparation System und die Abbott 96 Deep-Well Plate auf den Abbott m2000sp Arbeitstisch laden, wie im Abbott m2000sp Operations Manual, Kapitel Anweisungen zur Bedienung, beschrieben.
- Im Protokollbildschirm die HCV-RNA DBS-Anwendungsdatei auswählen. Das Probenextraktionsprotokoll einleiten, wie im Kapitel Anweisungen zur Bedienung des Abbott m2000sp Operations Manual beschrieben.

- Chargenspezifische Werte für Kalibratoren (erforderlich, wenn keine Kalibrierungskurve auf dem Abbott m2000rt gespeichert wurde) und Kontrollen in der Sample Extraction eingeben: Felder Worktable Setup, Calibrator und Control. Chargenspezifische 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 Master Mix Tube (falls erforderlich) nach Abschluss der Probenvorbereitung auf den Abbott m2000sp Arbeitstisch 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 Master Mix Tube erforderlich.

Amplification Reagent Pack – 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 im Abbott m2000sp Operations Manual (Listennr. 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) auf den Abbott m2000sp Arbeitstisch gestellt 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 dem Lagerplatz entnommen, aber nicht verwendet werden.

- Vor Öffnen der Amplifikationsreagenzien sicherstellen, dass sich der Inhalt der neuen Amplifikationsreagenzpackungen am Boden der Fläschchen befindet. Dazu mit den Fläschchen in aufrechter Position 5- bis 10-mal auf die Tischplatte klopfen.
- Nicht auf die zum zweiten Mal verwendeten partiellen Reagenzpackungen zur Amplifikation klopfen. Durch Klopfen kann das Master Mix-Volumen in der Kappe verloren gehen.
- Die Kappen 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 (Listennr. 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 rTth-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 im *Abbott m2000sp Operations Manual*.

- Partielle Reagenzpackungen zur Amplifikation werden im Abbott *m2000sp* Arbeitsbereich links von neuen Reagenzpackungen zur Amplifikation geladen.
- Sicherstellen, dass die Reagenzpackungen zur Amplifikation fest auf dem Gerät sitzen.
- 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 des Abbott *m2000sp* Operations Manual befolgen.

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

- Nach Abschluss der Probenextraktion füllt das Abbott *m2000sp* automatisch alle leeren Wells 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 Reagent Carrier 2 an Ort und Stelle bleiben und mindestens das Reagenzgefäß für den *mElution* Buffer (Reagent Carrier 2, Position 6) enthalten. Wenn dieses Reagenzgefäß entladen wurde, ein neues Reagenzgefäß mit dem Etikett für *mElution* Buffer in Reagent Carrier 2, Position 6, platzieren. Systemflüssigkeit wird in das Reagenzgefäß gegeben und zum Füllen leerer Wells 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 dem Abbott *m2000sp* Operations Manual (Listennr. 09K20, Version 6 oder höher), Abschnitt 5, Anweisungen zur Bedienung, Sample Extraction-Closed Mode, 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.

- 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.

- 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 im Abbott *m2000sp* Operations Manual abgeschlossen hat.
- Die versiegelte Optical Reaction Plate in die Abbott Splash-Free Support Base legen, um sie zum Abbott *m2000rt* Gerät zu übertragen.
Wenn die Uracil N-Glycosylase (UNG) verwendet wird, den unten stehenden Anweisungen folgen:
- Die versiegelte Optical Reaction Plate in die Abbott Splash-Free Support Base legen und 10 Minuten lang bei Raumtemperatur (15 °C bis 30 °C) inkubieren. Nach der Inkubation bei Raumtemperatur die Abbott 96-Well Optical Reaction Plate auf der Abbott Splash-Free Support Base in das Abbott *m2000rt* Gerät übertragen.
- 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 des Abbott *m2000rt* Operations Manual beschrieben einleiten.

HINWEIS: Es wird empfohlen, Testaufträge per CD-ROM oder Netzwerkverbindung mit den Export- und Importfunktionen der *m2000sp* und *m2000rt* Software zu übertragen. Wenn der Abbott *m2000rt* Testauftrag manuell erstellt wird, die Proben-IDs gemäß dem Raster „Wells for Selected Plate“ in die jeweiligen Positionen des PCR-Trays eingeben; dieses Raster befindet sich auf der Detailmaske der „PCR Plate Results“ des Abbott *m2000sp*. Siehe Abschnitt 5 des Abbott *m2000sp* Operations Manual.

- Wenn eine vorbereitete partielle Reagenzpackung zur Amplifikation ein zweites Mal verwendet werden soll, die drei Reagenzfläschchen mit den aufbewahrten Kappen oder neuen Kappen (Listennr. 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 eingelagert werden.

VERFAHREN ZUR NACHVERARBEITUNG

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

VERFAHREN ZUR QUALITÄTSKONTROLLE

Optische Kalibrierung des Abbott *m2000rt*

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

Assay-Kalibrierung

Siehe Packungsbeilage des Abbott RealTime HCV-Assays (Listennr. 4J86). Für DBS-Tests mit *m2000sp* und *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.

Nachweis der Hemmung

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

Negativ- und Positivkontrolle

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

Kontaminationsüberprüfung im Labor

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

ERGEBNISSE FÜR DBS-PROBEN

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

Interpretation der Ergebnisse

Ergebnis	Interpretation
Nicht nachweisbar	Ziel nicht nachweisbar
<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

VERFAHRENSEINSCHRÄNKUNGEN

- **ZUR IN-VITRO-DIAGNOSTISCHEN ANWENDUNG**
- Für eine optimale Leistung dieses Tests muss die Probe ordnungsgemäß entnommen, gelagert und zum Teststandort transportiert werden (siehe Abschnitt **PROBENGEWINNUNG, 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 mit dem 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“ kann nicht als negativ für HCV-RNA angesehen werden.
- Eine unsachgemäße Entnahme, Trocknung, Lagerung und Handhabung der DBS-Karten kann zu ungenauen Testergebnissen führen.
- Es können Ahlstrom-Munktel TFN und Whatman 903 DBS-Karten verwendet werden. Die Verwendung anderer Karten wurde mit dem Abbott RealTime HCV Assay nicht validiert.

SPEZIFISCHE LEISTUNGSMERKMALE FÜR DBS-PROBEN

Nachweisgrenze (LOD)

Die LOD des Abbott RealTime HCV Assays beträgt beim Probenotyp 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.

Tabelle 1. Abbott RealTime HCV für DBS – Nachweisgrenze (LOD)

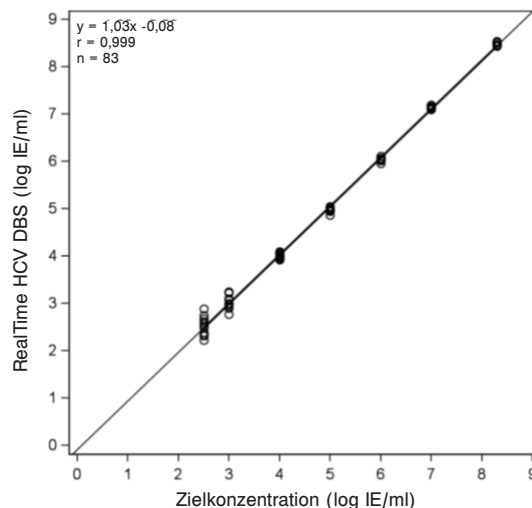
HCV-RNA (IE/ml)	Anzahl getestet	Anzahl nachgewiesen	Prozentsatz nachgewiesen
500	84	83	99
400	84	80	95
350	84	75	89
300	84	73	87
150	84	54	64
50	84	26	31

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 Elementen 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 bestimmt. Die allgemeine Spezifität betrug 100 % (119/119).

Genauigkeit

Die Präzision wurde durch Testen eines DBS-Panels mit 6 Elementen bewertet, das einen HCV-RNA-Konzentrationsbereich von 316 IE/ml bis 200 Millionen IE/ml abdeckt. Panel-Elemente 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-Elemente 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 jedes Panel-Elements wurden über fünf Tage einmal täglich auf drei *m2000sp/rt* Gerätepaaren mit drei Chargen Amplifikationsreagenzien getestet. Die Standardabweichungen (SD) 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 (SD) 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-Element	N	Mittlere Konzentration (IE/ml)	Mittlere Konzentration (log IE/ml)	SD innerhalb des Durchlaufs ^{a,e}	SD zwischen Durchläufen ^a	Inter-Assay-SD ^{a,b}	SD zwischen Chargen/Geräten SD ^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 (SD) 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-Element 1 liegt unter LOD. Die Schätzungen der Präzision basieren auf den quantifizierten Replikaten.

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

Wiederholbarkeit und Reproduzierbarkeit für Panel-Element 1 (nahe LLOQ) betrugen 0,26 log IE/ml bzw. 0,27 log IE/ml und für Panel-Element 2 (nahe LLOQ) 0,23 log IE/ml bzw. 0,25 log IE/ml. Wiederholbarkeit und Reproduzierbarkeit für Panel-Element 5 (nahe ULOQ) betrugen 0,12 log IE/ml bzw. 0,14 log IE/ml und für Panel-Element 6 (nahe ULOQ) 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 Verzerrung 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 das Absolutglied 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 das Absolutglied 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 das Absolutglied 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 Verzerrungsdifferenz zwischen DBS kapillar und Plasma betrug -0,05 log IE/ml. Die mittlere Verzerrungsdifferenz zwischen DBS venös und Plasma betrug -0,04 log IE/ml. Die mittlere Verzerrungsdifferenz zwischen DBS kapillar und DBS venös betrug -0,02 log IE/ml.

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

Tabelle 3. Zu erwartende Verzerrung zwischen DBS (kapillar oder venös) und Plasma bei LLOQ und ULOQ

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

Abbildung 2. DBS kapillar und Plasma

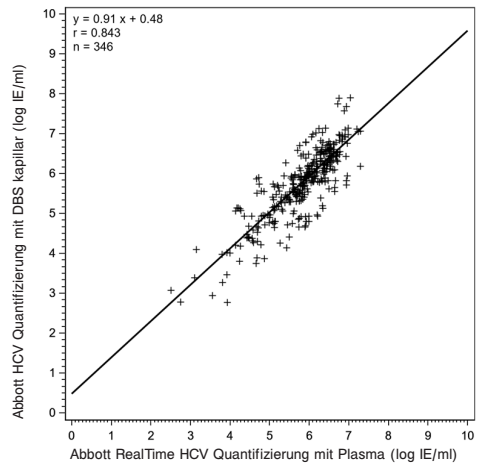


Abbildung 5. DBS kapillar im Vergleich zu Plasma

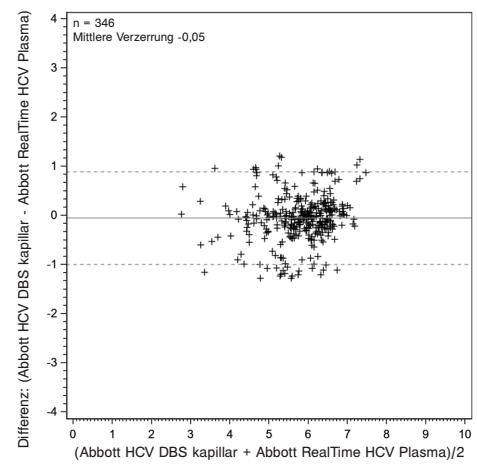


Abbildung 3. DBS venös und Plasma

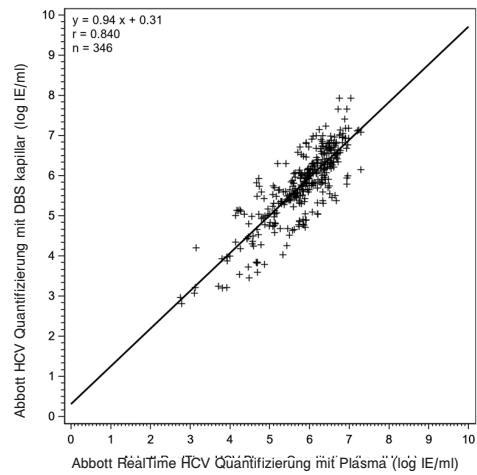


Abbildung 6. DBS venös im Vergleich zu Plasma

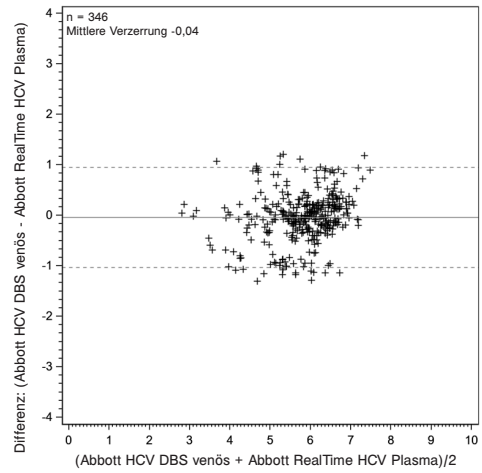


Abbildung 4. DBS kapillar und DBS venös

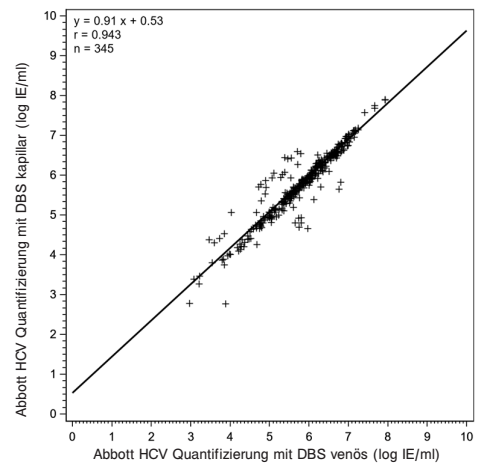
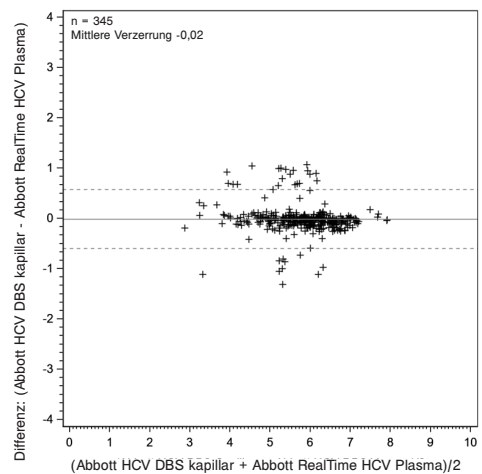


Abbildung 7. DBS kapillar im Vergleich zu DBS venös



LITERATURANGABEN

1. Gower E, Estes C, Blach S, et al. Global epidemiology and genotype distribution of the hepatitis C virus infection. *J Hepatol*. 2014; 61(1):S45-S57.
2. World Health Organization, aktualisierte Version April 2016: Guidelines for the screening, care and treatment of persons with hepatitis C infection. <http://www.who.int/hepatitis/publications/hepatitis-c-guidelines-2016/en/>.
3. AASLD/IDSA Recommendations for testing, managing and treating hepatitis C, überarbeitet im April 2017. www.hcvguidelines.org.
4. European Association for the Study of the Liver. Recommendation on Treatment of Hepatitis C 2018. *J. Hepatology* (2018).
5. Miller MH, Agarwal K, Austin A, et al. Review-Artikel: 2014 UK consensus guidelines - hepatitis C management and direct-acting anti-viral therapy. *Aliment Pharmacol Ther*. 2014;39:1363-75.
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. *N Engl J Med* 1998;339(21):1493-9.
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):958-65.
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):975-82.
9. Hadziyannis SJ, Sette H Jr., Morgan TR, et al. Peginterferon- [alpha]2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose. *Ann Intern Med* 2004;140(5):346-55.
10. Orlent H, Deltenre P, Francque S, et al. Update of the Belgian Association for the Study of Liver Guidelines for the Treatment of Chronic Hepatitis C Genotype 1 with Protease Inhibitors. *Acta Gastro-Enterologica Belgica* 2012;LXXV:245-259.
11. Halfon P, Bourliere M, Penaranda G, Khiri H, and Ouzin 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 Microbiology* 2006;44(7): 2507-2511.
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):1611-8.
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):41-5.
14. WHO guidelines on hepatitis B and C testing. Geneva: World Health Organization; 2017.
15. Saldanha J, Heath A., 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 Sanguinis* 2005 Apr; 88 (3):202-204.

TECHNISCHE UNTERSTÜTZUNG

Technische Unterstützung erhalten Sie vom Technischen Support von Abbott Molecular unter +1-800-553-7042 (in den USA) oder +49-6122-580 (außerhalb der USA) oder auf der Website von Abbott Molecular unter www.molecular.abbott/portal.

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



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



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

© 2020 Abbott. Alle Rechte vorbehalten.

www.abbottmolecular.com

51-608440/R1

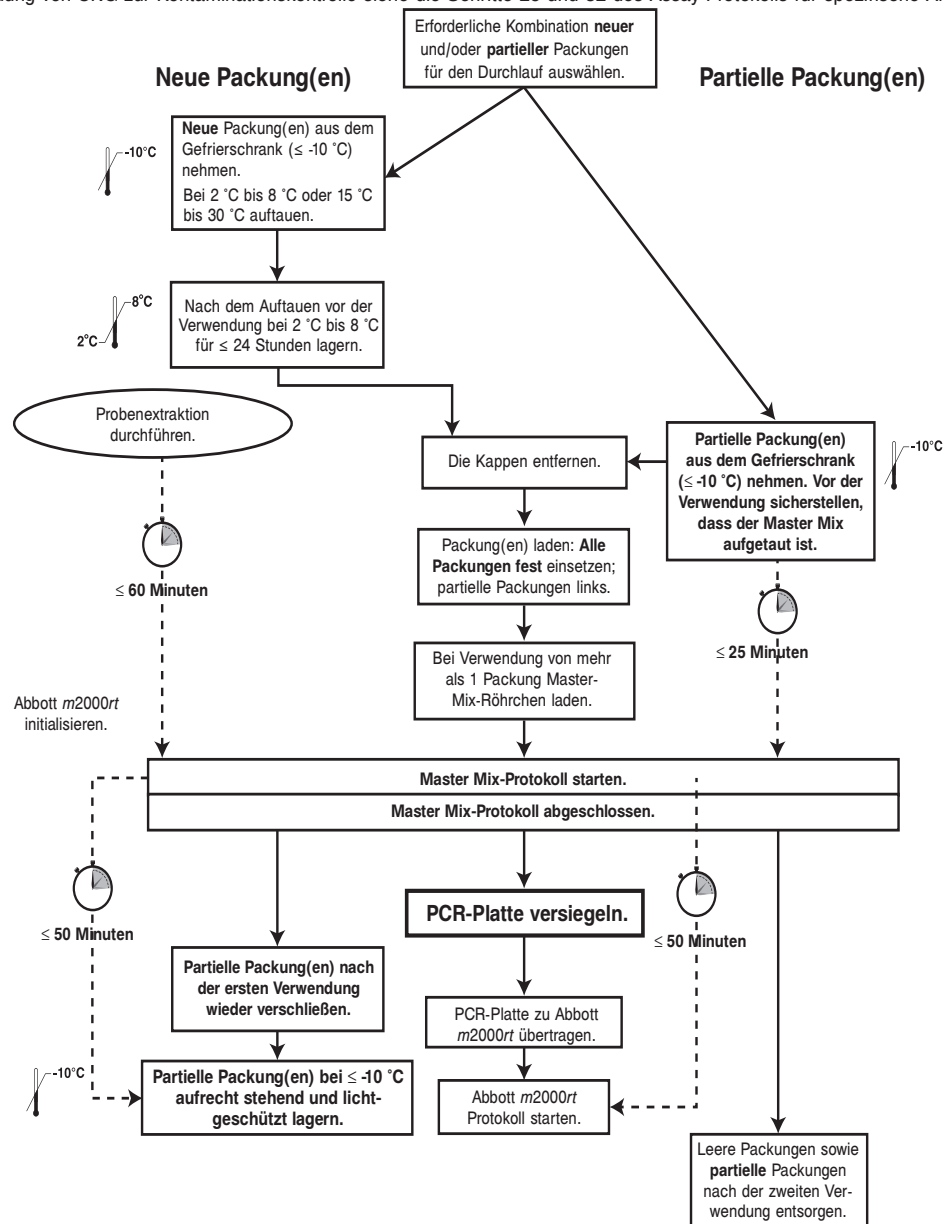
Juli 2020

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

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 (Amplification Reagent Pack und Fläschchen der internen Kontrolle)		
Packungstyp	Lagerungstemperatur	Lagerzeit
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.



- Reagenzpackungen zur Amplifikation, die für die erweiterte Verwendung geeignet sind, müssen über dem Barcode mit einer 6-stelligen Seriennummer versehen sein.
- Partielle** Reagenzpackungen zur Amplifikation 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** Reagenzpackungen zur Amplifikation können gemeinsam verwendet werden. Alle Reagenzpackungen zur Amplifikation, die auf dem Gerät für einen Durchlauf verwendet werden, müssen dieselbe Chargennummer haben.

Abbott RealTime HCV

Supplément pour gouttes de sang séché (DBS)

fr

REF 04J86-010

51-608440/R1

GTIN

REF

04J86-010

IVD

51-608440/R1

Légende des symboles utilisés

GTIN

Code article international

REF

Numéro de référence

IVD

Dispositif médical de diagnostic *in vitro*



Durée maximale autorisée



Limite supérieure de température



Limites de température

EC REP

Mandataire dans la Communauté européenne



Fabricant

SERVICE CLIENT INTERNATIONAL : APPELEZ VOTRE REPRÉSENTANT ABBOTT

Cette notice d'utilisation doit être lue attentivement avant utilisation. Suivre les instructions de la notice. En cas de non-respect des instructions de la notice, la fiabilité des résultats des tests ne pourra pas être garantie.

Ce manuel d'utilisation est un supplément de la notice d'utilisation du test Abbott RealTime HCV (référence 4J86), spécifique aux échantillons de type goutte de sang séché (DBS).

NOTIFICATION DESTINÉE À L'UTILISATEUR

Si un incident grave survient en relation avec ce dispositif, il doit être signalé au fabricant et à l'autorité compétente appropriée de l'État membre dans lequel l'utilisateur et/ou le patient est établi. Pour signaler un incident au fabricant, se reporter aux coordonnées fournies dans la section Assistance technique des présentes instructions.

NOM

Abbott RealTime HCV

UTILISATION PRÉVUE POUR LES DBS

Le test Abbott RealTime HCV est une analyse *in vitro* de la transcription inverse-amplification en chaîne par polymérase (RT-PCR) pour la quantification de l'ARN viral de l'hépatite C (ARN du VHC) dans le sang total déposé sur des cartes sous la forme de gouttes de sang séché (DBS) (c.-à-d. obtenues par ponction veineuse ou capillaire) provenant d'individus infectés par le VHC. Le test Abbott RealTime HCV est une aide à la prise en charge des patients infectés par le VHC sous traitement antiviral. Le test Abbott RealTime HCV n'est pas destiné au dépistage du VHC chez les donneurs de sang, de plasma, de sérum ou de tissu, ni au diagnostic de confirmation de la présence d'une infection par le VHC.

UTILISATEUR VISÉ

Le test Abbott RealTime HCV est destiné aux professionnels de laboratoire et de santé.

RÉSUMÉ 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 sous la forme de gouttes de sang séché (DBS) peut être utilisé comme alternative au sérum ou au plasma pour l'analyse de l'ARN du VHC. Le prélèvement sous la forme de DBS représente 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 PROCÉDURE

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 pour générer un produit amplifié à partir du génome de l'ARN du VHC des échantillons humains de DBS. Les étapes du test Abbott RealTime HCV pour DBS se composent d'un traitement pré-analytique 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 pré-analytique des DBS est effectué à l'aide du Abbott mSample Preparation System DBS Buffer Kit, avant chargement des échantillons sur le système m2000sp. Après traitement pré-analytique des DBS, toutes les étapes suivantes sont exécutées automatiquement par les systèmes m2000sp et 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 ÉLARGIE DES RÉACTIFS

D'AMPLIFICATION

La fonction d'utilisation élargie des réactifs d'amplification en option permet d'utiliser deux fois les packs de réactifs d'amplification et les contrôles internes. Les packs de réactifs d'amplification contenant le « master mix » 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 packs de réactifs d'amplification et les CI qui n'ont pas encore été utilisés seront appelés packs de réactifs d'amplification et CI neufs (c.-à-d. première utilisation). Les packs de réactifs d'amplification qui ont été utilisés une fois et qui contiennent le « master mix » préparé seront appelés packs de réactifs d'amplification partiels. Les flacons de CI qui ont été utilisés une fois seront appelés flacons de CI partiels.

PRÉVENTION DE LA CONTAMINATION PAR DES ACIDES NUCLÉIQUES

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

RÉACTIFS

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

MISES EN GARDE ET PRÉCAUTIONS

IVD

Usage diagnostique *in vitro* uniquement

Le test Abbott RealTime HCV n'est pas destiné au dépistage du VHC chez les donneurs de sang, de plasma, de sérum ou de tissu, ni au diagnostic de confirmation de la présence d'une infection par le VHC.

MESURES DE SÉCURITÉ

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

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

PRÉCAUTIONS SPÉCIALES

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 section **PRÉLÈVEMENT, CONSERVATION ET TRANSPORT DES ÉCHANTILLONS SUR LE SITE OÙ SONT RÉALISÉS LES TESTS**.

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

Précautions de manipulation spécifiques aux DBS :

- S'assurer que le sang des cartes DBS est complètement séché avant de stocker les cartes 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 de la carte DBS perforée. En cas d'utilisation d'une carte DBS non perforée, 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 un produit amplifié externe contenant de la dU

Les laboratoires qui utilisent ou ont utilisé des tests d'amplification du VHC qui incluent le traitement post-PCR du produit amplifié peuvent être contaminés par un produit amplifié contenant de la dU. Une telle contamination peut entraîner des résultats inexacts du test Abbott RealTime HCV pour DBS. Se reporter à la section **Contrôle de la présence de contamination dans le laboratoire** de la notice du test Abbott RealTime HCV (référence 4J86). Lorsque les contrôles négatifs sont constamment réactifs ou lorsque la contamination par un produit amplifié VHC contenant de la dU est probable, et en cas d'échec de la décontamination du laboratoire, il est recommandé d'utiliser la procédure de contrôle de la contamination par l'uracile-N-glycosylase (UNG).

INSTRUCTIONS POUR LA CONSERVATION

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

- Les flacons de réactifs d'amplification Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Packs et Internal Control (CI) **neufs** et **partiels** doivent être conservés à une température inférieure ou égale à -10 °C lorsqu'ils ne sont pas utilisés. Il convient de séparer le pack de réactifs d'amplification Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Pack utilisé pour éviter tout contact direct avec les échantillons, étalons et contrôles.
- Après la première utilisation, les packs de réactifs d'amplification **partiels** et les CI doivent être conservés fermés, droits et à l'abri de la lumière, à une température inférieure ou égale à -10 °C. S'ils sont stockés de cette manière, les packs de réactifs d'amplification **partiels** avec le « master mix » préparé peuvent être utilisés une deuxième fois dans les 14 jours suivant la première utilisation. Le CI peut également être utilisé une deuxième fois dans les 14 jours suivant la décongélation, s'il est conservé fermé à une température inférieure ou égale à -10 °C. Après deux utilisations, éliminer les packs de réactifs d'amplification partiels et CI. La deuxième utilisation ne doit pas dépasser la date de péremption du réactif.

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

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

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

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

CONDITIONS D'EXPÉDITION

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

INDICATION D'INSTABILITÉ OU D'ALTÉRATION DES RÉACTIFS

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

PROCÉDURES AUX INSTRUMENTS

Le fichier d'application Abbott RealTime HCV pour DBS doit être installé sur les systèmes Abbott *m2000sp* and Abbott *m2000rt* à partir de l'Abbott RealTime HCV *m2000* ROW System Combined Application CD-ROM (référence 1L69-040 ou supérieure) avant d'effectuer le dosage. Pour plus d'informations sur l'installation du fichier d'application, se reporter à la section Instructions de fonctionnement des manuels d'utilisation Abbott *m2000sp* et Abbott *m2000rt*.

PRÉLÈVEMENT, CONSERVATION ET TRANSPORT DES ÉCHANTILLONS SUR LE SITE OÙ SONT RÉALISÉS LES TESTS

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) de la carte en papier Ahlstrom-Munktel TFN ou Whatman 903, en veillant à 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 la carte à température ambiante pendant au moins 3 heures. Emballer chaque carte dans un sachet hermétique contenant des sachets de dessiccant (au moins 2 à 3 sachets de dessiccant).
- Les cartes d'échantillons DBS peuvent être stockées dans les conditions spécifiées dans le tableau ci-dessous avant dosage.

Stockage des cartes d'échantillons DBS

Condition de stockage	Durée de stockage maximale
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
-70 °C ou moins à humidité ambiante	18 semaines

Transport des échantillons

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

PROCÉDURE DE DOSAGE 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 9K14-01, 9K14-02)
- Abbott *mSample* Preparation System (4 × 24 Preps) (référence 04J70-24)

- Pipettes de précision étalonnées pouvant délivrer de 20 à 1 000 µL (Des pipettes de précision étalonnées pour délivrer < 20 µL peuvent être nécessaires en cas d'utilisation d'UNG.)
- Embouts de pipette munis de protection contre les aérosols pour pipettes de 20 à 1 000 µL (Des embouts de pipettes munis de protection contre les aérosols pouvant délivrer < 20 µL peuvent être nécessaires en cas d'utilisation d'UNG.)
- Vortex Mixer
- Master Mix Tube (référence 04J71-80)
- Abbott 96-Deep-Well Plate (référence 04J71-30)
- 5 mL Reaction Vessels (référence 04J71-20)
- 200 mL Reagent Vessels (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 1L69-040 ou supérieure)
- m2000 System 13mm DBS-PoST Set (référence 09N03-001)
- 1.4 mL Micro Vial 15mm Caps (référence 3N20-01) en option
- Uracil-N-glycosylase (UNG) ^a (référence 6L87-02)

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

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

- Abbott m2000rt Instrument (référence 9K15-01)
- Abbott RealTime HCV m2000 ROW System Combined Application CD-ROM (référence 1L69-040 ou supérieure)
- Abbott m2000rt Optical Calibration Kit (référence 04J71-93)

Autres articles

- Armoire de sécurité biologique agréée pour la manipulation des substances infectieuses
- Sachet hermétique pour carte DBS
- Sachet de dessiccant pour carte DBS
- Carte papier 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 à microcentrifugation 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 section **PROCÉDURES DE CONTRÔLE DE QUALITÉ** de la notice du test Abbott RealTime HCV (référence 4J86).

Précautions opératoires

- 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 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 pipette de protection contre les aérosols ou les pipettes jetables pour pipeter les échantillons ou CI. Pour éviter de contaminer le corps de la pipette pendant le pipetage, veiller à ne pas mettre le corps de la pipette en contact avec l'intérieur du tube ou contenant à échantillon. Il est recommandé d'utiliser des embouts de pipette avec filtre de protection contre les aérosols extralongs.
- Les procédures de surveillance permettant de détecter la présence d'un produit d'amplification sont disponibles dans la section **PROCÉDURES DE 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 tuberculocide, par exemple, une solution d'hypochlorite de sodium à 1,0 % ou tout autre désinfectant approprié.
- Les étalons et contrôles Abbott RealTime HCV Calibrators et Contrôles doivent être préparés conjointement avec les échantillons à analyser. L'utilisation des contrôles et étalons Abbott RealTime HCV Contrôles et Calibrators est essentielle à la réalisation du test Abbott RealTime HCV. Se reporter à la section **PROCÉDURES DE CONTRÔLE DE QUALITÉ**.
- Le protocole d'ajout Abbott m2000sp Master Mix Addition doit être lancé dans l'heure suivant la fin de la préparation des échantillons.
- Si le protocole d'ajout Abbott m2000sp Master Mix Addition est interrompu, jeter les réactifs d'amplification utilisés pour la deuxième fois. Les packs de réactifs neufs utilisés pour la première fois peuvent être enregistrés et stockés pour une utilisation ultérieure, comme décrit dans ce manuel.

- Le protocole m2000rt doit être lancé dans les 50 minutes qui suivent le lancement du protocole d'ajout Master Mix Addition. Si le cycle de l'instrument Abbott m2000rt n'est pas démarré dans les 50 minutes ou s'il est interrompu ou annulé, placer la plaque Abbott 96-Well Optical Reaction Plate dans un sac plastique hermétique et la jeter conformément au manuel d'utilisation Abbott m2000rt avec les gants utilisés pour la manipuler.

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 qui suivent le lancement du protocole d'ajout Master Mix Addition.

PROTOCOLE DE DOSAGE : ÉCHANTILLONS DBS UTILISANT LES INSTRUMENTS ABBOTT m2000sp ET ABBOTT m2000rt

Pour une description détaillée sur la manière d'exécuter un protocole sur les instruments Abbott m2000sp et Abbott m2000rt, se reporter à la section Instructions de fonctionnement des manuels d'utilisation des instruments Abbott m2000sp et Abbott m2000rt. Le protocole DBS nécessite la version 6.0 ou ultérieure du logiciel Abbott m2000sp. Suivre le manuel d'utilisation Abbott m2000sp (référence 09K20 version 6 ou ultérieure).

Il est possible de traiter jusqu'à 96 échantillons lors de chaque cycle. Un contrôle négatif, un contrôle positif bas et un contrôle positif haut sont inclus lors de chaque cycle, ce qui permet de traiter au maximum 93 échantillons DBS par cycle lorsque les étalons ne sont pas inclus. Traiter les étalons 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'un cycle utilisant le protocole DBS. Pour chaque échantillon DBS, un seul Abbott Master Mix Tube doit être utilisé pour toute la procédure de traitement. S'assurer que les échantillons DBS sont étiquetés tout au long du traitement.

1. Remplir l'Abbott Master Mix Tube avec 1,3 mL de tampon mDBS de l'Abbott mSample Preparation system DBS Buffer Kit (référence 09N02-001).
2. Tenir la carte papier DBS perforée au-dessus de l'Abbott Master Mix Tube.
3. Retirer le cercle DBS de la carte à l'aide d'un embout de pipette propre, 1 cercle DBS par 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 ÉCHANTILLON 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 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.
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 de dosage et le contrôle interne (CI) entre 15 °C et 30 °C ou entre 2 °C et 8 °C. Décongeler les étalons entre 15 °C et 30 °C ou entre 2 °C et 8 °C uniquement en cas de réalisation d'un cycle d'étalonnage.
7. Mélangier au vortex chaque étalon 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 packs de réactifs d'amplification **neufs** et/ou **partiels** à utiliser dans le cycle. Se reporter à la section Instructions de fonctionnement du manuel d'utilisation Abbott *m2000sp* (référence 09K20 version 6 ou ultérieure) pour connaître les instructions sur la gestion des stocks de packs de réactifs d'amplification. Les packs de réactifs d'amplification doivent avoir le même numéro de lot. Décongeler les réactifs d'amplification **neufs** 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 ».
- REMARQUE : une fois décongelés, les réactifs d'amplification neufs peuvent être conservés entre 2 °C et 8 °C pendant une durée maximale de 24 heures s'ils ne sont pas utilisés immédiatement. Les packs de 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'ajout du « master mix ». Une fois retirés du congélateur, l'exposition cumulée à la température ambiante ne doit pas dépasser 25 minutes, y compris lorsque les packs sont retirés du stock sans être utilisés. Si le délai de 25 minutes est dépassé, jeter les packs de réactifs d'amplification partiels.**

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

Réactifs de préparation des échantillons et exigences de contrôle interne				
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
Internal Control ^a	1 flacon neuf ou 1 flacon partiel	1 flacon neuf ou 2 flacons partiels	2 flacons neufs ou 3 flacons partiels	2 flacons neufs ou 4 flacons partiels

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

10. Retourner doucement les flacons Abbott *m*Sample Preparation pour garantir l'homogénéité de la solution. 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. Mélanger chaque contrôle interne au vortex 3 fois pendant 2 à 3 secondes avant utilisation.
12. Utiliser une pipette de précision étalonnée **RÉSERVÉE AU CONTRÔLE INTERNE** pour ajouter 500 µL de CI à chaque flacon de *m*Lysis Buffer. Mélanger en retournant doucement le contenant 5 à 10 fois pour limiter la formation de mousse. Les flacons partiels de CI peuvent être refermés et conservés à une température inférieure ou égale à -10 °C pour une deuxième utilisation.
13. Placer les contrôles positifs faible et élevé, le contrôle négatif, et les étalons, le cas échéant, dans le portoir à échantillons Abbott *m2000sp*.
14. Lorsque l'incubation est terminée, agiter ou faire tourner manuellement les tubes d'échantillons DBS, puis les placer dans le portoir à échantillons Abbott *m2000sp*.
- REMARQUE : s'assurer que les portoirs à échantillons Abbott *m2000sp* ont été étalonnés spécifiquement pour la procédure Abbott RealTime HCV pour DBS.**
15. Charger avec précaution les portoirs à 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 à échantillons de sorte que la base du tube soit en contact avec la face inférieure interne du portoir.
16. Charger les portoirs à 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 5 mL Reaction Vessels dans le portoir de l'unité de traitement Abbott *m2000sp* de 1 mL.
18. Charger les réactifs de l'Abbott *m*Sample Preparation System et l'Abbott 96 Deep-Well Plate sur le plan de travail Abbott *m2000sp* selon les indications de la section Instructions de fonctionnement du manuel d'utilisation Abbott *m2000sp*.
19. Dans l'écran Protocol (Protocole), sélectionner le fichier d'application HCV RNA DBS. Lancer le protocole d'extraction de l'échantillon selon les indications de la section Instructions de fonctionnement du manuel d'utilisation Abbott *m2000sp*.
20. Saisir l'étalon (nécessaire si aucune courbe d'étalonnage n'a été conservée sur l'Abbott *m2000rt*) et les valeurs spécifiques de lot de contrôle dans les champs Sample Extraction (Extraction de l'échantillon) suivants : Worktable Setup (Configuration du plan de travail), Calibrator (Étalon) et Control (Contrôle). Les valeurs spécifiques du lot sont spécifiées sur chaque Abbott RealTime HCV Calibrator et Control Kit Card.
21. Le protocole d'ajout Abbott *m2000sp* Master Mix Addition (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 « master mix » (le cas échéant) sur la table de travail de l'Abbott *m2000sp* une fois la préparation des échantillons terminée. Le tableau suivant indique le nombre de packs de réactifs d'amplification nécessaires en fonction du nombre de réactions. Si 1 seul pack de réactifs d'amplification est utilisé, aucun tube de « master mix » n'est requis.

Exigences concernant les Amplification Reagent Pack ^a			
1 à 24 réactions	25 à 48 réactions	49 à 72 réactions	73 à 96 réactions
1 si neufs ; jusqu'à 4 avec des packs partiels	2 si neufs ; jusqu'à 4 avec des packs partiels	3 si neufs ; jusqu'à 4 avec des packs partiels	4 packs neufs ou partiels

^a Se reporter au manuel d'utilisation Abbott *m2000sp* (référence 09K20 version 6 ou ultérieure) pour obtenir des instructions sur la gestion des stocks afin de déterminer le nombre maximal de réactions pouvant être testées avec les packs partiels sélectionnés.

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

IMPORTANT : les packs de réactifs d'amplification partiels doivent être conservés à une température inférieure ou égale à -10 °C jusqu'au moment qui précède leur seconde utilisation. Vérifier que le « master mix » est décongelé avant de placer un ou plusieurs packs partiels sur le plan de travail Abbott *m2000sp*. Une fois qu'ils sont sortis de leur lieu de conservation à une température inférieure ou égale à -10 °C, les packs de réactifs d'amplification partiels utilisés pour la seconde fois doivent être employés dans les 25 minutes ou bien être jetés. Ceci s'applique à l'exposition cumulative à température ambiante, y compris lorsque les packs sont retirés de leur lieu de conservation sans être utilisés.

23. S'assurer que le contenu des packs de réactifs d'amplification neufs se trouve bien au fond des flacons avant d'ouvrir les réactifs d'amplification en tapotant 5 à 10 fois les flacons en position verticale sur la paillasse.
- Ne pas tapoter les packs de 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 pack de réactifs d'amplification neuf est conservé en vue d'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 RÉSERVÉE AU RÉACTIF pour ajouter le volume spécifié de 1 U/μL d'UNG (référence 6L87-02) au flacon de réactif se trouvant à la position 3 des packs de réactifs d'amplification neufs et partiels. Mélanger manuellement en aspirant et en refoulant délicatement à l'aide de la pipette tous les packs partiels. Ne pas mélanger des packs neufs.

- Utiliser le tableau ci-dessous pour déterminer le volume d'UNG à ajouter au flacon de réactif se trouvant à la position 3 des packs de réactifs d'amplification neufs et partiels. Le flacon de réactif se trouvant à la position 3 d'un pack de réactifs neuf contient l'enzyme polymérase rTth thermostable. Le flacon de réactif à la position 3 d'un pack de réactifs partiel contient le « master mix ».

Volume d'UNG à ajouter au flacon de réactif se trouvant à la position 3 de chaque pack de réactifs d'amplification

Tests restants dans le pack	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 (pack neuf)	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 pack de réactifs, et non du nombre d'échantillons en cours d'exécution. Consulter le manuel d'utilisation Abbott *m2000sp* pour connaître les instructions sur la gestion des stocks de packs de réactifs d'amplification et la manière de déterminer le nombre de tests restants dans un packs de réactifs.

26. Les packs de réactifs d'amplification partiels sont chargés à gauche des packs de réactifs d'amplification neufs sur la table de travail Abbott *m2000sp*.
27. Vérifier que les packs de réactifs d'amplification sont bien en place dans l'instrument.
28. Sélectionner la plaque à puits profonds appropriée qui correspond à l'extraction de la préparation des échantillons correspondante. Lancer le protocole Abbott *m2000sp* Master Mix Addition. Suivre les instructions décrites dans la section Instructions de fonctionnement du manuel d'utilisation 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 de l'échantillon terminée, l'Abbott *m2000sp* remplit automatiquement tous les puits vides de la plaque Abbott 96-Well Optical Reaction Plate avec un tampon *mElution* lorsque plus de 48 échantillons sont traités au cours d'un cycle. La plaque n'est pas remplie pour les cycles contenant 48 échantillons ou moins.

- Lorsque l'instrument le demande, le portoir à réactif 2 doit rester en place, contenant au minimum la cuve de réactif pour *mElution* Buffer (portoir réactif 2, position 6). Si cette cuve de réactif a été déchargée, placer une nouvelle cuve de réactif avec l'étiquette *mElution* Buffer dans le portoir à réactif 2, position 6. Le liquide du système est ajouté à la cuve de réactif et utilisé pour remplir les puits vides. Une fois ce processus terminé, le système poursuit avec l'ajout du « master mix ».

REMARQUE : les instructions d'utilisation de la fonction de remplissage automatique des plaques se trouvent dans le manuel d'utilisation Abbott *m2000sp* (référence 09K20 version 6 ou ultérieure), section 5, Instructions de fonctionnement, mode extraction-fermeture des échantillons.

- Le protocole Abbott *m2000rt* (étape 33) doit être lancé dans les 50 minutes qui suivent le lancement du protocole d'ajout Master Mix Addition (étape 28).

REMARQUE : si, pour une raison quelconque, le cycle est interrompu après l'étape 28, une plaque Abbott 96-Well Optical Reaction Plate neuve doit être utilisée si le protocole Abbott *m2000sp* Master Mix Addition (étape 28) doit être répété.

29. Mettre en marche et initialiser l'instrument Abbott *m2000rt* dans la zone d'amplification.

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

REMARQUE : retirer les gants avant de retourner dans la zone de préparation des échantillons.

30. Sceller la plaque Abbott 96-Well Optical Reaction Plate une fois que l'instrument Abbott *m2000sp* a terminé l'ajout des échantillons et du « master mix » selon la section Instructions de fonctionnement du manuel d'utilisation 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 incubé 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 dans l'instrument Abbott *m2000rt*. Dans l'écran Protocol (Protocole), sélectionner le fichier d'application HCV RNA DBS. Commencer le protocole décrit dans la section Instructions de fonctionnement du manuel d'utilisation Abbott *m2000sp*.

REMARQUE : il est recommandé de transférer l'ordre des tests 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*. En cas de création manuelle de l'ordre des tests pour l'instrument Abbott *m2000rt*, saisir les ID d'échantillon dans les emplacements pour plateau PCR correspondants selon la grille « Wells for Selected Plate » (Puits pour la plaque sélectionnée) qui se trouve dans l'écran détaillé « PCR Plate Results » (Résultats de la plaque PCR) de l'Abbott *m2000sp*. Consulter la section 5 du manuel d'utilisation Abbott *m2000sp*.

34. Si un pack de réactifs d'amplification partiel préparé doit être utilisé une seconde fois, fermer les 3 flacons de réactif à l'aide des bouchons mis de côté ou de bouchons neufs (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 pack de réactifs d'amplification épuisé ou utilisé à deux reprises.

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 qui suivent le lancement du protocole d'ajout du « master mix ».

PROCÉDURES À EFFECTUER APRÈS LE TRAITEMENT

1. Retirer l'Abbott 96 Deep-Well Plate du plan de travail et l'éliminer conformément au manuel d'utilisation Abbott *m2000sp*.
2. Placer la plaque Abbott 96-Well Optical Reaction Plate dans un sac plastique hermétique et la jeter conformément au manuel d'utilisation Abbott *m2000rt* avec les gants utilisés pour la manipuler.
3. Nettoyer l'Abbott Splash-Free Support Base avant de le réutiliser, conformément au manuel d'utilisation Abbott *m2000rt*.

PROCÉDURES DE CONTRÔLE DE LA QUALITÉ

Étalonnage optique Abbott *m2000rt*

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

Étalonnage du dosage

Se reporter à la notice du test Abbott RealTime HCV (référence 4J86).
Pour les analyses DBS avec *m2000sp* et *m2000rt* : une fois qu'un étalonnage Abbott RealTime HCV est accepté et stocké, il peut être utilisé pendant 6 mois. Pendant ce temps, tous les échantillons suivants peuvent être testés sans étalonnage supplémentaire 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).

RÉSULTATS POUR LES ÉCHANTILLONS DBS

Le résultat de la concentration de l'échantillon DBS rapportée dans le protocole *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
Non détecté	Cible non détectée
< 2,66 Log UI/mL ^a	Détecté
2,66 à 8,00 Log UI/mL	
> 8,00 Log UI/mL	> LQS ^b

^a 462 UI/mL

^b LQS = limite de quantification supérieure

LIMITES DE LA PROCÉDURE

- **USAGE DIAGNOSTIQUE IN VITRO UNIQUEMENT**
- Les performances optimales de ce test nécessitent le prélèvement, le stockage et le transport appropriés des échantillons sur le site de test (se reporter à la section **PRÉLÈVEMENT, STOCKAGE ET TRANSPORT DES ÉCHANTILLONS SUR LE SITE OÙ SONT RÉALISÉS LES TESTS** 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 pré-traitement des DBS, au diagnostic moléculaire et au système Abbott *m2000*.
- Les instruments et les procédures de dosage réduisent le risque de contamination par le produit d'amplification. Cependant, la contamination par des acides nucléiques provenant d'étalons, de contrôles positifs ou d'échantillons doit être contrôlée par de bonnes pratiques de laboratoire et un strict respect des procédures décrites dans cette notice.
- Comme pour tout test de diagnostic, les résultats du test Abbott RealTime HCV pour DBS doivent être interprétés conjointement avec d'autres résultats cliniques et de laboratoire. Un échantillon avec un résultat « Not Detected » (Non détecté) ne peut pas être présumé négatif pour l'ARN du VHC.
- Un prélèvement, un séchage, un stockage et une manipulation inappropriés des cartes DBS peuvent conduire à des résultats de test inexacts.
- Les cartes DBS Ahlstrom-Munktel TFN et Whatman 903 peuvent être utilisées. L'utilisation d'autres cartes n'a pas été validée avec le test Abbott RealTime HCV.

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE SPÉCIFIQUES POUR LES ÉCHANTILLONS 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 testant des échantillons DBS préparés avec une série de dilutions de l'étalon international de l'OMS pour l'ARN du virus de l'hépatite C dilué dans du sang total négatif pour le VHC. Le test de chaque concentration d'ARN du VHC a été effectué 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

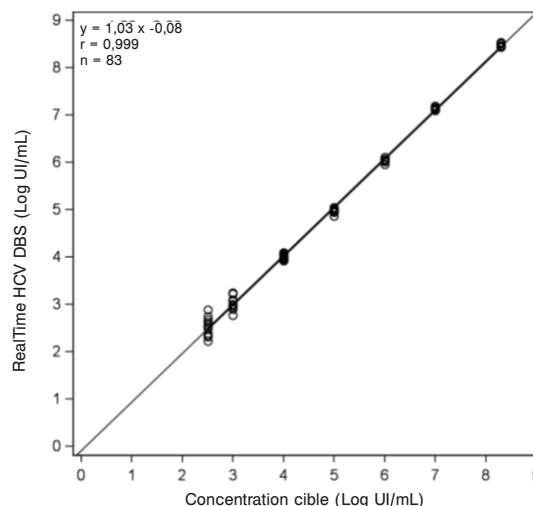
ARN du VHC (UI/mL)	Nombre testé	Nombre détecté	Pourcentage détecté
500	84	83	99
400	84	80	95
350	84	75	89
300	84	73	87
150	84	54	64
50	84	26	31

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 linéaire

La limite de quantification supérieure (LQS) du test Abbott RealTime HCV est de 100 millions d'UI/mL et la limite de quantification inférieure (LQI) 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 du VHC blindé 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 dans toute la plage des concentrations d'ARN du VHC testées (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 testant un panel DBS de 6 échantillons destiné à couvrir la plage de concentration d'ARN du VHC de 316 UI/mL à 200 millions d'UI/mL. Les échantillons du panel dont les concentrations sont 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 sont supérieures à 5 Log UI/mL (100 000 UI/mL) ont été préparés avec de l'ARN blindé pour le VHC dilué dans du sang total négatif pour le VHC. Chaque échantillon du panel a été testé en 5 réplicats une fois par jour pendant 5 jours, sur 3 paires *m2000sp/rt* avec 3 lots de réactifs d'amplification. Les écarts-types (ÉT) intra-cycle, inter-cycles et inter-tests (intra-cycle et inter-cycles) ont été déterminés. Le test Abbott RealTime HCV pour DBS a été conçu pour obtenir un écart-type (ÉT) inter-tests inférieur ou égal à 0,25 Log UI/mL d'ARN du VHC pour des échantillons contenant des concentrations de VHC de 10 000 à 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)	ÉT du composant intra-cycle ^{a,e}	ÉT du composant inter-cycles ^a	ÉT inter-tests ^{a,b}	ÉT du composant intra-lots/instrument ^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 (ÉT) sont exprimés en Log UI/mL.

^b L'inter-tests contient des composants intra-cycle et inter-cycles.

^c Le total comprend les composants intra-cycle, inter-cycles et inter-lots/instrument.

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

^e L'écart-type intra-cycle est également connu sous le nom de répétabilité. L'ÉT total est également connu sous le nom de reproductibilité.

La répétabilité et la reproductibilité pour l'échantillon 1 du panel (proche de la LQI) étaient respectivement de 0,26 Log UI/mL et 0,27 Log UI/mL, et pour l'échantillon 2 du panel (proche de la LQS) 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 la LQS) étaient respectivement de 0,12 Log UI/mL et 0,14 Log UI/mL, et pour l'échantillon 6 du panel (proche de la LQI) 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 tests Abbott RealTime HCV utilisant des gouttes de sang séché et versus le comparateur portant le marquage CE, le test 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 préparées à partir de sang veineux et des DBS préparées à partir de sang capillaire (au bout du doigt) ont été analysées 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 prévu entre DBS capillaire et plasma a été évalué aux niveaux cibles de LQI et LQS. En outre, le biais prévu entre le DBS veineux et plasma a été évalué aux niveaux cibles de LQI et LQS. Se reporter au **Tableau 3** pour le résumé des biais prévus.

Tableau 3. Biais prévu entre DBS (capillaire ou veineux) et plasma au niveau de la LQI et de la LQS

Comparaison	Niveau	Niveau cible de charge virale (Log UI/mL)	Biais prévu (Log UI/mL)
DBS capillaire contre plasma	LQI	2,66	0,24
	LQS	8,00	-0,26
DBS veineux vs plasma	LQI	2,66	0,15
	LQS	8,00	-0,17

Figure 2. DBS capillaire et plasma

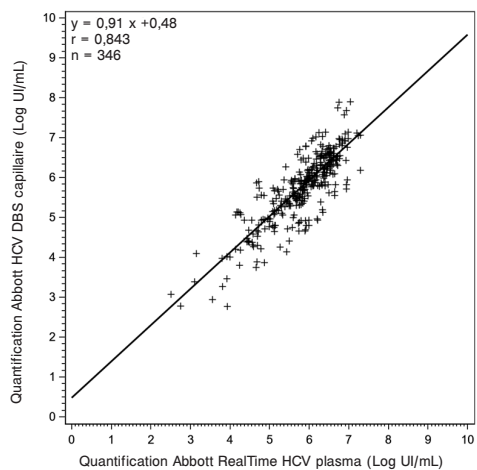


Figure 5. DBS capillaire versus plasma

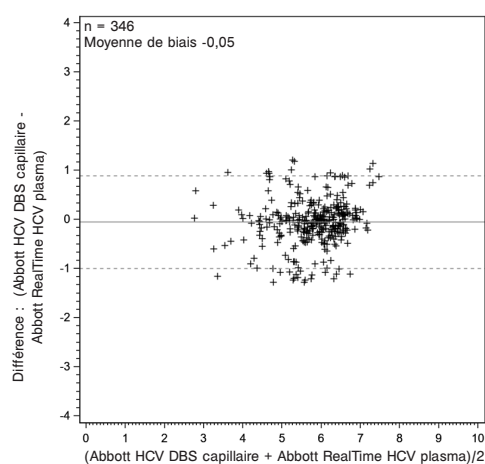


Figure 3. DBS veineux et plasma

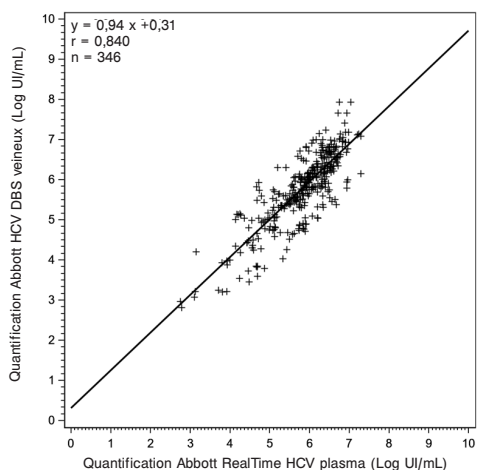


Figure 6. DBS veineux versus plasma

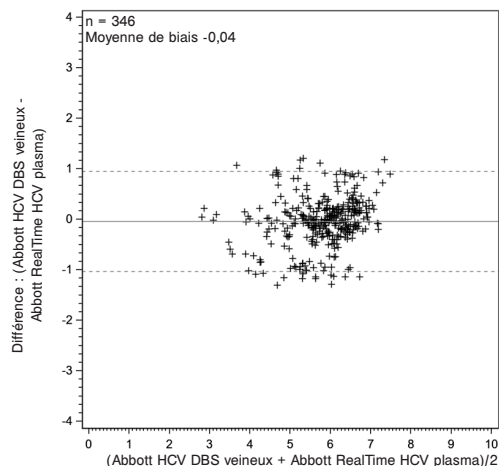


Figure 4. DBS capillaire et DBS veineux

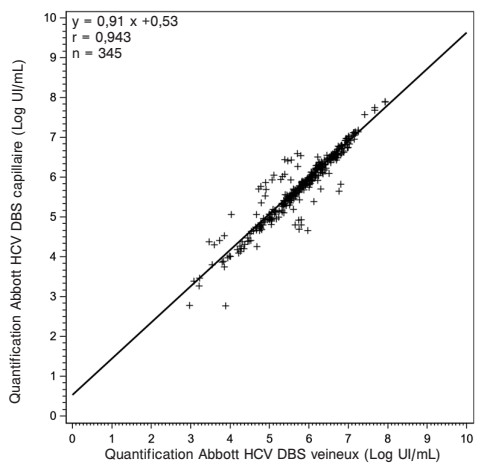
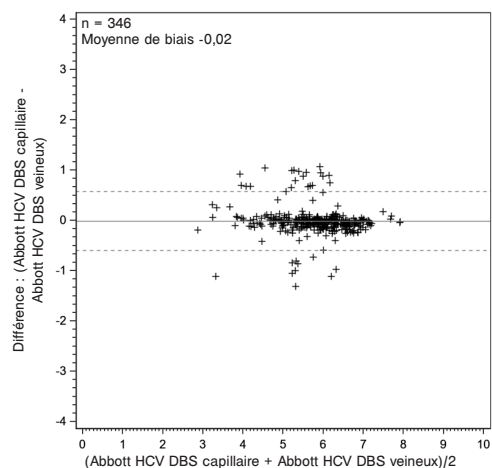


Figure 7. DBS capillaire versus DBS veineux



BIBLIOGRAPHIE

1. Gower E, Estes C, Blach S, et al. Global epidemiology and genotype distribution of the hepatitis C virus infection. *J Hepatol*. 2014; 61(1):S45-S57.
2. Organisation mondiale de la santé, mise à jour d'avril 2016 : lignes directrices pour le dépistage, les soins et le traitement des personnes atteintes d'une infection chronique par le virus de l'hépatite C. <https://www.who.int/hepatitis/publications/hepatitis-c-guidelines-policy/fr/>.
3. AASLD/IDSA Recommendations for testing, managing and treating hepatitis C, révisé en avril 2017. www.hcvguidelines.org.
4. European Association of the Study of the Liver. Recommendations on treatment of Hepatitis C, 2018. *J. Hepatology* (2018).
5. Miller MH, Agarwal K, Austin A, et al. Article de revue : 2014 UK consensus guidelines - hepatitis C management and direct-acting anti-viral therapy. *Aliment Pharmacol Ther*. 2014;39:1363-75.
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. *N Engl J Med* 1998;339(21):1493-9.
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):958-65.
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):975-82.
9. Hadziyannis SJ, Sette H Jr., Morgan TR, et al. Peginterferon-[alpha]2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose. *Ann Intern Med* 2004;140(5):346-55.
10. Orlent H, Deltenre P, Francque S, et al. Update of the Belgian Association for the Study of Liver Guidelines for the Treatment of Chronic Hepatitis C Genotype 1 with Protease Inhibitors. *Acta Gastro-Enterologica Belgica* 2012;LXXV:245-259.
11. Halfon P, Bourliere M, Penaranda G, Khiri H, et OuzinD. Real-time PCR assays for hepatitis C virus (HCV) RNA quantitation are adequate for clinical management of patients with chronic HCV infection. *J. Clin Microbiology* 2006;44(7): 2507-2511.
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):1611-8.
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):41-5.
14. WHO guidelines on hepatitis B and C testing. Genève : Organisation mondiale de la santé ; 2017.
15. Saldanha J, Heath A., 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 Sanguinis* 2005 avr ; 88 (3):202-204.

ASSISTANCE TECHNIQUE

Pour obtenir une assistance technique, appeler le service technique Abbott Molecular au +1 800 553 7042 (aux États-Unis) ou au +49 6122 580 (en dehors des États-Unis), ou consulter le site Web Abbott Molecular à l'adresse www.molecular.abbott/portal.

Abbott RealTime HCV est importé dans l'Union européenne par Abbott Diagnostics GmbH, une société située à l'adresse suivante : Max-Planck-Ring 2, 65205 Wiesbaden, Allemagne



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



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



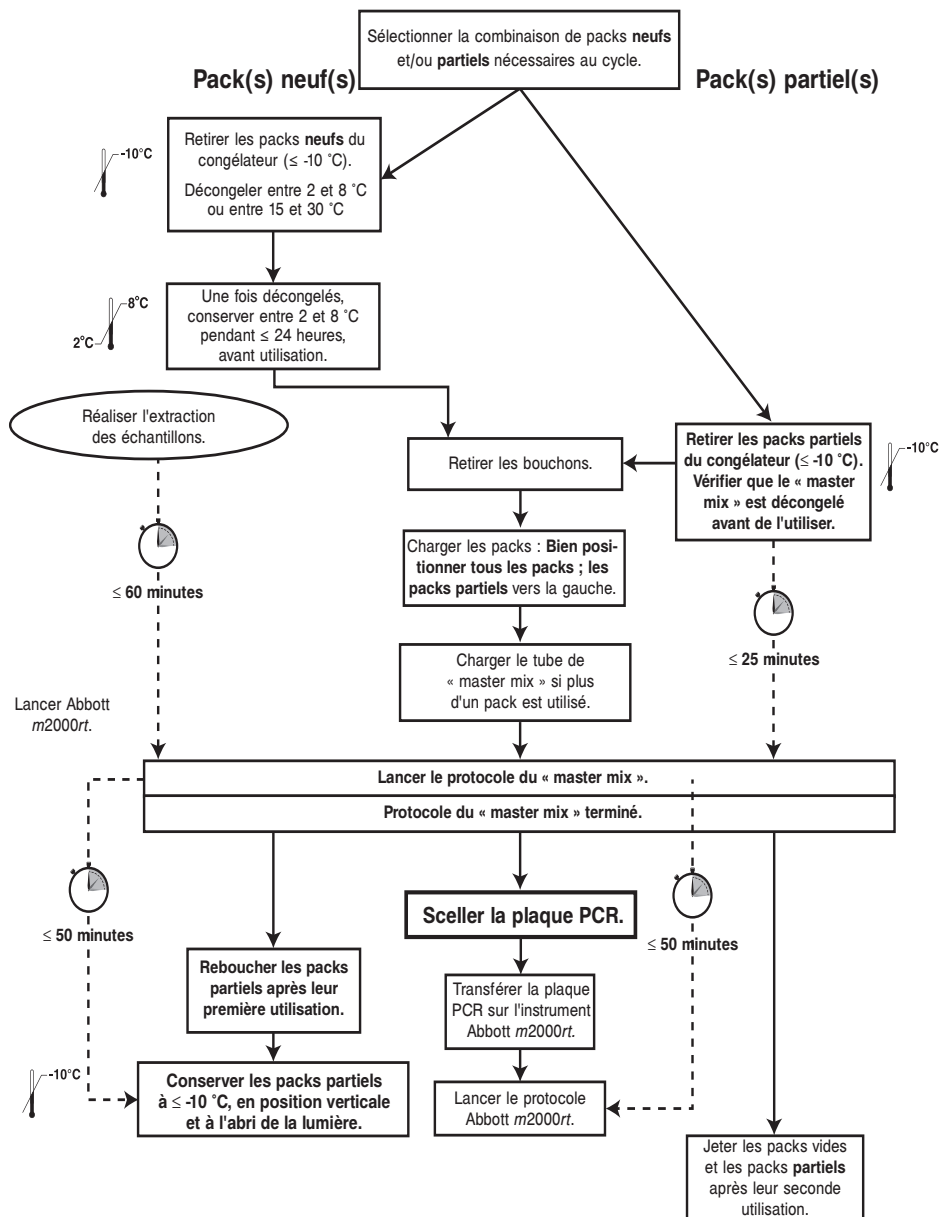
© 2020 Abbott. Tous droits réservés.
www.abbottmolecular.com
51-608440/R1
Juillet 2020

ANNEXE 1. PRÉSENTATION DE L'UTILISATION ÉLARGIE DES RÉACTIFS ABBOTT REALTIME HCV AMPLIFICATION REAGENT

La fonction d'utilisation élargie des réactifs d'amplification permet d'utiliser un pack de réactifs d'amplification et un contrôle interne (CI) 2 fois en tout. Les packs de réactifs d'amplification qui n'ont pas encore été utilisés pour préparer le « master mix » sont appelés packs de réactifs d'amplification **neufs**. Les packs de réactifs d'amplification qui ont été utilisés une fois et qui contiennent le « master mix » préparé sont appelés packs de réactifs d'amplification **partiels**. Pour de plus amples détails, se reporter aux instructions fournies dans ce manuel.

Conditions de conservation (Amplification Reagent Pack et flacons de contrôle interne)		
Type de pack	Température de conservation	Durée de conservation
Packs neufs	Inférieure ou égale à -10 °C	Jusqu'à la date figurant sur l'étiquette
CI neuf	Inférieure ou égale à -10 °C	Jusqu'à la date figurant sur l'étiquette
Packs partiels	Inférieure ou égale à -10 °C (à l'abri de la lumière)	Jusqu'à 14 jours après la première utilisation
CI partiel	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 dosage pour obtenir des instructions spécifiques.



- Les packs de réactifs d'amplification qui sont compatibles avec une utilisation élargie doivent comporter un numéro de série à 6 chiffres au-dessus du code-barres.
- Les packs de réactifs d'amplification **partiels** ne peuvent être utilisés une seconde fois que sur le même instrument que celui utilisé lors de la première utilisation. Leur utilisation sur un autre instrument produira une erreur de traitement qui risque de retarder le cycle.
- Les packs de réactifs d'amplification **partiels** et **neufs** peuvent être utilisés ensemble. Tous les packs de réactifs d'amplification utilisés sur l'instrument pour un cycle doivent avoir le même numéro de lot.

Abbott RealTime HCV

Suplemento para muestras de gotas de sangre seca (GSS)

es

REF 04J86-010

51-608440/R1

GTIN

REF

04J86-010

IVD

51-608440/R1

Clave de los símbolos utilizados

GTIN

Número mundial de identificación del artículo

REF

Número de referencia

IVD

Producto sanitario para diagnóstico in vitro



Tiempo máximo permitido



Límite superior de temperatura



Límite de temperatura

EC REP

Representante autorizado en la Comunidad Europea



Fabricante

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

Lea atentamente estas instrucciones antes de utilizar el producto. Las indicaciones de este documento deben seguirse correctamente. No se puede garantizar la fiabilidad de los resultados del ensayo si no se siguen exactamente las instrucciones indicadas.

Estas instrucciones de uso son complementarias a las instrucciones del ensayo de Abbott RealTime HCV (n.º de referencia: 4J86), específico para el tipo de muestra de gotas de sangre seca (GSS).

AVISO AL USUARIO

Si se produce un incidente grave en relación con este dispositivo, debe notificarse al fabricante y a la autoridad competente correspondiente del Estado miembro en el que se haya establecido el usuario o el paciente. Para informar al fabricante, consulte la información de contacto proporcionada en el apartado de asistencia técnica de estas instrucciones.

NOMBRE

Abbott RealTime HCV

USO PREVISTO EN MUESTRAS DE GSS

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 cuantificación del ácido ribonucleico del virus de la hepatitis C (ARN del VHC) en sangre completa sobre tarjetas como gotas de sangre seca (GSS) (es decir, obtenidas mediante venopunción o sangre capilar) de individuos infectados con el VHC. El ensayo Abbott RealTime HCV está diseñado para utilizarse 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 la detección de VHC en donantes de sangre, suero, plasma o tejido, ni se puede utilizar como prueba diagnóstica para confirmar la presencia de infección por el VHC.

USUARIO PREVISTO

Los usuarios previstos del ensayo Abbott RealTime HCV son los profesionales del laboratorio y de la salud.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA

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 ARN 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 cirrosis¹. La incidencia del carcinoma hepatocelular en los pacientes con cirrosis es del 2 al 4 % anual¹.

Se ha demostrado que la medición cuantitativa del nivel de ARN del VHC en sangre periférica es un parámetro esencial para la administración de diferentes tratamientos contra el VHC⁶⁻¹³. Con la aparición de terapias con antivirales de acción directa, se ha avanzado de manera espectacular en el tratamiento de la infección por el VHC. El objetivo de los tratamientos contra el VHC es lograr una respuesta virológica sostenida (RVS) que se manifiesta como la ausencia continua de ARN detectable del VHC²⁻⁵. Se han utilizado mediciones de la carga viral del VHC para individualizar la duración y el tratamiento guiado por la respuesta o para determinar y predecir la respuesta virológica sostenida o no sostenida de la terapia antiviral²⁻⁵.

La mayor parte de los casos de VHC se dan en los países de ingresos bajos o medianos (PIBM)¹⁴. La identificación de los pacientes con una infección activa por VHC es muy limitada en estas zonas con recursos limitados. La obtención de sangre completa con gotas de sangre seca (GSS) puede utilizarse como alternativa a las pruebas de ARN del VHC en suero o plasma. La muestra de GSS representa una opción factible que elimina muchas limitaciones logísticas y técnicas relacionadas con la obtención, 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 la muestra de GSS en las pruebas virológicas del VHC en áreas con recursos limitados¹⁴.

El ensayo Abbott RealTime HCV en muestras de GSS 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 cuantificación del ADN del HCV en GSS. La selección de una región conservada del genoma del HCV permite detectar los genotipos 1 a 6. El ensayo se estandariza con respecto a la segunda norma internacional de la OMS relativa al ARN del virus de la hepatitis C (código NIBSC: 96/798)¹⁵ y los resultados se indican en unidades internacionales/ml (UI/ml) o en su equivalente en base logarítmica decimal.

PRINCIPIOS BIOLÓGICOS DEL PROCEDIMIENTO

El ensayo Abbott RealTime HCV en muestras de GSS utiliza 3 kits de reactivos:

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

El ensayo Abbott RealTime HCV en muestras de GSS utiliza la RT-PCR para generar producto amplificado del genoma del ARN del VHC en muestras de GSS humana. Los pasos del ensayo Abbott RealTime HCV en muestras de GSS consisten en el tratamiento previo al análisis de la GSS, la preparación de la muestra, el montaje de la RT-PCR, la amplificación, la detección y la notificación de los resultados. El tratamiento previo al análisis de la GSS se lleva a cabo con el Abbott mSample Preparation System DBS Buffer Kit antes de cargar la muestra en el sistema m2000sp. Después del tratamiento preanalítico de la GSS, los sistemas m2000sp y 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 CI. Los envases de reactivos de amplificación con mezcla maestra preparada pueden conservarse a -10 °C o menos, 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 -10 °C o menos 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 CI sin usar se denominarán envases nuevos de reactivos de amplificación y CI (es decir, primer uso). Los envases de reactivos de amplificación que se hayan utilizado una vez y contengan mezcla maestra preparada se denominarán envases parciales de reactivos de amplificación. Los viales de CI que se hayan utilizado una vez se denominarán viales parciales de CI.

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 en muestras de GSS no se debe utilizar para la detección de VHC en donantes de sangre, suero, plasma o tejido, ni se puede utilizar como prueba diagnóstica 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 RealTime HCV en muestras de GSS solo utiliza los sistemas *m2000sp* y *m2000rt*.

PRECAUCIONES ESPECIALES

Precauciones de manipulación de las muestras de GSS

El ensayo Abbott RealTime HCV en muestras de GSS solo se debe utilizar con muestras de sangre completa o GSS que se hayan manipulado y conservado como se describe en el apartado

RECOGIDA, ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE DE LA MUESTRA AL LABORATORIO.

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

Precauciones de manipulación específicas para GSS:

- Asegúrese de que las tarjetas para GSS estén completamente secas antes de almacenarlas en bolsas con desecantes. Si la transferencia, el secado, el almacenamiento y la manipulación de la GSS no son adecuados, los resultados de la prueba podrían no ser precisos.
- Para evitar la contaminación cruzada, utilice una punta de pipeta nueva para cada muestra de GSS cuando deposite la gota en la tarjeta para GSS perforada. Si se utiliza una tarjeta para GSS no perforada, asegúrese de que la herramienta utilizada para cortar el punto se descontamine antes y después del contacto con la muestra de GSS.

Áreas de trabajo

Se recomienda utilizar únicamente 2 áreas, 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 resultados imprecisos en el ensayo Abbott RealTime en muestras de GSS. 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). Si los controles negativos son repetidamente reactivos o donde sea probable que se haya producido contaminación con el producto amplificado de VHC con dU, se recomienda que el laboratorio utilice el procedimiento de control de contaminación con uracilo-N-glicosilasa (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 Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Packs y el Internal Control (IC) Abbott RealTime HCV **nuevos** y **parciales** deben almacenarse a -10 °C o menos cuando no se utilicen. Se debe tener cuidado de separar el Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Pack que se esté utilizando para que no entre en contacto con muestras, calibradores y controles.
- Los envases de reactivos de amplificación y el control interno **parciales** deben almacenarse a -10 °C o menos, 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 maestra 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 -10 °C o menos. 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 envases de Positive Control y Negative Control Abbott RealTime HCV deben almacenarse a una temperatura de -10 °C o menos.

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



- Los envases de los Calibrator A y B Abbott RealTime HCV deben almacenarse a una temperatura de -10 °C o menos.

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 archivo de la aplicación de ensayos Abbott RealTime HCV en muestras de GSS en los sistemas Abbott *m2000sp* y Abbott *m2000rt* desde el Abbott RealTime HCV *m2000* ROW System Combined Application CD-ROM (n.º de referencia: 1L69-040 o superior). Para obtener información detallada sobre la instalación del archivo de aplicación, consulte el capítulo Instrucciones de funcionamiento del Manual de operaciones de los sistemas Abbott *m2000sp* y Abbott *m2000rt*.

RECOGIDA, ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE DE LA MUESTRA AL LABORATORIO

Recogida y almacenamiento de muestras

- Para preparar la muestra de GSS, utilice un sistema de punción digital o sangre completa con EDTA. La sangre completa 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).

- La sangre completa con EDTA recogida en un tubo debe mezclarse bien mediante inversiones suaves antes de proceder a la transferencia. Transfiera la sangre a 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 muestras de GSS se pueden almacenar en las condiciones especificadas en la tabla siguiente antes del procesamiento del ensayo.

Almacenamiento de tarjetas de muestras de GSS	
Condición	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 menos con humedad ambiente	18 semanas

Transporte de muestras

Envíe las muestras de acuerdo con la temperatura y el tiempo de almacenamiento recomendados indicados en el apartado **Recogida y almacenamiento de muestras** anterior. Para envíos nacionales e internacionales, las muestras se deben acondicionar y etiquetar de acuerdo con las normas estatales, federales e internacionales aplicables sobre transporte de muestras clínicas, diagnósticas o biológicas.

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO ABBOTT REALTIME HCV EN MUESTRAS DE GSS

Materiales necesarios no suministrados

- Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit (n.º de referencia: 4J86-90)
- Abbott RealTime HCV Calibrator Kit (n.º de referencia: 4J86-70)
- Abbott RealTime HCV Control Kit (n.º de referencia: 4J86-80)

Para el área de preparación de la muestra de Abbott m2000sp

- Abbott mSample Preparation System DBS Buffer Kit (n.º de referencia: 09N02-001)
- Sistema Abbott m2000sp (n.º de referencia: 9K14-01, 9K14-02)
- Abbott mSample Preparation System (4 × 24 preparaciones) (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 para aerosoles para pipetas de 20 a 1000 µl (si se utiliza UNG, se necesitan puntas de pipeta con filtro para aerosoles para pipetas de < 20 µl)
- Mezclador Vortex
- Master Mix Tube (n.º de referencia: 04J71-80)
- Abbott 96-Deep-Well Plate (n.º de referencia: 04J71-30)
- 5 mL Reaction Vessels (n.º de referencia: 04J71-20)
- 200 mL reagent vessels (n.º de referencia: 04J71-60)
- Abbott 96-Well Optical Reaction Plate (n.º de referencia: 04J71-70)
- Abbott Optical Adhesive Covers (n.º de referencia: 04J71-75)
- Abbott Adhesive Cover Applicators (n.º de referencia: 9K32-01)
- Abbott Splash-Free Support Base (n.º de referencia: 9K31-01)
- Abbott RealTime HCV m2000 ROW System Combined Application CD-ROM (n.º de referencia: 1L69-040 o superior)
- m2000 System 13mm DBS-PoST Set (n.º de referencia: 09N03-001)
- T1,4 mL Micro Vial 15mm Caps (n.º de referencia: 3N20-01), opcionales
- Uracil N-Glycosylase (UNG)^a (n.º de referencia: 6L87-02)

^aSi es necesario, según el apartado **Contaminación por producto amplificado externo que contiene dU** de estas instrucciones de uso.

Para el Abbott m2000rt Instrument Amplification Area

- Abbott m2000rt instrument (n.º de referencia: 9K15-01)
- Abbott RealTime HCV m2000 ROW System Combined Application CD-ROM (n.º de referencia: 1L69-040 o superior)

- Abbott m2000rt Optical Calibration Kit (n.º de referencia: 04J71-93)

Otros materiales

- Cabina de seguridad biológica aprobada para trabajar con materiales infecciosos
- Bolsa sellable para tarjeta para GSS
- Paquete de desecante para tarjeta para GSS
- Tarjeta de papel Ahlstrom-Munktel TFN o Whatman 903
- Bolsa de plástico sellable para desechar placas de reacción de 96 pocillos
- Agua sin ARNasa (Eppendorf o equivalente)^b
- Tubos para microcentrifuga de 1,7 ml aptos para biología molecular (Dot Scientific, Inc. o equivalente)^b
- Aplicadores con punta de algodón (Puritan o equivalente)^b

^b**Nota:** 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 las muestras.
 - 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 Calibrators, el Negative Control, el Low Positive Control y el High Positive Control de Abbott RealTime HCV son de un solo uso y deben desecharse después de utilizarlos.
 - Las puntas de pipeta con filtro para aerosoles o la pipetas desechables solo deben utilizarse una vez cuando pipetee las muestras o el Cl. Para evitar la contaminación del cuerpo de la pipeta durante el pipeteo, tenga cuidado de no tocarlo con el interior del tubo ni el recipiente de muestras. Se recomienda el uso de puntas de pipeta largas con filtro para aerosoles.
 - Los procedimientos de supervisión 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 las muestras con un desinfectante tuberculicida, como hipoclorito de sodio al 1,0 % u otro desinfectante adecuado.
 - Los Calibrators y los Controls de Abbott RealTime HCV se deben preparar junto con las muestras que se van a analizar. El uso de los Calibrators y Controls de Abbott RealTime HCV es esencial para el rendimiento del ensayo Abbott RealTime HCV. Consulte el apartado **PROCEDIMIENTOS DE CONTROL DE CALIDAD**.
 - El protocolo Abbott m2000sp Master Mix Addition debe iniciarse en el plazo de 1 hora después de finalizar la preparación de la muestra.
 - Si se cancela el protocolo Abbott m2000sp master mix addition, deseche los reactivos de amplificación que se estaban utilizando por segunda vez. Los nuevos cartuchos de reactivos 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 m2000rt debe iniciarse en un plazo de 50 minutos desde el inicio del protocolo Master Mix Addition. Si el ciclo del sistema Abbott m2000rt no se inicia en 50 minutos, se interrumpe o se cancela, selle la Abbott 96-Well Optical Reaction Plate en una bolsa de plástico sellable y deséchela, junto con los guantes que haya utilizado para manipularla, de acuerdo con el Manual de operaciones del sistema Abbott m2000rt.
- IMPORTANTE:** Los reactivos de amplificación que se vayan a utilizar por segunda vez deben almacenarse a -10 °C o menos en un plazo de 50 minutos desde el inicio del protocolo master mix addition.

PROTOCOLO DEL ENSAYO: MUESTRAS DE GSS 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 el capítulo Instrucciones de funcionamiento del Manual de operaciones de los sistemas Abbott m2000sp y Abbott m2000rt. Para realizar el protocolo de GSS, se necesita el software Abbott m2000sp Version 6.0 o superior. Siga el Manual de operaciones de Abbott m2000sp (n.º de referencia: 09K20 versión 6 o superior).

En cada ciclo se pueden procesar un total de 96 muestras. En cada ciclo se incluyen un Negative Control, un Positive Control bajo y un Positive Control alto, lo que permite procesar un máximo de 93 muestras de GSS por ciclo cuando no hay calibradores. Procese los calibradores y los controles directamente como muestras líquidas; los pasos del 1 al 5 son solo para muestras de GSS. No procese muestras de plasma o suero en ningún ciclo en el que se utilice el protocolo para GSS. Se debe utilizar un único Abbott Master Mix Tube por muestra de GSS para todo el procedimiento de procesamiento de muestras. Asegúrese de que las muestras de GSS estén etiquetadas durante todo el procesamiento.

1. Llene el Abbott Master Mix Tube con 1,3 ml de tampón *mDBS* del Abbott *mSample Preparation System* DBS Buffer Kit (n.º de referencia: 09N02-001).

NOTA: No utilice *mLysis Buffer* ni ningún otro reactivo para este paso.

2. Sostenga la tarjeta de papel perforada para GSS por encima del Abbott Master Mix Tube.
3. Extraiga el círculo de GSS de la tarjeta con una punta de pipeta limpia; utilice 1 círculo de GSS por Master Mix Tube. Cada GSS debe tener un diámetro de, aproximadamente, una media pulgada (12 milímetros).

NOTA: UTILICE UNA PUNTA DE PIPETA NUEVA PARA CADA MUESTRA DE GSS PARA EVITAR LA CONTAMINACIÓN CRUZADA.

También puede utilizar un papel para GSS no perforado y cortar 1 GSS entera (de aproximadamente media pulgada de diámetro) para cada muestra y transferir a un Master Mix Tube.

NOTA: Evite el contacto directo de la superficie de corte con muestras de GSS. Si es necesario, descontamine la herramienta utilizada para cortar el círculo de GSS entre las muestras, de acuerdo con las prácticas recomendadas de laboratorio.

4. Asegúrese de que el círculo de GSS esté completamente sumergido en tampón *mDBS* golpeando suavemente el tubo o introduciendo el círculo de GSS en tampón con la punta de la pipeta.

NOTA: Si se utiliza una punta de pipeta para introducir el círculo de GSS en 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 agite las muestras en vórtex. Incube durante 30 minutos ($\pm$ 2 minutos) a temperatura ambiente.
6. Mientras tanto, descongele los controles del ensayo y el control interno (CI) a una temperatura de entre 15 °C y 30 °C o entre 2 °C y 8 °C. Si solo se realiza un ciclo de calibración, descongele los calibradores a una temperatura de entre 15 °C y 30 °C o entre 2 °C y 8 °C.

NOTA: Una vez descongelados, los controles de ensayo, el CI y los calibradores se pueden almacenar a una temperatura de 2 °C a 8 °C durante un máximo de 24 horas antes de su uso.

7. Agite en vórtex los calibradores de ensayo y los controles 3 veces de 2 a 3 segundos antes de su uso. Asegúrese de que el contenido de los viales está en la parte inferior dándoles un golpe en la mesa de trabajo para que el líquido pase 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 de entre 15 °C y 30 °C o entre 2 °C y 8 °C, y almacénelos a entre 2 °C y 8 °C hasta que se necesiten para el procedimiento de master mix de amplificación.
9. Seleccione los envases de reactivos de amplificación **nuevos** o **parciales** que se van a utilizar en el ciclo. Consulte el capítulo Instrucciones de funcionamiento del Abbott *m2000sp* Operations Manual (n.º de referencia: 09K20 versión 6 o superior) para obtener información sobre la administración del inventario de 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 de entre 15 °C y 30 °C o entre 2 °C y 8 °C, y almacénelos a entre 2 °C y 8 °C hasta que se necesiten para el procedimiento de master mix de amplificación.

NOTA: Una vez descongelados, los reactivos de amplificación nuevos se pueden almacenar a 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 de entre 2 °C y 8 °C antes de su uso. Se deben conservar a -10 °C o menos hasta que se necesiten para añadirlos a la mezcla maestra. Una vez que se extraen del congelador, la exposición acumulada a temperatura ambiente no debe superar los 25 minutos, incluso en

los casos en los que los envases se retiran del almacenamiento pero no se utilizan. Si se superan los 25 minutos, deseché los cartuchos 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.

Requisitos de reactivos de preparación de muestras y de control interno

Reactivo	De 1 a 24 reacciones	De 25 a 48 reacciones	De 49 a 72 reacciones	De 73 a 96 reacciones
<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
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 abrirlos, 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. Agite en vórtex los CI 3 veces de 2 a 3 segundos antes de su uso.
12. Utilice una pipeta de precisión calibrada **ESPECÍFICA PARA EL CONTROL INTERNO ÚNICAMENTE** para añadir 500 µl de CI a cada frasco de tampón de *mLysis Buffer*. 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 -10 °C o menos para un segundo uso.
13. Coloque los Positive Controls bajo y alto, el Negative Control 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 GSS 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 en muestras de GSS.
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 todos los tubos están colocados 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 soporte del subsistema de 1 ml del sistema Abbott *m2000sp*.
18. Cargue los reactivos del Abbott *mSample Preparation System* y la Abbott 96 Deep-Well Plate en la mesa de trabajo del Abbott *m2000sp* como se describe en el capítulo Instrucciones de funcionamiento del Manual de operaciones del sistema Abbott *m2000sp*.
19. En la pantalla Protocol (Protocolo), seleccione el archivo de aplicación HCV RNA DBS. Inicie el protocolo de extracción de muestras como se describe en el capítulo Instrucciones de funcionamiento del Manual de operaciones del sistema Abbott *m2000sp*.
20. Introduzca el calibrador (es necesario si no se ha almacenado una curva de calibración en el sistema Abbott *tm2000rt*) y los valores específicos del lote de control en los campos Sample Extraction (Extracción de muestras): Worktable Setup (Configuración de la mesa), Calibrator (Calibrador) y Control (Control). Los valores específicos del lote se especifican en las Abbott RealTime HCV Calibrator y Control Kit Card.
21. El protocolo de adición de mezcla maestra con el 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 manipular los reactivos de amplificación.

22. Cargue los reactivos de amplificación y el tubo de mezcla maestra (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 reactivos de amplificación, no se necesita tubo de mezcla maestra.

Requisitos de Amplification Reagent Pack ^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 operaciones del sistema Abbott *m2000sp* (n.º de referencia 09K20 versión 6 o superior) para obtener información sobre la administración del inventario con el fin de determinar el número máximo de reacciones que se pueden analizar con los envases parciales seleccionados.

- Los envases de reactivos de amplificación parciales solo se pueden utilizar en el mismo sistema Abbott *m2000sp* que se utilizó para la preparación inicial del envase de reactivos. Si se utiliza un envase de reactivos 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 reactivos de amplificación parciales deben almacenarse a -10 °C o menos hasta inmediatamente antes del segundo uso. Compruebe que la mezcla maestra se ha descongelado antes de colocar envases parciales en la mesa de trabajo del Abbott *m2000sp*. Una vez extraídos del almacenamiento a -10 °C o menos, los envases de reactivos de amplificación parciales que se utilicen por segunda vez deben utilizarse en un plazo de 25 minutos o desecharse. Esto se aplica a la exposición acumulada a temperatura ambiente, incluso en los casos en los que los envases se retiran del almacenamiento pero no se utilizan.

23. Asegúrese de que el contenido de los envases de reactivos de amplificación nuevos se encuentra en la parte inferior de los viales antes de abrir los reactivos de amplificación; para hacerlo, golpee los viales en posición vertical en el banco de 5 a 10 veces.
- No golpee los envases de reactivos de amplificación que se utilizan por segunda vez. Si lo hace, se puede perder volumen de mezcla maestra en el tapón.
24. Retire los tapones. Si se va a almacenar un envase de reactivos 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-glicosilasa (UNG) para el control de la contaminación, siga las instrucciones que se indican a continuación.**
25. Utilice una PIPETA ESPECÍFICA PARA EL USO CON REACTIVOS ÚNICAMENTE 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 rTth termoestable. El vial de reactivo en la posición 3 de un envase de reactivo parcial contiene la mezcla maestra.

Volumen de UNG para añadir al vial de reactivo en la posición 3 de los envases de reactivos de amplificación	
Pruebas restantes en el envase	Volumen de UNG (μl) para añadir
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 pruebas restantes en el envase de reactivos y no del número de muestras que se estén realizando. Consulte el Manual de operaciones del sistema Abbott *m2000sp* para obtener información sobre la administración del inventario de envases de reactivos de amplificación y cómo determinar el número de pruebas restantes en un paquete de reactivos.

26. Los envases de amplificación parciales se cargan a la izquierda de los paquetes 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 Abbott *m200sp* Master Mix Addition. Siga las indicaciones del capítulo Instrucciones de funcionamiento del Abbott *m200sp* Master Mix Addition.

NOTA: El operador no debe llenar manualmente ningún pocillo vacío o sin llenar de la Abbott 96-Well Optical Reaction Plate.

- Una vez finalizada la extracción de las muestras, el sistema Abbott *m2000sp* rellena automáticamente los pocillos vacíos de la Abbott 96-Well Optical Reaction Plate con tampón *mElution* cuando se procesan más de 48 muestras en un ciclo. El llenado de placas no se realiza en ciclos con 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 *Elution* (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 maestra.

NOTA: Las instrucciones del sistema para utilizar la función de llenado de placas automatizado se pueden consultar en el Manual de operaciones del sistema Abbott m2000sp (n.º de referencia: 09K20 versión 6 o superior), capítulo 5 Instrucciones de funcionamiento, apartado Extracción de muestras - Modo cerrado.

- El protocolo Abbott m2000rt (paso 33) debe iniciarse en un plazo de 50 minutos desde el inicio del protocolo de Master Mix Addition (paso 28).

NOTA: Si, por cualquier motivo, el procesamiento se cancela después del paso 28, debe utilizarse una nueva Abbott 96-Well Optical Reaction Plate si va a repetirse el protocolo Abbott m2000sp Master Mix Addition (paso 28).

- Encienda e inicie el sistema 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 a la zona de preparación de muestras.

- Selle la Abbott 96-Well Optical Reaction Plate cuando el sistema Abbott m2000sp haya completado la adición de muestras y la mezcla maestra según el capítulo Instrucciones de funcionamiento del Manual de operaciones del sistema Abbott m2000sp.

- Coloque la placa de reacción óptica sellada en la Abbott Splash-Free Support Base para transferirla al sistema Abbott m2000rt.

Si se utiliza uracilo-N-glicosilasa (UNG), siga las instrucciones que se indican a continuación:

- Transfiera la placa óptica sellada a la Abbott Splash-Free Support Base e incube a temperatura ambiente (de 15 °C a 30 °C) durante 10 minutos. Después de la incubación a temperatura ambiente, transfiera la Abbott 96-Well Optical Reaction Plate en la Abbott Splash-Free Support Base al sistema Abbott m2000rt.
- Coloque la Abbott 96-Well Optical Reaction Plate en el sistema Abbott m2000rt. En la pantalla Protocol (Protocolo), seleccione el archivo de aplicación HCV RNA DBS. Inicie el protocolo como se describe en el capítulo Instrucciones de funcionamiento del Manual de operaciones del sistema Abbott m2000rt.

NOTA: Se recomienda realizar la transferencia de la solicitud del análisis mediante el uso del CD-ROM o de una conexión de red con las funciones de exportación e importación del software de m2000sp y m2000rt. Si va a crear la solicitud del análisis de Abbott m2000rt manualmente, introduzca las ID de las muestras en las posiciones de las bandejas de PCR correspondientes según la tabla "Wells for Selected Plate" (Pocillos para la placa seleccionada) que se muestra en la pantalla de información "PCR Plate Results" (Resultados de la placa de PCR) del sistema Abbott m2000sp. Consulte el capítulo 5 del Manual de operaciones del sistema Abbott m2000sp.

- Si se va a utilizar un envase de reactivos 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 -10 °C o menos, 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 -10 °C o menos en un plazo de 50 minutos desde el inicio del protocolo de adición de mezcla maestra.

PROCEDIMIENTOS DESPUÉS DEL PROCESAMIENTO

- Retire la Abbott 96 Deep-Well Plate de la mesa de trabajo y deséchela de acuerdo con el Manual de operaciones del sistema Abbott m2000sp.
- Introduzca la Abbott 96-Well Optical Reaction Plate en una bolsa de plástico sellable y deséchela, junto con los guantes que haya utilizado para manipularla, de acuerdo con el Manual de operaciones del sistema Abbott m2000rt.
- Limpie la Abbott Splash-Free Support Base antes del siguiente uso según el Manual de operaciones 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 pruebas de GSS con m2000sp y m2000rt : Una vez se haya aceptado y almacenado una calibración de Abbott RealTime HCV, puede usarse durante 6 meses. Durante ese tiempo, se podrán realizar pruebas en todas las muestras posteriores sin realizar calibraciones adicionales, a no ser:

- Se utiliza un Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit con un número de lote nuevo.
- Se utiliza un Abbott mSample Preparation System (4 x 24 preparaciones) con un número de lote nuevo.
- Se instala un nuevo archivo de aplicación 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 DE MUESTRAS DE GSS

La concentración de muestra de GSS notificada resultante del procesamiento del protocolo de GSS del sistema m2000rt representa la concentración de VHC en el plasma de la muestra de sangre completa a partir de la cual se obtiene la muestra de GSS. 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	Objetivo no detectado
< 2,66 log UI/ml ^a	Detectado
De 2,66 a 8,00 log UI/ml	
> 8,00 log UI/ml	> LSC ^b

^a 462 UI/ml

^b LSC = límite superior de cuantificación

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

• PARA USO DIAGNÓSTICO IN VITRO

- El rendimiento óptimo de este análisis requiere la recogida, el almacenamiento y el transporte adecuados de las muestras hasta el laboratorio (consulte el apartado **RECOGIDA, ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE DE LA MUESTRA AL LABORATORIO** de estas instrucciones de uso).
- Las muestras de sangre completa recogidas en tubos con EDTA pueden utilizarse para generar GSS que se analicen con el ensayo Abbott RealTime HCV en muestras de GSS. No se ha validado el uso de otros anticoagulantes con el ensayo Abbott RealTime HCV en muestras de GSS.
- El uso del ensayo de Abbott RealTime HCV en muestras de GSS debe limitarse a personal que haya recibido formación en los procedimientos de preparación y preprocesamiento de muestras de GSS, en ensayos de diagnóstico molecular y en el sistema Abbott m2000.
- Los sistemas y los procedimientos de ensayo reducen el riesgo de contaminación por producto de amplificación. Sin embargo, la contaminación por ácido nucleico de los calibradores, los controles positivos o las muestras debe controlarse mediante prácticas recomendadas de laboratorio y siguiendo cuidadosamente los procedimientos especificados en estas instrucciones de uso.
- Como ocurre con cualquier otra prueba de diagnóstico, los resultados del ensayo Abbott RealTime HCV en muestras de GSS deben interpretarse junto con otros hallazgos clínicos y de laboratorio. No se puede suponer que una muestra con un resultado "No Detected" (No detectado) sea negativa para el ARN del VHC.

- Si la recogida, el secado, el almacenamiento y la manipulación de las tarjetas para GSS no son adecuados, los resultados de la prueba podrían no ser precisos.
- Se pueden utilizar las tarjetas para GSS Ahlstrom-Munktel TFN y Whatman 903. No se ha validado el uso de otras tarjetas con el ensayo Abbott RealTime HCV.

CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS DE RENDIMIENTO PARA MUESTRAS DE GSS

Límite de detección (LDD)

El LDD del ensayo Abbott RealTime HCV es de 462 UI/ml con el tipo de muestra de GSS. El LDD se determinó analizando muestras de GSS preparadas con una serie de diluciones del patrón internacional de la OMS para el ARN del virus de la hepatitis C diluidas en sangre completa negativa para el VHC. Las pruebas para cada concentración de ARN 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 en muestras de GSS se resumen en la **Tabla 1**.

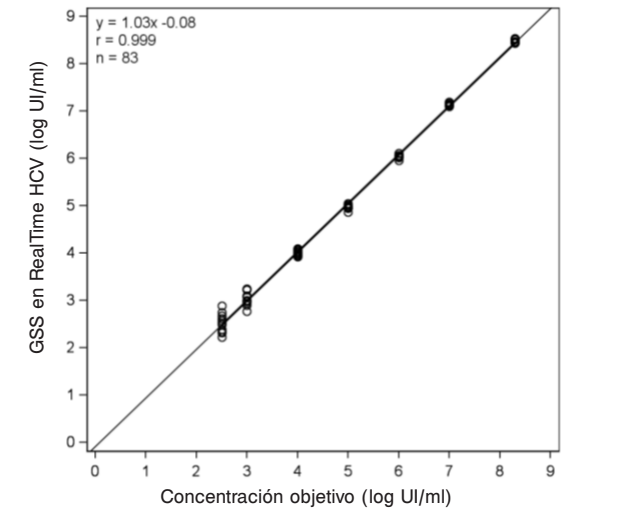
ARN del VHC (UI/ml)	Número de pruebas	Número detectado	Porcentaje detectado
500	84	83	99
400	84	80	95
350	84	75	89
300	84	73	87
150	84	54	64
50	84	26	31

El análisis de los datos con el método próbit determinó que la concentración de ARN del VHC detectada en la gota 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 cuantificación (LSC) del ensayo Abbott RealTime HCV es de 100 millones de UI/ml y el límite inferior es equivalente al límite de detección (LDD) (462 UI/ml) del proceso con GSS. Se preparó un panel de 7 muestras de GSS con ARN blindado del VHC diluido a concentraciones que oscilaban entre 200 millones de UI/ml y 316 UI/ml en sangre completa negativa para el VHC. Los resultados representativos de la linealidad del ensayo Abbott RealTime HCV en muestras de GSS se representan en la **Figura 1**.

Figura 1. Linealidad en muestras de GSS del ensayo Abbott RealTime HCV



Se ha demostrado que el ensayo Abbott RealTime HCV en muestras de GSS es lineal en todo el intervalo de concentraciones de ARN del VHC analizadas (de 316 a 200 millones de UI/ml, de 2,5 a 8,3 log UI/ml).

Especificidad

La especificidad objetivo del ensayo Abbott RealTime HCV en muestras de GSS es superior o igual al 99,5 %. Para determinar la especificidad, se analizaron 119 muestras seronegativas del VHC en 2 lotes de reactivos de amplificación. La especificidad general fue del 100 % (119/119).

Precisión

La precisión se evaluó analizando un panel de 6 muestras de GSS destinadas a cubrir el intervalo de concentración de ARN del VHC de 316 UI/ml a 200 millones de UI/ml. Las muestras con concentraciones inferiores a 5 UI/ml (100 000 UI/ml) se prepararon con una muestra clínica positiva para el VHC diluida en sangre completa 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 ARN blindado del VHC diluido en sangre completa negativa para el VHC. Todas las muestras del panel se analizaron en 5 réplicas una vez al día durante 5 días, en 3 pares de sistemas *m2000sp/rt* con 3 lotes de reactivos de amplificación. Se determinó la desviación estándar (DE) intraserial, interserial e interensayo (dentro de un ciclo y entre ciclos de análisis). El ensayo Abbott RealTime HCV para GSS se diseñó para lograr una desviación estándar (DE) interensayo igual o inferior a 0,25 log UI/ml de ARN del VHC en 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 en muestras de GSS se resumen en la **Tabla 2**.

Tabla 2. Precisión en muestras de GSS del ensayo Abbott RealTime HCV

Muestra de panel	N	Concentración media (UI/ml)	Concentración media (log UI/ml)	DE de componente intraserial ^{a,e}	DE de componente interserial ^a	DE interensayo ^{a,b}	DE de componente entre lotes/sistemas ^a	Total ^{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 Las desviaciones estándar (DE) se expresan en log UI/ml.

^b Interensayo incluye los componentes intraserials e interserials.

^c Total incluye los componentes intraserials, interserials y entre lotes/sistemas.

^d La concentración media de la muestra del panel 1 está por debajo del LDD. Los cálculos de precisión se basan en las réplicas cuantificadas.

^e La DE intraserial también se conoce como repetibilidad. La DE total también se conoce como reproducibilidad.

La repetibilidad y reproducibilidad de la muestra del panel 1 (cerca del LIC) fueron de 0,26 log UI/ml y 0,27 log UI/ml respectivamente, y para la muestra del panel 2 (cerca del LIC) 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 LSC) fueron de 0,12 log UI/ml y 0,14 log UI/ml respectivamente, y para la muestra del panel 6 (cerca del LSC) fueron de 0,04 log UI/ml y 0,07 log UI/ml respectivamente.

Correlación

Se comparó la cuantificación de ARN del VHC entre el ensayo Abbott RealTime HCV con gotas de sangre seca y el ensayo comparativo con el marcado CE, análisis de Abbott RealTime HCV con plasma humano. En el análisis se incluyeron muestras de plasma y GSS de un total de 346 sujetos (muestras obtenidas y analizadas en Georgia, Camerún y Grecia). Tanto las muestra de GSS preparadas a partir de sangre venosa como las preparadas con sangre capilar (punción digital) se analizaron con el ensayo Abbott RealTime HCV en muestras de GSS. Los resultados cuantitativos de las muestras incluidas 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 (GSS capilar frente a plasma N=346; GSS venosa frente a plasma N=346; GSS capilar frente a GSS venosa N=345). Para la correlación entre la GSS 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 interceptación fue del 0,48 log UI/ml (IC del 95 %, de 0,12 a 0,84) (**Figura 2**). Para la correlación entre la GSS 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 interceptación fue del 0,31 log UI/ml (IC del 95 %, de -0,07 a 0,69) (**Figura 3**). Para la correlación entre la GSS capilar y la GSS 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 interceptación fue del 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 **Figura 5**, **Figura 6** y **Figura 7**. La diferencia de sesgo media entre la GSS capilar y el plasma fue de -0,05 log UI/ml. La diferencia de sesgo media entre la GSS venosa y el plasma fue de -0,04 log UI/ml. La diferencia de sesgo media entre la GSS capilar y la GSS venosa fue de -0,02 log UI/ml.

El sesgo previsto entre la GSS capilar y el plasma se evaluó a los niveles objetivo de LSC y LIC. Además, el sesgo previsto entre la GSS venosa y el plasma se evaluó a los niveles objetivo de LSC y LIC. Consulte la **Tabla 3** para ver el resumen de los sesgos previstos.

Tabla 3. Sesgo previsto entre GSS (capilar o venosa) y plasma en LIC y LSC

Comparación	Nivel	Nivel objetivo de carga viral (log UI/ml)	Sesgo previsto (log UI/ml)
GSS capilar frente a plasma	LIC	2,66	0,24
	LSC	8,00	-0,26
GSS venosa frente a plasma	LIC	2,66	0,15
	LSC	8,00	-0,17

Figura 2. GSS capilar y plasma

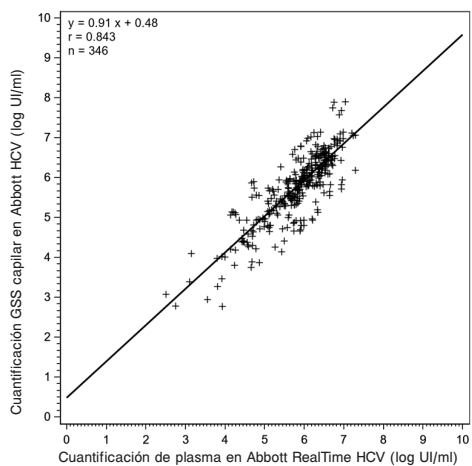


Figura 5. GSS capilar frente a plasma

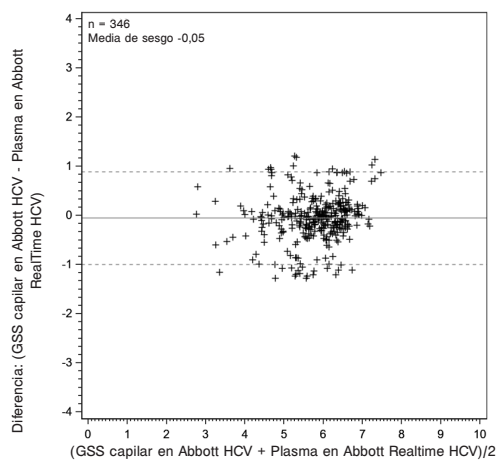


Figura 3. GSS venosa y plasma

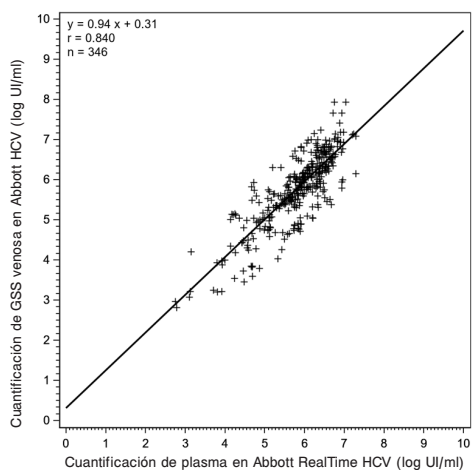


Figura 6. GSS venosa frente a plasma

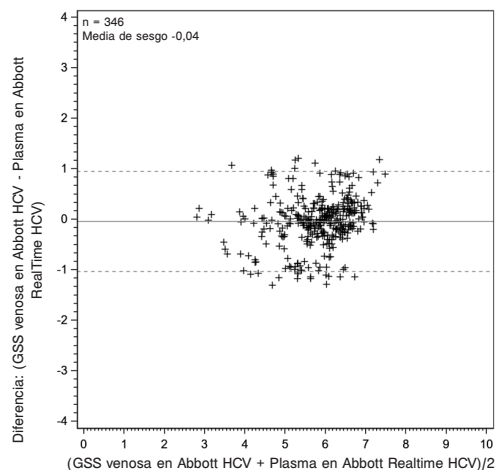


Figura 4. GSS capilar y GSS venosa

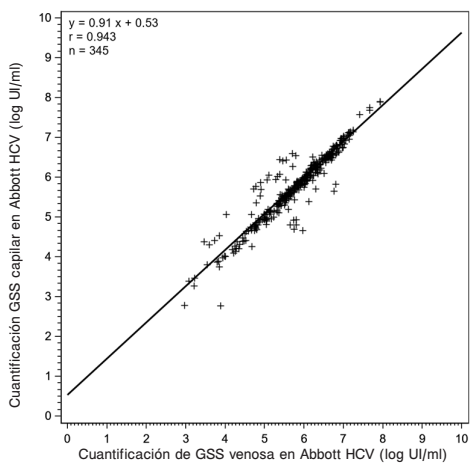
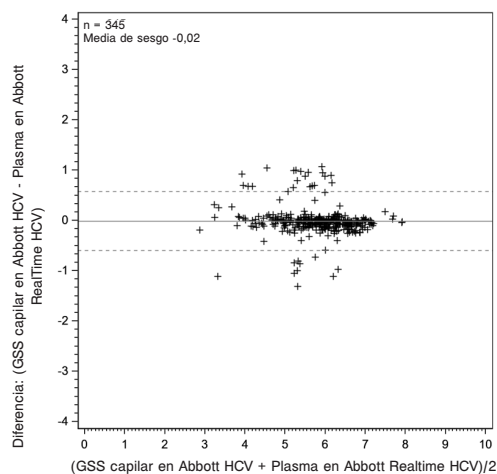


Figura 7. GSS capilar frente a GSS venosa



BIBLIOGRAFÍA

1. Gower E, Estes C, Blach S, et al. Global epidemiology and genotype distribution of the hepatitis C virus infection. *J Hepatol*. 2014; 61(1):S45-S57.
2. World Health Organization Updated Version April 2016: Guidelines for the screening, care and treatment of persons with hepatitis C infection. <http://www.who.int/hepatitis/publications/hepatitis-c-guidelines-2016/en/>.
3. AASLID/IDSA Recommendations for testing, managing and treating hepatitis C, revised April, 2017. www.hcvguidelines.org.
4. European Association of the Study of the Liver. Recommendation on Treatment of Hepatitis C 2018. *J. Hepatology* (2018).
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;39:1363-75.
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. *N Engl J Med* 1998;339(21):1493-9.
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):958-65.
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):975-82.
9. Hadziyannis SJ, Sette H Jr., Morgan TR, et al. Peginterferon- [alpha]2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose. *Ann Intern Med* 2004;140(5):346-55.
10. Orlent H, Deltenre P, Francque S, et al. Update of the Belgian Association for the Study of Liver Guidelines for the Treatment of Chronic Hepatitis C Genotype 1 with Protease Inhibitors. *Acta Gastro- Enterologica Belgica* 2012;LXXV:245-259.
11. Halfon P, Bourliere M, Penaranda G, Khiri H, and OuzinD. Real-time PCR assays for hepatitis C virus (HCV) RNA quantitation are adequate for clinical management of patients with chronic HCV infection. *J. Clin Microbiology* 2006;44(7): 2507-2511.
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):1611-8.
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):41-5.
14. WHO guidelines on hepatitis B and C testing. Geneva: World Health Organization; 2017.
15. Saldanha J, Heath A., 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 Sanguinis* 2005 Apr; 88 (3):202-204.

ASISTENCIA TÉCNICA

Si necesita asistencia técnica, llame al servicio técnico de Abbott Molecular al 1-800-553-7042 (en EE. UU.) o al +49-6122-580 (fuera de EE. UU.), o visite el sitio web de Abbott Molecular www.molecular.abbott/portal.

El Abbott RealTime HCV es importado a la Unión Europea por 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 Abbott. Reservados todos los derechos.

www.abbottmolecular.com

51-608440/R1

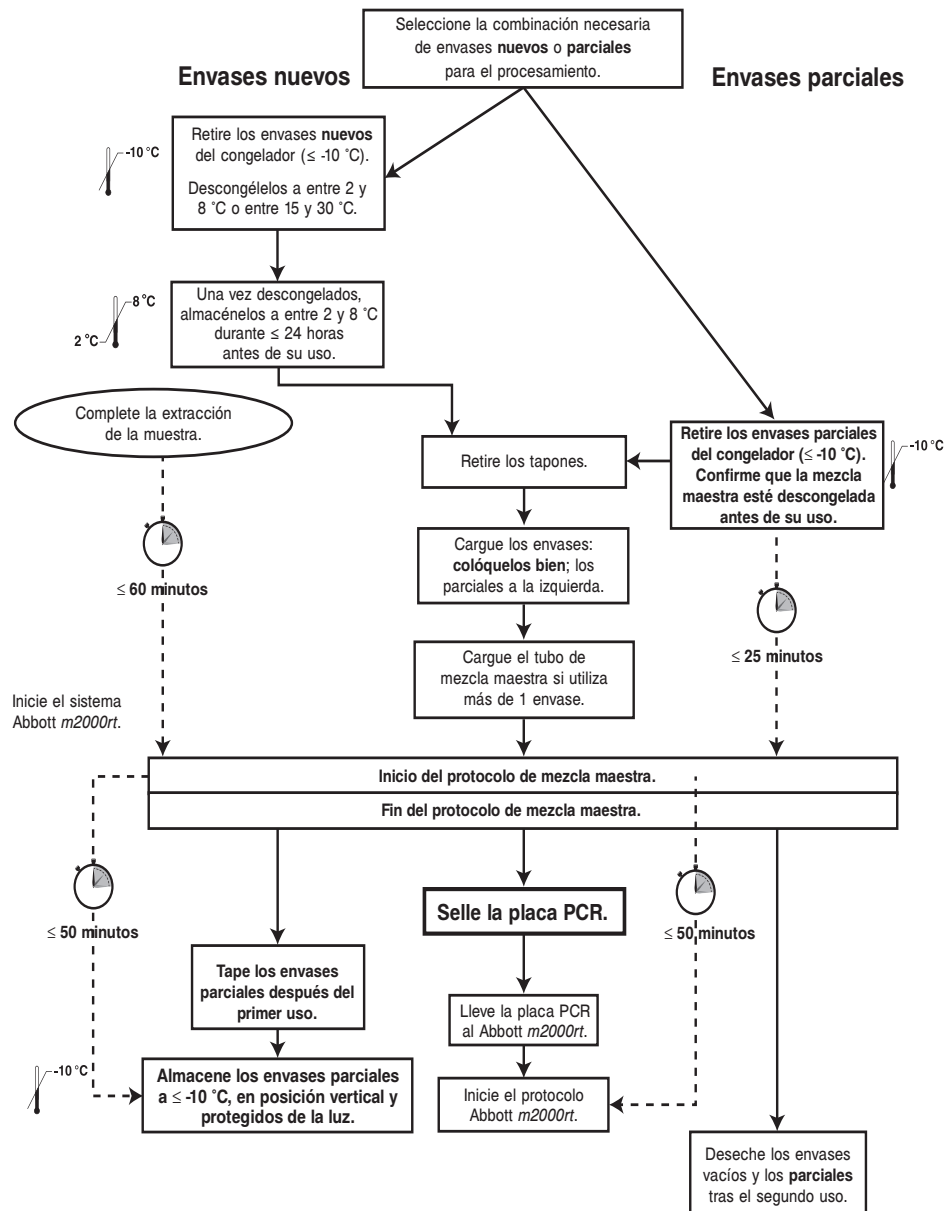
Julio 2020

APÉNDICE 1. DESCRIPCIÓN GENERAL DE LA FUNCIÓN DE USO AMPLIADO DE ABBOTT REALTIME HCV AMPLIFICATION REAGENT

La función de uso ampliado del reactivo de amplificación permite utilizar 2 veces los envases de reactivos de amplificación y el control interno (CI). Los envases de reactivos de amplificación que no se hayan utilizado para preparar la mezcla maestra se denominarán envases **nuevos** de reactivos de amplificación. Los envases de reactivos de amplificación que se hayan utilizado una vez y contengan mezcla maestra preparada se denominarán envases **parciales** de reactivos de amplificación. Consulte las instrucciones proporcionadas en este manual para obtener más información.

Condiciones de almacenamiento (Amplification Reagent Pack y viales de control interno)		
Tipo de envase	Temperatura de almacenamiento	Tiempo de almacenamiento
Envases nuevos	-10 °C o menos	Hasta la fecha indicada en la etiqueta
CI nuevo	-10 °C o menos	Hasta la fecha indicada en la etiqueta
Envases parciales	-10 °C o menos (protegido de la luz)	Hasta 14 días después del primer uso
CI parcial	-10 °C o menos	Hasta 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 encima del código de barras.
- Los envases de reactivos de amplificación **parciales** solo se pueden utilizar una segunda vez en el mismo instrumento del primer uso. Si se utilizan 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. Todos los envases de reactivos de amplificación utilizados en el instrumento para un ciclo deben tener el mismo número de lote.

Abbott RealTime HCV

Supplemento per test su goccia di sangue essiccato (DBS)

it

GTIN

REF

04J86-010

IVD

51-608440/R1

REF 04J86-010

51-608440/R1

Legenda dei simboli utilizzati	
	Codice GTIN
	Numero di riferimento
	Dispositivo medico-diagnostico in vitro
	Tempo massimo consentito
	Limite superiore di temperatura
	Limite di temperatura
	Rappresentante autorizzato per la Comunità Europea
	Produttore

ASSISTENZA CLIENTI INTERNAZIONALE:

CONTATTARE IL RAPPRESENTANTE 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 saggio.

Le presenti istruzioni per l'uso (IFU) costituiscono un supplemento al foglietto illustrativo del saggio Abbott RealTime HCV (n. di catalogo 4J86), specificamente per il tipo di campione DBS (goccia di sangue essiccato).

AVVISO PER L'UTENTE

Se si verifica un incidente grave in relazione all'uso di questo dispositivo, l'incidente deve essere segnalato 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 all'assistenza tecnica delle presenti istruzioni.

NOME

Abbott RealTime HCV

USO PREVISTO PER DBS

Abbott RealTime HCV è un saggio di reazione a catena della polimerasi con trascrittasi inversa (RT-PCR) in vitro per la quantizzazione 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 saggio Abbott RealTime HCV è destinato all'uso come ausilio nella gestione di pazienti infettati da HCV sottoposti a terapia antivirale. Il saggio 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.

UTILIZZATORI PREVISTI

Gli utilizzatori previsti del saggio Abbott RealTime HCV sono professionisti sanitari e di laboratorio.

SOMMARIO E SPIEGAZIONE DELL'ANALISI

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 del 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 del 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 saggio Abbott RealTime HCV per DBS impiega la tecnologia della reazione a catena della polimerasi con trascrittasi inversa (RT-PCR) in combinazione con il rilevamento omogeneo in tempo reale della fluorescenza per la quantizzazione del HCV-RNA in DBS. La selezione di una regione conservata del genoma dell'HCV consente il rilevamento dei genotipi da 1 a 6. Il saggio 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 DELLA PROCEDURA

Il saggio 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 saggio 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 saggio Abbott RealTime HCV per DBS consistono in: trattamento pre-analitico del campione DBS, preparazione del campione, assemblaggio di RT-PCR, amplificazione, rilevamento 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 m2000sp. Dopo il trattamento preanalitico della DBS, tutte le fasi successive sono eseguite automaticamente dai sistemi m2000sp e m2000rt.

Fare riferimento al foglietto illustrativo del saggio Abbott RealTime HCV (n. di catalogo 4J86) per ulteriori dettagli su preparazione del campione, assemblaggio di RT-PCR, amplificazione e rilevamento.

USO PROLUNGATO DEL REAGENTE PER AMPLIFICAZIONE

La funzione opzionale per l'uso prolungato 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 principale 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 principale 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 ACIDI NUCLEICI

Fare riferimento al foglietto illustrativo del saggio Abbott RealTime HCV (n. di catalogo 4J86).

REAGENTI

Fare riferimento al foglietto illustrativo del saggio Abbott RealTime HCV (n. di catalogo 4J86).

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

IVD

Per uso diagnostico **in vitro**

Il saggio Abbott RealTime HCV per DBS 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.

PRECAUZIONI RELATIVE ALLA SICUREZZA

Fare riferimento al foglietto illustrativo del saggio Abbott RealTime HCV (n. di catalogo 4J86). Il saggio RealTime HCV per DBS utilizza esclusivamente strumenti m2000sp e m2000rt.

PRECAUZIONI SPECIALI

Precauzioni per la manipolazione dei campioni DBS

Il saggio Abbott RealTime HCV per DBS deve essere utilizzato esclusivamente con campioni DBS o di sangue intero che sono stati manipolati e conservati come descritto nella sezione **RACCOLTA, CONSERVAZIONE E TRASPORTO DEI CAMPIONI AL CENTRO DI ANALISI**.

Fare riferimento al foglietto illustrativo del saggio Abbott RealTime HCV (n. di catalogo 4J86).

Precauzioni di manipolazione 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 manipolazione inadeguate 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 saggio Abbott RealTime HCV (n. di catalogo 4J86).

Contaminazione da aerosol

Fare riferimento al foglietto illustrativo del saggio Abbott RealTime HCV (n. di catalogo 4J86).

Contaminazione e inibizione

Fare riferimento al foglietto illustrativo del saggio Abbott RealTime HCV (n. di catalogo 4J86).

Contaminazione da prodotto amplificato contenente dU esterno

I laboratori che utilizzano o hanno utilizzato saggi 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 saggio Abbott RealTime HCV per DBS. Fare riferimento alla sezione **Monitoraggio del laboratorio per individuare la presenza di contaminazione** del foglietto illustrativo del saggio Abbott RealTime HCV (n. di catalogo 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 catalogo 4J86-90)



- Le confezioni Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Packs e le fiale Internal Control (IC) **nuove e parziali** devono essere conservate a una temperatura di -10°C o inferiore quando non in uso. Prestare attenzione a separare l'Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Pack 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 principale 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 catalogo 4J86-80)



- I controlli Abbott RealTime HCV Negative and Positive devono essere conservati a una temperatura di -10°C o inferiore.

Abbott RealTime HCV Calibrator Kit (n. di catalogo 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 saggio Abbott RealTime HCV (n. di catalogo 4J86).

INDICAZIONE DI INSTABILITÀ O DETERIORAMENTO DEI REAGENTI

Fare riferimento al foglietto illustrativo del saggio Abbott RealTime HCV (n. di catalogo 4J86).

PROCEDURA DELLO STRUMENTO

Prima di eseguire il saggio, 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 (elenco 1L69-040 o superiore). Per informazioni dettagliate sull'installazione del file dell'applicazione, fare riferimento ai Manuali d'uso di Abbott m2000sp e Abbott m2000rt, sezione Istruzioni d'uso.

RACCOLTA, CONSERVAZIONE E TRASPORTO DEI CAMPIONI AL CENTRO DI ANALISI

Raccolta e conservazione dei campioni

- 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 ($2-8^{\circ}\text{C}$ 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 $70\text{ }\mu\text{L}$ 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 nelle condizioni specificate nella tabella seguente prima dell'esecuzione del saggio.

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 dei campioni**. Per spedizioni nazionali e internazionali, i campioni devono essere imballati ed etichettati in conformità alle normative statali, federali e internazionali che regolano il trasporto di campioni clinici, diagnostici o biologici.

PROCEDURA DEL SAGGIO ABBOTT REALTIME HCV PER DBS

Materiale occorrente non fornito

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

Per l'area di preparazione dei campioni dell'Abbott m2000sp instrument

- Abbott mSample Preparation System DBS Buffer Kit (n. di catalogo 09N02-001)
- Abbott m2000sp instrument (n. di catalogo 9K14-01, 9K14-02)
- Abbott mSample Preparation System (4 × 24 prep.) (n. di catalogo 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 catalogo 04J71-80)
- Abbott 96-Deep-Well Plate (n. di catalogo 04J71-30)
- 5 mL Reaction Vessels (n. di catalogo 04J71-20)
- 200 mL Reagent Vessels (n. di catalogo 04J71-60)
- Abbott 96-Well Optical Reaction Plate (n. di catalogo 04J71-70)
- Abbott Optical Adhesive Covers (n. di catalogo 04J71-75)
- Abbott Adhesive Cover Applicators (n. di catalogo 9K32-01)
- Abbott Splash-Free Support Base (n. di catalogo 9K31-01)
- Abbott RealTime HCV m2000 ROW System Combined Application CD-ROM (n. di catalogo 1L69-040 o superiore)
- m2000 System 13mm DBS-PoS Set (n. di catalogo 09N03-001)
- 1.4 mL Micro Vial 15mm Caps (n. di catalogo 3N20-01), opzionale
- Uracil N-Glycosylase (uracile N-glicosilasi, UNG)^a (n. di catalogo 6L87-02)

^aSe necessario, in base alla sezione **Contaminazione da prodotto amplificato contenente dU esterno** delle presenti istruzioni per l'uso.

Per l'Abbott m2000rt Instrument Amplification Area

- Abbott m2000rt instrument (n. di catalogo 9K15-01)
- Abbott RealTime HCV m2000 ROW System Combined Application CD-ROM (n. di catalogo 1L69-040 o superiore)
- Abbott m2000rt Optical Calibration Kit (n. di catalogo 04J71-93)

Altri materiali

- Cappa di sicurezza biologica approvata per l'uso con materiali infettivi
- Sacchetto sigillabile per cartoncino DBS
- Sacchetto di essiccante per cartoncino DBS
- Cartoncino di carta Ahlstrom-Munktel 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

^b**Nota: 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 nel foglietto illustrativo del saggio Abbott RealTime HCV (n. di catalogo 4J86).**

Precauzioni procedurali

- Leggere attentamente le istruzioni contenute nelle presenti istruzioni per l'uso prima di processare i campioni.
 - I reagenti di 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 Abbott RealTime HCV 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 reperibili nella sezione **PROCEDURE DI CONTROLLO QUALITÀ**.
 - Per ridurre il rischio di contaminazione da acidi nucleici, pulire e disinfettare le fuoriuscite di campione, utilizzando un disinfettante tubercolicida 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 degli Abbott RealTime HCV Controls e Calibrators è parte integrante delle prestazioni del saggio Abbott RealTime HCV. Fare riferimento alla sezione **PROCEDURE DI CONTROLLO QUALITÀ**.
 - Il protocollo Master Mix Addition di Abbott m2000sp deve essere avviato entro 1 ora dal completamento della preparazione del campione.
 - Se il protocollo Master Mix Addition di 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 m2000rt deve essere iniziato entro 50 minuti dall'avvio del protocollo Master Mix Addition. Se la seduta dell'Abbott m2000rt instrument non viene avviata entro 50 minuti, o è interrotta o abbandonata, sigillare la piastra Abbott 96-Well Optical Reaction Plate in un sacchetto di plastica sigillabile e smaltirla conformemente all'Abbott m2000rt Operations Manual 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 Master Mix Addition.**

PROTOCOLLO DI SAGGIO: CAMPIONI DBS CON USO DEGLI STRUMENTI ABBOTT m2000sp E ABBOTT m2000rt

Per una descrizione dettagliata di come eseguire un protocollo dell'Abbott m2000sp instrument e dell'Abbott m2000rt instrument fare riferimento ai Manuali d'uso di Abbott m2000sp e Abbott m2000rt, sezione Istruzioni d'uso. Il protocollo DBS richiede Abbott m2000sp Software Version 6.0 o successiva. Seguire l'Abbott m2000sp Operations Manual (n. di catalogo 09K20 versione 6 o successiva). In ciascuna seduta di analisi è possibile processare un totale di 96 campioni. Ciascuna seduta di analisi include un controllo negativo, un controllo positivo basso e un controllo positivo alto, in tal modo 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 catalogo 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 provetta 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 provetta 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 vorticare i campioni con il vortex. Lasciare in incubazione per 30 minuti (± 2 minuti) a temperatura ambiente.
- Nel mentre, scongelare i controlli del saggio 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 saggio, 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 saggio 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 Amplification Master Mix.
- Selezionare amplification reagent packs **nuove** e/o **parziali** da utilizzare nella seduta di analisi. Fare riferimento all'Abbott *m2000sp* Operations Manual (n. di catalogo 09K20 versione 6 o successiva), sezione Istruzioni d'uso, 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 Amplification Master Mix.

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 Master Mix Addition. 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.

Richiesta di reagenti per la preparazione dei campioni e di controllo interno				
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 nuova o 3 fiale parziali	2 fiale nuova 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 dei flaconi 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 ALL'USO CON IL 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 supporto del sottosistema da 1 mL di Abbott *m2000sp*.
- Caricare i reagenti Abbott *mSample Preparation System* e la piastra Abbott 96 Deep-Well Plate sul piano di lavoro di Abbott *m2000sp*, come descritto nel Abbott *m2000sp* Operations Manual, sezione Istruzioni d'uso.
- Dalla schermata Protocol (Protocollo), selezionare il file dell'applicazione HCV RNA DBS. Avviare il protocollo di estrazione del campione come descritto nell'Abbott *m2000sp* Operations Manual, sezione Istruzioni d'uso.
- Immettere il calibratore (necessario se non è stata memorizzata una curva di calibrazione su Abbott *m2000rt*) e i valori specifici del lotto di 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 Master Mix Addition di 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 principale (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 principale.

Richiesta di Amplification Reagent Pack ^a			
Da 1 a 24 reazioni	Da 25 a 48 reazioni	Da 49 a 72 reazioni	Da 73 a 96 reazioni
1 senuova; fino a 4 con confezioni parziali	2 se nuove; fino a 4 con confezioni parziali	3 se nuove; fino a 4 con confezioni parziali	4 confezioni nuove o parziali

^a Fare riferimento all'Abbott *m2000sp* Operations Manual (n. di catalogo 09K20 versione 6 o successiva) per istruzioni sulla gestione dell'inventario per determinare il numero massimo di reazioni che è possibile analizzare con le confezioni parziali selezionate.

- Le confezioni di reagente per amplificazione parziali possono essere utilizzate solamente sullo stesso Abbott *m2000sp* instrument 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 principale 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.

- 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 principale.
- 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.
- Utilizzare una PIPETTA DEDICATA ESCLUSIVAMENTE ALL'USO CON IL REAGENTE per aggiungere il volume specificato di 1 U/μL di UNG (N. di catalogo 6L87-02) alla fiala di reagente nella posizione 3 di 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 di 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 principale.

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 analisi rimanenti nella confezione di reagente e non dal numero di campioni da analizzare. Fare riferimento all'Abbott *m2000sp* Operations Manual per le istruzioni relative alla gestione dell'inventario delle confezioni di reagente per amplificazione e per la determinazione del numero di analisi rimanenti in una confezione di reagente.

- Le confezioni per amplificazione parziali sono caricate a sinistra delle confezioni di reagente per amplificazione nuove sul piano di lavoro di Abbott *m2000sp*.
- Accertarsi che le confezioni di reagente per amplificazione siano saldamente posizionate sullo strumento.
- Selezionare la piastra a pozzetti profondi appropriata che corrisponde all'estrazione di preparazione del campione corrispondente. Avviare il protocollo Master Mix Addition di Abbott *m2000sp*. Seguire le istruzioni descritte nell'Abbott *m2000sp* Operations Manual, sezione Istruzioni d'uso.

NOTA: l'operatore non deve riempire manualmente alcun pozzetto vuoto/non riempito della piastra Abbott 96-Well Optical Reaction Plate.

- Al termine dell'estrazione del campione, Abbott *m2000sp* riempie automaticamente tutti i pozzetti vuoti della piastra 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 supporto reagenti 2 deve rimanere in posizione, contenendo almeno la vaschetta reagente per *mElution* Buffer (supporto reagenti 2, posizione 6). Se questa vaschetta reagente è stata rimossa, collocare una nuova vaschetta reagente con l'etichetta del *mElution* Buffer nel supporto reagenti 2, posizione 6. Il liquido del sistema sarà aggiunto alla vaschetta reagente e utilizzato per riempire i pozzetti vuoti. Una volta completato questo processo, il sistema continuerà con l'aggiunta Master Mix Addition.

NOTA: le istruzioni di sistema per l'uso della funzione di riempimento automatico delle piastre sono reperibili nel **Abbott m2000sp Operations Manual** (n. di catalogo 09K20 versione 6 o successiva), sezione 5, Istruzioni d'uso, estrazione del campione - modalità chiusa.

- Il protocollo Abbott m2000rt (fase 33) deve essere avviato entro 50 minuti dall'inizio del protocollo Master Mix Addition (fase 28).

NOTA: Se la sessione viene abbandonata per qualsiasi motivo dopo la fase 28, è necessario utilizzare una nuova piastra Abbott 96-Well Optical Reaction Plate se si ripete il protocollo Master Mix Addition di Abbott m2000sp (fase 28).

29. Accendere e inizializzare l'Abbott m2000rt instrument nell'area di amplificazione.

NOTA: l'Abbott m2000rt instrument richiede 15 minuti per il riscaldamento.

NOTA: togliere i guanti prima di tornare all'area di preparazione dei campioni.

30. Sigillare la piastra Abbott 96-Well Optical Reaction Plate dopo che l'Abbott m2000sp instrument ha completato l'aggiunta dei campioni e della miscela principale secondo quanto riportato nell'Abbott m2000sp Operations Manual, sezione Istruzioni d'uso.
31. Collocare la piastra di reazione ottica sigillata nel supporto Abbott Splash-Free Support Base per il trasferimento all'Abbott m2000rt instrument.

Se si utilizza la uracile N-glicosilasi (UNG), attenersi alle istruzioni riportate di seguito:

32. Trasferire la piastra ottica sigillata nel supporto 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 piastra Abbott 96-Well Optical Reaction Plate posizionata sul supporto Abbott Splash-Free Support Base allo strumento Abbott m2000rt.
33. Collocare la piastra 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 Abbott m2000rt Operations Manual, sezione Istruzioni d'uso.

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 dei 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 Abbott m2000sp Operations Manual.

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 catalogo 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 Master Mix Addition.

PROCEDURE POST-PROCESSAZIONE

1. Rimuovere la piastra Abbott 96 Deep-Well Plate dal piano di lavoro e smaltirla conformemente all'Abbott m2000sp Operations Manual.
2. Collocare la piastra Abbott 96-Well Optical Reaction Plate in un sacchetto di plastica sigillabile e smaltirla conformemente all'Abbott m2000rt Operations Manual insieme ai guanti utilizzati per maneggiarla.
3. Pulire il supporto Abbott Splash-Free Support Base prima del successivo utilizzo, secondo quanto indicato nell'Abbott m2000rt Operations Manual.

PROCEDURE DI CONTROLLO QUALITÀ

Calibrazione ottica di Abbott m2000rt

Fare riferimento al foglietto illustrativo del saggio Abbott RealTime HCV (n. di catalogo 4J86).

Calibrazione del saggio

Fare riferimento al foglietto illustrativo del saggio Abbott RealTime HCV (n. di catalogo 4J86).

Per l'analisi di campioni DBS mediante m2000sp e m2000rt: una calibrazione di Abbott RealTime HCV, una volta accettata e memorizzata, può essere utilizzata per 6 mesi. Durante questo periodo, è possibile analizzare 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.

Rilevamento dell'inibizione

Fare riferimento al foglietto illustrativo del saggio Abbott RealTime HCV (n. di catalogo 4J86).

Controlli negativo e positivo

Fare riferimento al foglietto illustrativo del saggio Abbott RealTime HCV (n. di catalogo 4J86).

Monitoraggio del laboratorio per individuare la presenza di contaminazione

Fare riferimento al foglietto illustrativo del saggio Abbott RealTime HCV (n. di catalogo 4J86).

RISULTATI PER I CAMPIONI DBS

Il risultato di concentrazione del campione DBS riportato dalla seduta del protocollo DBS di m2000rt rappresenta la concentrazione del virus HCV nel plasma del campione di sangue intero dal quale è stato ottenuto il campione DBS. L'Abbott m2000rt instrument riporta automaticamente i risultati sulla stazione di lavoro Abbott m2000rt. I risultati del saggio 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	>ULOQ ^b

^a 462 UI/mL

^b ULOQ = limite superiore di quantizzazione

LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

- **PER USO DIAGNOSTICO IN VITRO**
- L'esecuzione ottimale di questo test richiede raccolta, conservazione e trasporto appropriati dei campioni al centro di analisi (fare riferimento alla sezione **RACCOLTA, CONSERVAZIONE E TRASPORTO DEI CAMPIONI 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 analizzati con il saggio Abbott RealTime HCV per DBS. L'uso di altri anticoagulanti con il saggio Abbott RealTime HCV per DBS non è stato convalidato.
- L'uso del saggio Abbott RealTime HCV per DBS è riservato al personale addestrato alle procedure di preparazione e pre-processazione del campione DBS, a un saggio diagnostico molecolare e al sistema Abbott m2000.
- Gli strumenti e le procedure di saggio riducono il rischio di contaminazione da parte del prodotto di amplificazione. Tuttavia, è necessario tenere sotto controllo la contaminazione da acidi nucleici 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 saggio 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 per HCV-RNA.
- Raccolta, essiccazione, conservazione e manipolazione inadeguate 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 saggio Abbott RealTime HCV non è stato convalidato.

CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI SPECIFICHE PER CAMPIONI DBS

Limite di rilevabilità (LOD)

Il LOD del saggio Abbott RealTime HCV è 462 UI/mL con il tipo di campione DBS. Il LOD è stato determinato analizzando 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. L'analisi per ciascuna concentrazione di HCV-RNA è stata eseguita con 4 lotti di reagenti di amplificazione nel corso di 3 giorni. I risultati, rappresentativi delle prestazioni di sensibilità analitica del saggio Abbott RealTime HCV per DBS, sono riepilogati in **Tabella 1**.

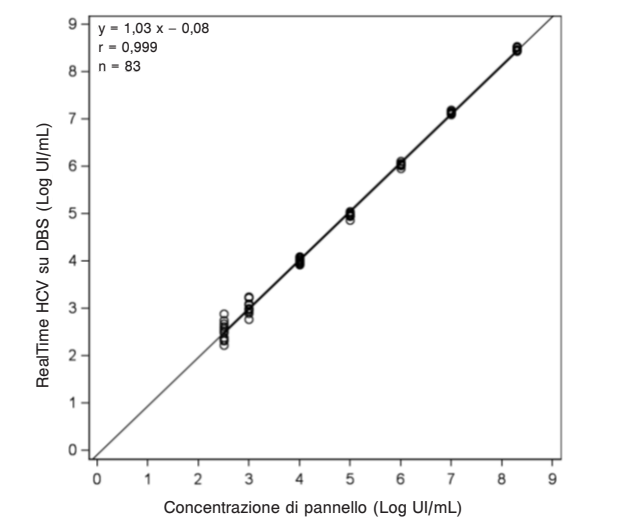
Tabella 1. Limite di rilevabilità (LOD) di Abbott RealTime HCV per DBS			
HCV-RNA (UI/mL)	Numero di campioni analizzati	Numero di campioni per cui si è ottenuto rilevamento	Percentuale di rilevamento
500	84	83	99
400	84	80	95
350	84	75	89
300	84	73	87
150	84	54	64
50	84	26	31

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 lineare

Il limite superiore di quantizzazione (ULOQ) per il saggio Abbott RealTime HCV è di 100 milioni di UI/mL e il limite inferiore di quantizzazione 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 per HCV. I risultati, rappresentativi della linearità del saggio RealTime HCV per DBS, sono mostrati in **Figura 1**.

Figura 1. Linearità del saggio Abbott RealTime HCV per DBS



Il saggio 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 di target del saggio Abbott RealTime HCV per DBS è superiore o uguale al 99,5%. La specificità è stata determinata analizzando 119 campioni siero-negativi per HCV, su 2 lotti di reagenti di amplificazione. La specificità complessiva è risultata del 100% (119/119).

Precisione

La precisione è stata valutata analizzando 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 per HCV diluito in sangue intero negativo per 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 per HCV. Ciascun elemento del pannello è stato testato in 5 repliche una volta al giorno per 5 giorni, su 3 coppie di *m2000sp/rt* con 3 lotti di reagenti di amplificazione. Sono state determinate le deviazioni standard (SD) all'interno di una seduta, tra sedute e inter-saggio (intra-seduta e inter-seduta). Il saggio Abbott RealTime HCV per DBS è stato progettato per ottenere una SD inter-saggio 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 saggio Abbott RealTime HCV per DBS, sono riepilogati in **Tabella 2**.

Tabella 2. Precisione del saggio Abbott RealTime HCV per DBS

Elemento del pannello	N	Concentrazione media (UI/mL)	Concentrazione media (Log UI/mL)	Componente intra-seduta della SD ^{a,e}	Componente inter-seduta della SD ^a	SD inter-saggio ^{a,b}	Componente inter-lotto/strumento della SD ^a	Totale ^{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 Le deviazioni standard (SD) sono in Log UI/mL.

^b Il valore inter-saggio contiene i componenti intra-seduta e inter-seduta.

^c Il totale include i componenti intra-seduta, inter-seduta e inter-lotto/strumento.

^d La concentrazione media dell'elemento 1 del pannello è inferiore al LOD. Le stime di precisione si basano sui replicati quantificati.

^e La SD intra-seduta è anche nota come ripetibilità. La SD totale è anche nota come riproducibilità.

La ripetibilità e la riproducibilità per l'elemento 1 del pannello (vicino al limite inferiore di quantizzazione, LLOQ) erano rispettivamente di 0,26 UI/mL e 0,27 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 quantizzazione, ULOQ) erano rispettivamente di 0,12 Log UI/mL e 0,14 Log UI/mL e per l'elemento 6 del pannello (vicino al ULOQ) erano rispettivamente di 0,04 Log UI/mL e 0,07 Log UI/mL.

Correlazione

È stato effettuato un confronto della quantizzazione dell'HCV-RNA tra il saggio Abbott RealTime HCV con uso di campioni DBS e il saggio 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 sottoposti ad analisi con il saggio 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 saggi 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 bersaglio di LLOQ e ULOQ. Inoltre, il bias previsto tra DBS venoso e plasma è stato valutato a livelli bersaglio di LLOQ e ULOQ. 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 ULOQ

Confronto	Livello	Livello bersaglio di carica virale (Log UI/mL)	Bias previsto (Log UI/mL)
DBS capillare vs plasma	LLOQ	2,66	0,24
	ULOQ	8,00	-0,26
DBS venoso vs plasma	LLOQ	2,66	0,15
	ULOQ	8,00	-0,17

Figura 2. DBS capillare e plasma

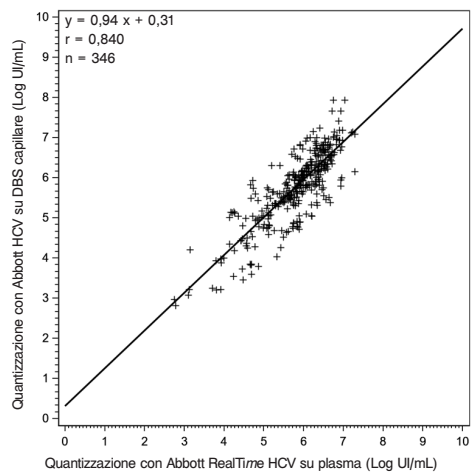


Figura 5. DBS capillare rispetto a plasma

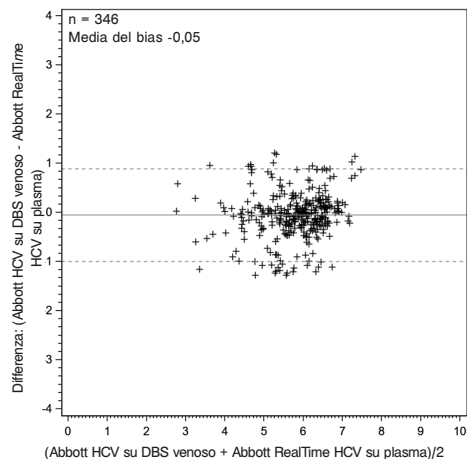


Figura 3. DBS venoso e plasma

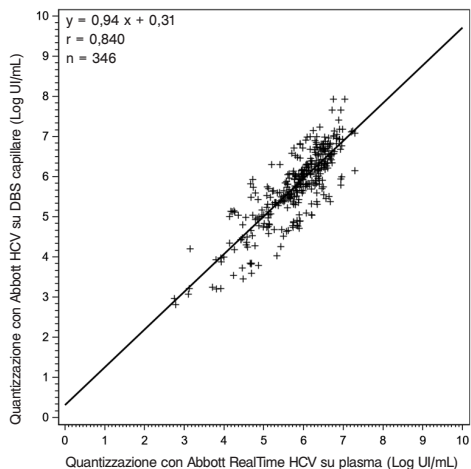


Figura 6. DBS venoso rispetto a plasma

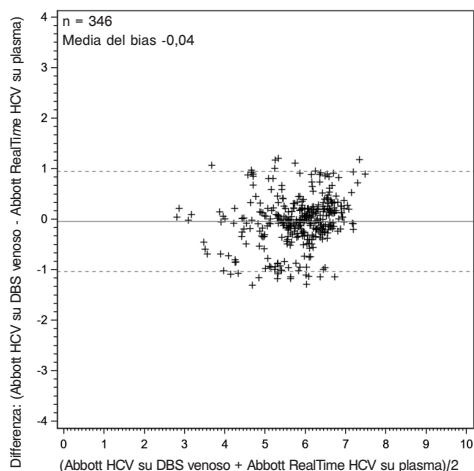


Figura 4. DBS capillare e DBS venoso

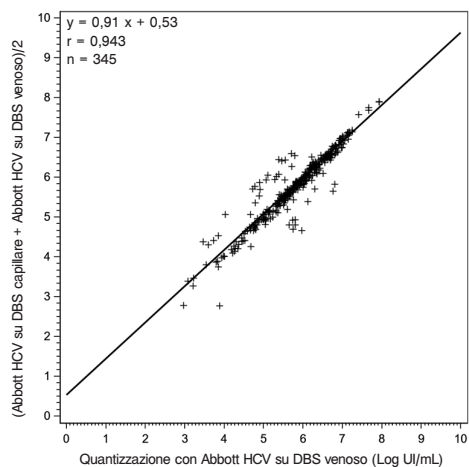
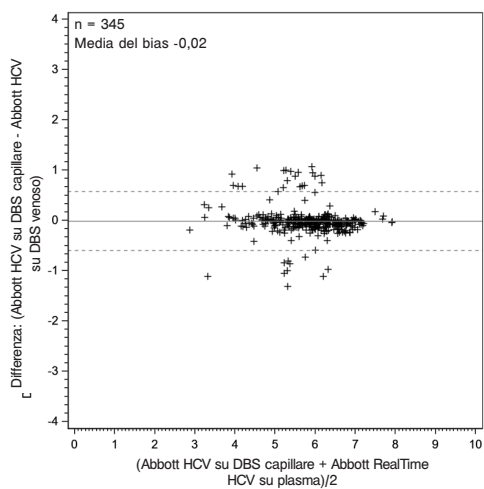


Figura 7. DBS capillare rispetto a DBS venoso



BIBLIOGRAFIA

1. Gower E, Estes C, Blach S, et al. Global epidemiology and genotype distribution of the hepatitis C virus infection. *J Hepatol*. 2014; 61(1):S45-S57.
2. World Health Organization Updated Version April 2016: Guidelines for the screening, care and treatment of persons with hepatitis C infection. <http://www.who.int/hepatitis/publications/hepatitis-c-guidelines-2016/en/>.
3. AASLD/IDSA Recommendations for testing, managing and treating hepatitis C, revised April, 2017. www.hcvguidelines.org.
4. European Association of the Study of the Liver. Recommendation on Treatment of Hepatitis C 2018. *J. Hepatology* (2018).
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;39:1363-75.
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. *N Engl J Med* 1998;339(21):1493-9.
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):958-65.
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):975-82.
9. Hadziyannis SJ, Sette H Jr., Morgan TR, et al. Peginterferon-[alpha]2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose. *Ann Intern Med* 2004;140(5):346-55.
10. Orlent H, Deltenre P, Francque S, et al. Update of the Belgian Association for the Study of Liver Guidelines for the Treatment of Chronic Hepatitis C Genotype 1 with Protease Inhibitors. *Acta Gastro-Enterologica Belgica* 2012;LXXV:245-259.
11. Halfon P, Bourliere M, Penaranda G, Khiri H, and Ouzind. Real-time PCR assays for hepatitis C virus (HCV) RNA quantitation are adequate for clinical management of patients with chronic HCV infection. *J. Clin Microbiology* 2006;44(7): 2507-2511.
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):1611-8.
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):41-5.
14. WHO guidelines on hepatitis B and C testing. Geneva: World Health Organization; 2017.
15. Saldanha J, Heath A., 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 Sanguinis* 2005 Apr; 88 (3):202-204.

ASSISTENZA TECNICA

Per assistenza tecnica, chiamare Abbott Molecular Technical Services al numero 1-800-553-7042 (dagli Stati Uniti) o +49-6122-580 (dall'esterno degli Stati Uniti), oppure visitare il sito di Abbott Molecular all'indirizzo www.molecular.abbott/portal.

Abbott RealTime HCV è importato nell'Unione Europea da Abbott Diagnostics GmbH, con sede in 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 Abbott. Tutti i diritti riservati.

www.abbottmolecular.com

51-608440/R1

Luglio 2020

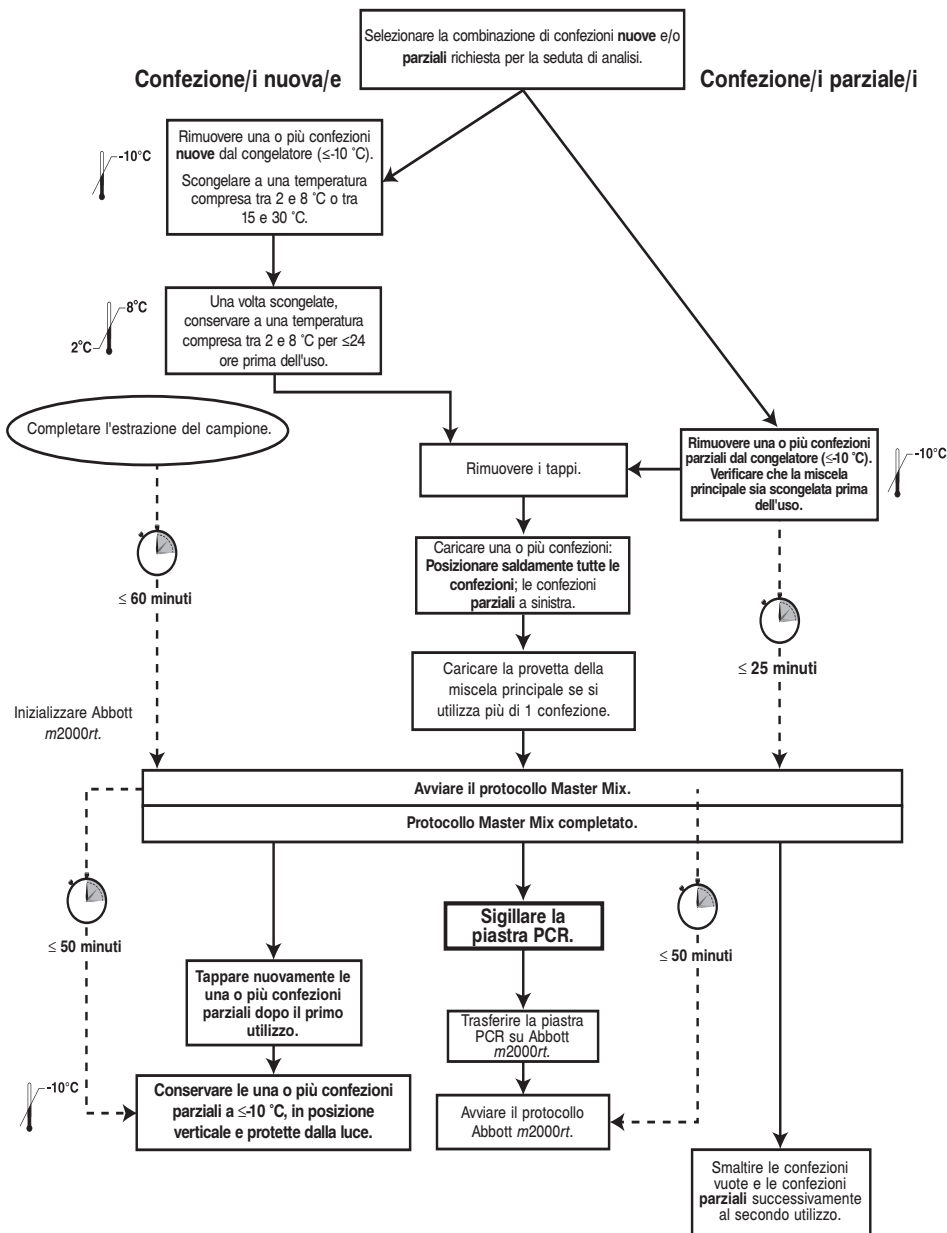
APPENDICE 1. PANORAMICA DELLA FUNZIONE PER L'USO PROLUNGATO DELL'ABBOTT REALTIME HCV AMPLIFICATION REAGENT

La funzione per l'uso prolungato del reagente per amplificazione consente l'uso di una confezione di reagente per amplificazione e del 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 principale sono chiamate Amplification reagent packs **nuove**. Le confezioni di reagente per amplificazione che sono state utilizzate una volta e contengono miscela principale preparata sono chiamate Amplification reagent packs **parziali**. Per ulteriori dettagli, fare riferimento alle istruzioni fornite nel presente manuale.

Condizioni di conservazione (Amplification Reagent Pack e fiale Internal Control)

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 (protette 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 saggio per le istruzioni specifiche.



- Le Amplification reagent packs idonee all'uso prolungato devono avere un numero di serie a 6 cifre sopra il codice a barre.
- Le Amplification reagent packs **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 Amplification reagent packs **parziali** e **nuove**. Tutte le confezioni di reagente per amplificazione utilizzate sullo strumento per una seduta devono avere lo stesso numero di lotto.

Abbott RealTime HCV

Suplemento para gota de sangue seco (DBS, Dried Blood Spot)

pt

GTIN

REF

04J86-010

IVD

51-608440/R1

REF 04J86-010

51-608440/R1

Legenda dos símbolos utilizados

GTIN

Número de artigo comercial global

REF

Número de referência

IVD

Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*



Tempo máximo permitido



Limite superior de temperatura



Limitação de temperatura

EC REP

Representante autorizado na Comunidade Europeia



Fabricante

SERVIÇO DE APOIO AO CLIENTE INTERNACIONAL: CONTACTE O SEU REPRESENTANTE DA ABBOTT

Leia com atenção este folheto informativo antes de utilizar o produto. Siga as instruções do folheto informativo. Não é possível garantir a fiabilidade dos resultados do ensaio se não forem cumpridas as instruções deste folheto informativo.

Estas instruções de utilização são um suplemento do folheto informativo do ensaio Abbott RealTime HCV (N.º de lista 4J86), especificamente para o tipo de amostra de gota de sangue seco (DBS, Dried Blood Spot).

AVISO AO UTILIZADOR

Se ocorrer um incidente grave relacionado com este dispositivo, o incidente deve ser comunicado ao fabricante e à autoridade competente adequada do Estado-Membro em que o utilizador e/ou o paciente se encontra estabelecido. Para comunicar o incidente ao fabricante, consulte as informações de contacto fornecidas na secção de assistência técnica presente nestas instruções.

NOME

Abbott RealTime HCV

UTILIZAÇÃO PREVISTA DE DBS

O ensaio Abbott RealTime HCV é um ensaio *in vitro* da reação em cadeia da polimerase de transcrição reversa (RT-PCR) para a quantificação do ARN viral da hepatite C (ARN-VHC) em sangue total, detetado em cartões de Guthrie como gotas de sangue (DBS) (isto é, obtidos por punção venosa ou sangue capilar) de indivíduos infetados com VHC. O ensaio Abbott RealTime HCV destina-se a ser utilizado como auxiliar na gestão de doentes infetados com VHC submetidos a terapia antiviral. O ensaio Abbott RealTime HCV não se destina a rastreio de VHC em dadores de sangue, plasma, soro ou tecido, nem a ser utilizado como teste de diagnóstico para confirmar a presença de infeção por VHC.

UTILIZADOR PREVISTO

Os utilizadores previstos para o ensaio Abbott RealTime HCV são profissionais de laboratório e de cuidados de saúde.

RESUMO E EXPLICAÇÃO DO TESTE

O vírus da hepatite C (VHC) é uma das principais causas de doença hepática. Estima-se que cerca de 1,1% da população esteja cronicamente infetada com hepatite C¹ e que aproximadamente 700 000 pessoas morram todos os anos devido a doença hepática relacionada com a hepatite C.² O VHC é um vírus ARN de cadeia

positiva que é transmitido principalmente através da utilização de drogas intravenosas e através de produtos sanguíneos. Cerca de 55 a 85% dos indivíduos infetados com VHC desenvolvem hepatite crónica, sendo que até 30% dos indivíduos cronicamente infetados desenvolvem cirrose¹. Em pacientes com cirrose, a incidência de carcinoma hepatocelular é de 2 a 4% por ano.¹

A medição quantitativa do nível de ARN do VHC no sangue periférico mostrou ser um parâmetro essencial na gestão de várias terapias anti-VHC.⁶⁻¹³ Com o surgimento de esquemas antivirais de ação direta, os tratamentos para infeção por VHC evoluíram significativamente. O objetivo das terapias anti-VHC é alcançar uma resposta virológica sustentada (RVS), apresentada como ausência contínua de ARN detetável do VHC.²⁻⁵ As medições da carga viral do VHC têm sido usadas para individualizar a duração do tratamento e a terapia guiada por resposta ou para determinar e prever uma resposta virológica sustentada ou não-sustentada da terapia antiviral.²⁻⁵

A maioria do peso global do VHC recai em países de rendimento médio-baixo (PRMB).¹⁴ A identificação de pacientes com infeção ativa por VHC é muito limitada nessas áreas com restrição de recursos. O sangue total colhido como gota de sangue seco (DBS) pode ser utilizado como alternativa ao soro ou plasma para testes de ARN de VHC. O DBS representa uma opção viável que elimina diversas limitações logísticas e técnicas associadas à colheita, processamento, conservação e envio de soro ou plasma. As diretrizes da Organização Mundial de Saúde (OMS) sobre testes de Hepatite C incluem recomendações para a utilização de DBS em testes virológicos de VHC realizados em áreas com recursos limitados.¹⁴

O ensaio Abbott RealTime HCV para DBS utiliza reação em cadeia da polimerase de transcrição reversa (RT-PCR) combinada com uma detecção fluorescente homogénea em tempo real para a quantificação do ARN do VHC em DBS. A seleção de uma região conservada do genoma do VHC permite a detecção dos genótipos de 1 a 6. O ensaio é normalizado de acordo com a 2.ª norma internacional da OMS para o ARN do vírus da hepatite C (Código NIBSC 96/798)¹⁵ e os resultados são apresentados em unidades internacionais/ml (UI/ml) ou o seu equivalente em logaritmo de base 10.

PRINCÍPIOS BIOLÓGICOS DO PROCEDIMENTO

O ensaio Abbott RealTime HCV para DBS requer 3 kits de reagentes:

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

O ensaio Abbott RealTime HCV para DBS utiliza RT-PCR para gerar um produto amplificado a partir do genoma de ARN do VHC em amostras de DBS humanas. As etapas do ensaio Abbott RealTime HCV para DBS consistem em tratamento pré-analítico de DBS, preparação de amostras, montagem RT-PCR, amplificação, detecção e relatório de resultados. O tratamento pré-analítico de DBS é realizado utilizando o Abbott mSample Preparation System DBS Buffer Kit antes do carregamento das amostras no sistema m2000sp. Após o tratamento pré-analítico de DBS, todos os passos subsequentes são executados automaticamente pelos sistemas m2000sp e m2000rt.

Consulte o folheto informativo do ensaio Abbott RealTime HCV (N.º de lista 4J86) para obter mais detalhes sobre a preparação da amostra, montagem de RT-PCR, amplificação e detecção.

UTILIZAÇÃO PROLONGADA DO REAGENTE DE AMPLIFICAÇÃO

A funcionalidade opcional de utilização prolongada do reagente de amplificação permite que as embalagens de reagente de amplificação e o CI (controlo interno) sejam utilizados 2 vezes no total. As embalagens de reagente de amplificação que contêm a master mix preparada podem ser conservadas a uma temperatura igual ou inferior a -10 °C, tapadas e ao abrigo da luz, durante um período máximo de 14 dias antes da segunda utilização.

O controlo interno (CI) pode ser conservado tapado a uma temperatura de

-10 °C ou inferior, durante um período máximo de 14 dias antes da segunda utilização. A segunda utilização não deve exceder o prazo de validade do reagente.

No Anexo 1 das presentes instruções de utilização é apresentada uma descrição geral desta funcionalidade.

Ao longo destas instruções de utilização, as embalagens de reagente de amplificação e o CI que ainda não tenham sido utilizados serão denominados embalagens novas de reagente de amplificação e CI (ou seja, utilização inicial). As embalagens de reagente de amplificação que tenham sido utilizadas uma vez e contenham uma master mix preparada serão designadas de embalagens parciais de reagente de amplificação. Os frascos de CI que tenham sido utilizados uma vez serão denominados frascos de CI parciais.

PREVENÇÃO DA CONTAMINAÇÃO DE ÁCIDOS NUCLEICOS

Consulte o folheto informativo do ensaio Abbott RealTime HCV (N.º de lista 4J86).

REAGENTES

Consulte o folheto informativo do ensaio Abbott RealTime HCV (N.º de lista 4J86).

AVISOS E PRECAUÇÕES

IVD

Para utilização em diagnóstico *in vitro*

O ensaio Abbott RealTime HCV para DBS não se destina a rastreio de VHC em dadores de sangue, plasma, soro ou tecido, nem a ser utilizado como teste de diagnóstico para confirmar a presença de infeção por VHC.

PRECAUÇÕES DE SEGURANÇA

Consulte o folheto informativo do ensaio Abbott RealTime HCV (N.º de lista 4J86). O ensaio RealTime HCV para DBS utiliza apenas instrumentos *m2000sp* e *m2000rt*.

PRECAUÇÕES ESPECIAIS

Precauções de manuseamento de amostras de DBS

O ensaio Abbott RealTime HCV para DBS destina-se apenas a utilização com sangue total ou amostras DBS que tenham sido manuseadas e conservadas conforme descrito na secção de **COLHEITA, CONSERVAÇÃO E TRANSPORTE DE AMOSTRAS PARA O CENTRO DE TESTE**.

Consulte o folheto informativo do ensaio Abbott RealTime HCV (N.º de lista 4J86).

Precauções de manuseamento específicas para DBS:

- Certifique-se de que os cartões de Guthrie estão totalmente secos antes de os conservar em sacos com dessecantes. A aplicação no cartão, secagem, conservação e manuseamento inadequados de DBS pode levar a resultados de teste imprecisos.
- Para evitar a contaminação por transferência de excedentes, utilize uma nova ponta de pipeta para cada amostra DBS ao empurrar a gota para fora do cartão de Guthrie perfurado. Se utilizar um cartão de Guthrie não perfurado, certifique-se de que a ferramenta utilizada para excisar a gota é descontaminada antes e depois do contacto com a amostra de DBS.

Áreas de trabalho

São recomendadas apenas duas áreas dedicadas, área de preparação de amostras e área de amplificação, ao utilizar o Abbott *m2000sp* e o Abbott *m2000rt*.

Consulte o folheto informativo do ensaio Abbott RealTime HCV (N.º de lista 4J86).

Contaminação por aerossóis

Consulte o folheto informativo do ensaio Abbott RealTime HCV (N.º de lista 4J86).

Contaminação e inibição

Consulte o folheto informativo do ensaio Abbott RealTime HCV (N.º de lista 4J86).

Contaminação proveniente de produto amplificado externo com dU

Os laboratórios que utilizem ou tenham utilizado ensaios de amplificação de VHC que incluam o processamento pós-PCR do produto amplificado podem ser contaminados pelo produto amplificado que contenha dU. Essa contaminação pode causar resultados imprecisos no ensaio Abbott RealTime HCV para DBS. Consulte a secção **Monitorização laboratorial da presença de contaminação** do folheto informativo do ensaio Abbott RealTime HCV (N.º de lista 4J86). Quando os controlos negativos são persistentemente reativos ou quando é provável

que tenha ocorrido contaminação com produto amplificado de VHC que contenha dU, recomenda-se que o laboratório utilize o procedimento de controlo de contaminação por uracil-N-glicosilase (UNG) se a descontaminação do laboratório não for bem-sucedida.

INSTRUÇÕES DE CONSERVAÇÃO

Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit (N.º de lista 4J86-90)



- As Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Packs e os frascos Internal Control (IC) **Novos** e **Parciais** têm de ser conservados a uma temperatura de -10 °C ou inferior quando não estão a ser utilizados. É necessário ter cuidado para evitar que o Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Pack que está a ser utilizado entre em contacto direto com amostras, calibradores e controlos.
- As embalagens de reagente de amplificação e CI **parciais** têm de ser conservados a uma temperatura igual ou inferior a -10 °C, 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 de 14 dias após a utilização inicial. O CI também pode ser utilizado uma segunda vez no prazo de 14 dias após a descongelação se for conservado tapado a uma temperatura igual ou inferior a -10 °C. Após 2 utilizações, as embalagens de reagente de amplificação parcial e o CI devem ser eliminados. A segunda utilização não deve exceder o prazo de validade do reagente.

Abbott RealTime HCV Control Kit (N.º de lista 4J86-80)



- Os controlos negativos e positivos do Abbott RealTime HCV devem ser conservados a uma temperatura igual ou inferior a -10 °C.

Abbott RealTime HCV Calibrator Kit (N.º de lista 4J86-70)



- Os Abbott RealTime HCV Calibrator A e Calibrator B devem ser conservados a uma temperatura igual ou inferior a -10 °C.

CONDIÇÕES DE ENVIO

Consulte o folheto informativo do ensaio Abbott RealTime HCV (N.º de lista 4J86).

INDICAÇÃO DE INSTABILIDADE OU DETERIORAÇÃO DOS REAGENTES

Consulte o folheto informativo do ensaio Abbott RealTime HCV (N.º de lista 4J86).

PROCEDIMENTO DO INSTRUMENTO

O ficheiro da aplicação Abbott RealTime HCV para DBS tem de ser instalado nos sistemas Abbott *m2000sp* e Abbott *m2000rt* a partir do CD-ROM Abbott RealTime HCV *m2000* ROW System Combined Application (N.º de lista 1L69-040 ou superior) antes da realização do ensaio. Para obter informações detalhadas sobre a instalação do ficheiro da aplicação, consulte a secção Instruções de funcionamento dos manuais de operação do Abbott *m2000sp* e Abbott *m2000rt*.

COLHEITA, CONSERVAÇÃO E TRANSPORTE DE AMOSTRAS PARA O CENTRO DE TESTE

Colheita e conservação de amostras

- Para preparar a DBS, utilize uma picada no dedo ou sangue total com EDTA. O sangue total com EDTA deve ser mantido em condições de temperatura controlada durante a conservação e o envio (entre 2 °C e 8 °C durante um período máximo de 48 horas ou temperatura ambiente não superior a 30 °C durante um período máximo de 24 horas).
- O sangue total com EDTA colhido num tubo deve ser completamente misturado através de inversões suaves antes da aplicação no cartão de colheita. Coloque o sangue nos círculos de meia polegada (12 milímetros) no cartão de papel Ahlstrom-Munktel TFN ou Whatman 903, certificando-se de que todo o círculo é coberto. Recomenda-se a utilização de, pelo menos, 70 µl de sangue (aproximadamente 3 a 5 gotas de sangue) para cada círculo, de forma a garantir uma cobertura total.

- Deixe o cartão secar ao ar à temperatura ambiente durante um mínimo de 3 horas. Embale cada cartão num saco selado com embalagens de dessecante (pelo menos 2 a 3 embalagens de dessecante).
- Os cartões de amostras de DBS podem ser conservados nas condições especificadas na tabela abaixo antes do processamento do ensaio.

Conservação do cartão de amostras de DBS	
Condição	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 com humidade elevada (≤ 85%)	4 semanas
-25 °C a -15 °C à humidade ambiente	18 semanas
-70 °C ou menos à humidade ambiente	18 semanas

Transporte de amostras

Envie as amostras de acordo com a temperatura e o tempo de conservação recomendados, indicados na secção **Colheita e conservação de amostras** acima. Para envios nacionais e internacionais, as amostras devem ser embaladas e rotuladas em conformidade com os regulamentos estaduais, federais e internacionais aplicáveis relativos ao transporte de amostras clínicas, de diagnóstico ou biológicas.

PROCEDIMENTO DO ENSAIO ABBOTT REALTIME HCV PARA DBS

Materiais necessários, mas não fornecidos

- Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit (N.º de lista 4J86-90)
- Abbott RealTime HCV Calibrator Kit (N.º de lista 4J86-70)
- Abbott RealTime HCV Control Kit (N.º de lista 4J86-80)

Para a área de preparação de amostras do instrumento Abbott m2000sp

- Abbott mSample Preparation System DBS Buffer Kit (N.º de lista 09N02-001)
- Instrumento Abbott m2000sp (N.º de lista 9K14-01, 9K14-02)
- Abbott mSample Preparation System (4 × 24 preparações) (N.º de lista 04J70-24)
- Pipetas de precisão calibradas com capacidade para fornecer entre 20 e 1000 µl (podem ser necessárias pipetas de precisão calibradas com capacidade para fornecer <20 µl se utilizar UNG.)
- Pontas de pipeta com barreira de aerossóis para pipetas de 20 a 1000 µL (podem ser necessárias pontas de pipeta com barreira de aerossóis capazes de fornecer <20 µl se utilizar UNG.)
- Misturador de vórtex
- Master Mix Tube (N.º de lista 04J71-80)
- Abbott 96-Deep-Well Plate (N.º de lista 04J71-30)
- 5 mL Reaction Vessels (N.º de lista 04J71-20)
- 200 mL reagent vessels (N.º de lista 04J71-60)
- Abbott 96-Well Optical Reaction Plate (N.º de lista 04J71-70)
- Abbott Optical Adhesive Covers (N.º de lista 04J71-75)
- Abbott Adhesive Cover Applicators (N.º de lista 9K32-01)
- Abbott Splash-Free Support Base (N.º de lista 9K31-01)
- CD-ROM Abbott RealTime HCV m2000 ROW System Combined Application (N.º de lista 1L69-040 ou superior)
- m2000 System 13mm DBS-PoST Set (N.º de lista 09N03-001)
- 1.4 mL Micro Vial 15mm Caps (N.º de lista 3N20-01) opcionais
- Uracil-N-glicosilase (UNG)^a (N.º de lista 6L87-02)

^a Se necessário, de acordo com a secção **Contaminação proveniente de produto amplificado externo com dU** destas instruções de utilização.

Para a área de amplificação do instrumento Abbott m2000rt

- Instrumento Abbott m2000rt (N.º de lista 9K15-01)
- CD-ROM Abbott RealTime HCV m2000 ROW System Combined Application (N.º de lista 1L69-040 ou superior)
- Abbott m2000rt Optical Calibration Kit (N.º de lista 04J71-93)

Outros materiais

- Armário de segurança biológica aprovado para trabalho com materiais infecciosos
- Saco selado para cartão de Guthrie
- Embalagem de dessecante para cartão de Guthrie
- Cartão de papel Ahlstrom-Munktel TFN e/ou Whatman 903
- Saco de plástico selável para eliminação da placa de reação de 96 poços
- Água isenta de ARNase (Eppendorf ou equivalente)^b
- Tubos de microcentrifugação de grau biológico molecular de 1,7 ml (Dot Scientific, Inc. ou equivalente)^b
- Aplicadores de ponta de algodão (Puritan ou equivalente)^b

^b Nota: estes 3 itens são utilizados no procedimento de Monitorização laboratorial da presença de contaminação. Consulte a secção **PROCEDIMENTOS DE CONTROLO DE QUALIDADE** no folheto informativo do ensaio Abbott RealTime HCV (N.º de lista 4J86).

Precauções de procedimento

- Leia cuidadosamente estas instruções de utilização antes de processar amostras.
 - Os reagentes de amplificação e o controlo interno podem ser utilizados até 2 vezes, conforme descrito nas presentes instruções de utilização. Os frascos Abbott RealTime HCV Calibrators, Negative Control, Low Positive Control e High Positive Control destinam-se a serem utilizados uma única vez e devem ser eliminados após a utilização.
 - Utilize pontas de pipeta com barreira de aerossóis ou pipetas descartáveis apenas uma vez quando pipetar amostras ou CI. Para impedir a contaminação do interior da pipeta durante a pipetagem, deverá ter o cuidado de evitar tocar no tubo da pipeta para o interior do tubo ou recipiente de amostras. Recomenda-se a utilização de pontas de pipeta com barreira de aerossóis.
 - Pode encontrar os procedimentos de monitorização da presença do produto de amplificação na secção **PROCEDIMENTOS DE CONTROLO DE QUALIDADE**.
 - Para reduzir o risco de contaminação com ácido nucleico, limpe e desinfete derrames de amostras utilizando um desinfetante tuberculocida como, por exemplo, hipoclorito de sódio a 1,0% ou outro desinfetante adequado.
 - Os Abbott RealTime HCV Calibrators and Controls devem ser preparados conjuntamente com as amostras a testar. A utilização dos Abbott RealTime HCV Controls and Calibrators faz parte do desempenho do ensaio Abbott RealTime HCV. Consulte a secção **PROCEDIMENTOS DE CONTROLO DE QUALIDADE**.
 - O protocolo Master Mix Addition do Abbott m2000sp deve ser iniciado no prazo de 1 hora após a conclusão da preparação da amostra.
 - Se o protocolo Master Mix Addition do Abbott m2000sp for cancelado, elimine os reagentes de amplificação que estavam a ser utilizados pela segunda vez. As novas embalagens de reagente utilizadas pela primeira vez podem ser guardadas e conservadas para utilização posterior, conforme descrito neste manual.
 - O protocolo m2000rt deve ser iniciado no espaço de 50 minutos após o início do protocolo Master Mix Addition. Se o processamento do instrumento Abbott m2000rt não for iniciado no espaço de 50 minutos, for interrompido ou cancelado, sele a Abbott 96-Well Optical Reaction Plate num saco de plástico selável e elimine-a de acordo com o 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 devem ser conservados a uma temperatura igual ou inferior a -10 °C no espaço de 50 minutos após a iniciação do protocolo Master Mix Addition.**

PROTOCOLO DO ENSAIO: AMOSTRAS DE DBS UTILIZANDO OS INSTRUMENTOS ABBOTT m2000sp E ABBOTT m2000rt

Para obter uma descrição detalhada sobre como realizar um protocolo do instrumento Abbott m2000sp e do instrumento Abbott m2000rt, consulte as secções de instruções de operação dos manuais de operação do Abbott m2000spe do Abbott m2000rt. O protocolo DBS requer a versão 6.0 ou superior do software Abbott m2000sp. Respeite o Manual de Operação do Abbott m2000sp (N.º de lista 09K20 versão 6 ou superior).

É possível processar um total de 96 amostras de cada vez. Um controlo negativo, um controlo positivo baixo e um controlo positivo alto estão incluídos em cada execução, permitindo assim processar um máximo de 93 amostras de DBS por ensaio quando os calibradores não estão incluídos. Processe os calibradores e os controlos diretamente como amostras líquidas; os passos 1 a 5 referem-se apenas a DBS. Não processe amostras de plasma ou soro em nenhuma execução em que seja utilizado o protocolo DBS. Para cada amostra de DBS, deve ser utilizado um único Abbott Master Mix Tube para todo o procedimento de processamento de amostras. Certifique-se de que as amostras DBS são rotuladas durante o processamento.

- Encha o Abbott Master Mix Tube com 1,3 ml de tampão *m*DBS do Abbott *m*Sample Preparation system DBS Buffer Kit (N.º de lista 09N02-001).

NOTA: não utilize tampão *m*Lysis nem quaisquer outros reagentes para este passo

- Segure no cartão de Guthrie perfurado acima do Abbott Master Mix Tube.
- Empurre o círculo de DBS para fora do cartão utilizando uma ponta de pipeta limpa, 1 círculo DBS por Master Mix Tube. Cada DBS deve ter aproximadamente meia polegada (12 milímetros) de diâmetro.

NOTA: UTILIZE UMA NOVA PONTA DE PIPETA PARA CADA AMOSTRA DBS, PARA EVITAR CONTAMINAÇÃO CRUZADA.

Em alternativa, a partir de papel DBS não perfurado, corte 1 DBS completa (aproximadamente meia polegada de diâmetro) para cada amostra e transfira-a para um Master Mix Tube.

NOTA: evite o contacto direto da superfície de corte com amostras de DBS. Descontamine a ferramenta utilizada para cortar DBS entre as amostras, se necessário, de acordo com as boas práticas laboratoriais.

- Certifique-se de que o círculo de DBS está totalmente submerso no tampão *m*DBS batendo no tubo ou utilizando a ponta da pipeta para empurrar a DBS para o tampão.

NOTA: se utilizar uma ponta de pipeta para empurrar a DBS para o tampão, certifique-se de que a ponta da pipeta não causa perda de volume do tampão de DBS devido à contenção de líquidos na ponta e/ou absorção do tampão pelo filtro da ponta.

- Agite ou mexa manualmente os tubos de amostra. Não sujeite as amostras a vórtex. Incube durante 30 minutos (± 2 minutos) à temperatura ambiente.
- Entretanto, descongele os controlos de ensaio e o controlo interno (CI) entre 15 °C a 30 °C ou entre 2 °C a 8 °C. Descongele os calibradores entre 15 °C a 30 °C ou entre 2 °C a 8 °C apenas se efetuar um processo de calibração.

NOTA: uma vez descongelados, os controlos de ensaio, CI e calibradores podem ser conservados entre 2 °C e 8 °C durante até 24 horas antes da utilização.

- Agite por vórtex cada calibrador de ensaio e cada controlo 3 vezes durante 2 a 3 segundos antes da utilização. Certifique-se de que o conteúdo de cada frasco se encontra no fundo, batendo os frascos sobre a bancada para que o líquido passe para o fundo do frasco. Certifique-se de que não se formam bolhas ou espuma; se existirem, remova com uma ponta de pipeta esterilizada, utilizando uma ponta nova para cada frasco.
- Descongele os reagentes de amplificação entre 15 °C e 30 °C ou entre 2 °C e 8 °C e conserve entre 2 °C e 8 °C até serem necessários para o procedimento de master mix de amplificação.
- Selecione as embalagens de amplificação **novas** e/ou **parciais** a utilizar no processamento. Consulte a secção Instruções de operação do Abbott *m*2000sp Operations Manual (N.º de Lista 09K20 versão 6 ou superior) para obter instruções sobre a gestão de inventário das embalagens de reagente de amplificação. As embalagens de reagente de amplificação têm de ter o mesmo número de lote. Descongele os reagentes de amplificação **novos** entre 15 °C e 30 °C ou entre 2 °C e 8 °C e conserve entre 2 °C e 8 °C até serem necessários para o procedimento de master mix de amplificação.

NOTA: uma vez descongelados, os reagentes de amplificação novos podem ser conservados entre 2 °C e 8 °C durante até 24 horas se não forem utilizados imediatamente. As embalagens de reagente de amplificação parciais a serem utilizadas uma segunda vez NÃO devem ser conservadas entre 2 °C e 8 °C antes da utilização. Devem ser mantidas a uma temperatura igual ou inferior a -10 °C até serem necessárias para a adição da master mix. Depois de serem retiradas do congelador, a exposição cumulativa à temperatura ambiente não deve ultrapassar os 25 minutos, incluindo casos em que as embalagens são retiradas do local de conservação, mas não são utilizadas. Se forem ultrapassados os 25 minutos, elimine as embalagens de reagente de amplificação parciais.

A tabela seguinte apresenta o número de reagentes de preparação de amostras e frascos de controlo interno necessários com base no número de reações.

Requisitos de controlo interno e reagentes para preparação de amostras				
Reagente	1 a 24 reações	25 a 48 reações	49 a 72 reações	73 a 96 reações
<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
<i>m</i> Elution Buffer	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.

- Inverta os frascos de Abbott *m*Sample Preparation suavemente para assegurar uma solução homogénea. Se forem observados cristais em qualquer um dos frascos de reagente ao abrir, deixe o reagente estabilizar à temperatura ambiente até que os cristais desapareçam. Não utilize os reagentes até os cristais estarem dissolvidos.
- Agite por vórtex cada CI 3 vezes durante 2 a 3 segundos antes da utilização.
- Utilize uma pipeta de precisão calibrada, **DEDICADA APENAS À UTILIZAÇÃO COM CONTROLO INTERNO** para adicionar 500 µl de CI a cada frasco de *m*Lysis Buffer. Misture, invertendo cuidadosamente o recipiente 5 a 10 vezes para minimizar a formação de espuma. Os frascos parciais de CI podem voltar a ser tapados e conservados a uma temperatura igual ou inferior a -10 °C para uma segunda utilização.
- Coloque os controlos positivos baixo e alto, o controlo negativo e os calibradores, se aplicável, nos suportes de amostras do Abbott *m*2000sp.
- Após a incubação estar concluída, agite ou mexa manualmente os tubos de amostras de DBS e, em seguida, coloque-os nos suportes de amostras do Abbott *m*2000sp.

NOTA: certifique-se de que os suportes de amostras do Abbott *m*2000sp foram especificamente calibrados para o procedimento Abbott RealTime HCV para DBS.

- Carregue cuidadosamente os suportes de amostras para evitar salpicos. Se utilizados, os códigos de barras nos rótulos dos tubos devem estar virados para a direita para leitura. Certifique-se de que cada tubo é colocado de forma segura no suporte de amostras, de forma a que a parte inferior do tubo alcance a parte inferior interior do suporte.
- Carregue os suportes de amostras cheios no Abbott *m*2000sp em posições de suportes de amostras consecutivas, com o primeiro suporte o mais afastado à direita na mesa de trabalho e qualquer suporte adicional progressivamente à esquerda do primeiro suporte.

17. Coloque os recipientes de reação de 5 ml no transportador de 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 do Abbott *m2000sp* conforme descrito na seção Instruções de operação do Manual de Operação do Abbott *m2000sp*.
19. No ecrã "Protocol", selecione o ficheiro de aplicação HCV RNA DBS. Inicie o protocolo de extração de amostras conforme descrito na seção Instruções de operação do Manual de Operação do Abbott *m2000sp*.
20. Introduza o calibrador (necessário se não tiver sido armazenada uma curva de calibração no Abbott *m2000rt*) e controle valores específicos de lote nos campos "Sample Extraction": "Worktable Setup", "Calibrator" e "Control". Os valores específicos do lote são especificados em cada Abbott RealTime HCV Calibrator e Control Kit Card.
21. O protocolo Master Mix Addition do Abbott *m2000sp* (passo 28) deve ser iniciado no prazo de 1 hora após a conclusão da preparação da amostra.

NOTA: 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 do Abbott *m2000sp* após a conclusão da preparação da amostra. A tabela seguinte apresenta o número de embalagens de reagente de amplificação necessário com base no número de reações. Se apenas estiver a ser utilizada 1 embalagem de reagente de amplificação, não é necessário nenhum tubo de master mix.

Requisitos do Amplification Reagent Pack^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 nova; até 4 com embalagens parciais	3 se nova; até 4 com embalagens parciais	4 embalagens novas ou parciais

^a Consulte o Abbott *m2000sp* Operations Manual (N.º de lista 09K20, versão 6 ou superior) para obter instruções sobre a gestão de inventário e determinar o número máximo de reações que pode ser testado com as embalagens parciais selecionadas.

- As embalagens de reagente de amplificação parciais apenas podem ser utilizadas no mesmo instrumento Abbott *m2000sp* utilizado para a preparação inicial da embalagem de reagente. A utilização de uma embalagem de reagente de amplificação uma segunda vez num instrumento diferente resultará em erro, o que poderá atrasar o processamento.
- As embalagens de reagente de amplificação parciais e novas podem ser utilizadas em conjunto.

IMPORTANTE: as embalagens de reagente de amplificação parciais devem ser conservadas a uma temperatura igual ou inferior a -10 °C até imediatamente antes da segunda utilização. Confirme se a master mix está descongelada antes de colocar a(s) embalagem(ns) parcial(ais) na mesa de trabalho do *m2000sp*. Depois de serem retiradas do local de conservação a temperatura igual ou inferior a -10 °C, as embalagens de reagente de amplificação parciais a serem utilizadas uma segunda vez devem ser utilizadas no espaço de 25 minutos ou eliminadas. Isto aplica-se à exposição cumulativa à temperatura ambiente, incluindo casos em que as embalagens são retiradas do local de conservação, mas não são utilizadas.

23. Certifique-se de que o conteúdo das embalagens de reagente de amplificação novas se encontra no fundo dos frascos antes de abrir os reagentes de amplificação, batendo com os frascos numa posição vertical na bancada 5 a 10 vezes.
 - Não bata nas embalagens de reagente de amplificação parciais que estão a ser utilizadas uma segunda vez. Fazê-lo pode resultar na perda de volume da master mix na tampa.
24. Retire as tampas. Se uma embalagem de reagente de amplificação nova for conservada para uma segunda utilização, é necessário voltar a colocar as tampas nos frascos para conservação. Se pretender reutilizar as tampas originais para voltar a tapar os frascos de reagente, guarde as tampas originais. Se pretender utilizar tampas novas para voltar a tapar os frascos de reagente, as tampas originais podem ser eliminadas.

Se for utilizada uracil-N-glicosilase (UNG) para controlo de contaminação, siga as instruções abaixo.

25. Utilize uma PIPETA DEDICADA APENAS À UTILIZAÇÃO COM REAGENTE para adicionar o volume especificado de 1 U/μL de UNG (N.º de lista 6L87-02) ao frasco de reagente na posição 3 das embalagens de reagente de amplificação novas e parciais. Misture manualmente, pipetando de forma suave para cima e para baixo todas as embalagens parciais. Não misture embalagens novas.
 - Utilize a tabela abaixo 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 de polimerase rTth 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 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

NOTA: o volume de UNG adicionada ao frasco de reagente na posição 3 depende do número de testes restantes na embalagem de reagente e não do número de amostras em processamento. Consulte o Manual de Operação do Abbott *m2000sp* para obter instruções relativas à gestão de inventário de embalagens de reagente de amplificação e sobre como determinar o número de testes restantes numa embalagem de reagente.

26. As embalagens de amplificação parciais são carregadas à esquerda das embalagens de reagente de amplificação novas na mesa de trabalho do Abbott *m2000sp*.
27. Certifique-se de que as embalagens de reagente de amplificação estão bem fixas no instrumento.
28. Selecione a placa de poços fundos adequada que corresponde à extração da preparação de amostras correspondente. Inicie o protocolo Master Mix Addition do Abbott *m2000sp*. Siga as instruções descritas na seção Instruções de operação do Abbott *m2000sp* Operations Manual.

NOTA: o operador não deve encher manualmente quaisquer poços vazios/não cheios na Abbott 96-Well Optical Reaction Plate.

- Após a extração da amostra estar concluída, o Abbott *m2000sp* enche automaticamente quaisquer poços vazios na Abbott 96-Well Optical Reaction Plate com *mElution Buffer* quando houver mais de 48 amostras processadas num processamento. O enchimento da placa não é efetuado para processamentos com 48 amostras ou menos.
- Se solicitado pelo instrumento, o Reagent Carrier 2 deve permanecer no lugar, contendo minimamente a recipiente de reagente para *mElution Buffer* (Reagent Carrier 2, localização 6). Se este recipiente de reagente tiver sido descarregado, coloque um novo recipiente de reagente com o rótulo *mElution Buffer* no Reagent Carrier 2, localização 6. O fluido do sistema será adicionado ao recipiente de reagente e utilizado para encher poços vazios. Assim que este processo estiver concluído, o sistema continuará com a adição da master mix.

NOTA: as instruções do sistema para utilização da funcionalidade de enchimento automatizado da placa encontram-se no Manual de Operação do Abbott *m2000sp* (N.º de lista 09K20, versão 6 ou superior), secção 5, Instruções de operação, Extração da amostra em modo fechado.

- O protocolo Abbott *m2000rt* (passo 33) deve ser iniciado no espaço de 50 minutos após o início do protocolo Master Mix Addition (passo 28).

NOTA: se o processamento for cancelado por qualquer motivo após o passo 28, deve ser utilizado uma Abbott 96-Well Optical Reaction Plate nova se o protocolo Master Mix Addition do Abbott *m2000sp* (passo 28) for repetido.

- Ligue e inicialize o instrumento Abbott *m2000rt* na área de amplificação.
- NOTA: o Abbott *m2000rt* necessita de 15 minutos para aquecer.**
NOTA: retire as luvas antes de voltar à área de preparação de amostras.
- Sele a Abbott 96-Well Optical Reaction Plate após o instrumento Abbott *m2000sp* ter concluído a adição de amostras e da master mix de acordo com a secção Instruções de operação do Manual de Operação do Abbott *m2000sp*.
- Coloque a placa de reação ótica selada na Abbott Splash-Free Support Base para transferência para o instrumento Abbott *m2000rt*.
Se for utilizada uracil-N-glicosilase (UNG), siga as instruções abaixo:
- Transfira a placa de ótica selada para uma Abbott Splash-Free Support Base e efetue a incubação à temperatura ambiente (15 °C a 30 °C) durante 10 minutos. Após a incubação à temperatura ambiente, transfira a Abbott 96-Well Optical Reaction Plate na Abbott Splash-Free Support Base para o instrumento Abbott *m2000rt*.
- Coloque a Abbott 96-Well Optical Reaction Plate no instrumento *m2000rt*. No ecrã "Protocol", selecione o ficheiro de aplicação HCV RNA DBS. Inicie o protocolo conforme descrito na secção Instruções de operação do Manual de Operação do Abbott *m2000rt*.

NOTA: recomenda-se a transferência de pedido de teste através da utilização de CD-ROM ou ligação de rede com funcionalidades de exportação e importação do software do *m2000sp* e *m2000rt*. Se criar o pedido de teste do Abbott *m2000rt* manualmente, introduza as ID de amostra nas localizações de bandeja de PCR correspondentes de acordo com a grelha "Wells for Selected Plate", localizada no ecrã de detalhe de "PCR Plate Results" no Abbott *m2000sp*. Consulte a Secção 5 do Manual de Operação do Abbott *m2000sp*.

- Se for utilizar uma embalagem de reagente de amplificação parcial preparada uma segunda vez, coloque as tampas nos 3 frascos de reagente com as tampas guardadas ou tampas novas (N.º de lista 3N20-01) e conserve prontamente os reagentes a uma temperatura igual ou inferior a -10 °C, ao abrigo da luz e numa posição vertical. Elimine quaisquer embalagens de reagente de amplificação que estejam vazias ou que tenham sido utilizadas duas vezes.

IMPORTANTE: os reagentes de amplificação que serão utilizados uma segunda vez devem ser conservados a uma temperatura igual ou inferior a -10 °C no espaço de 50 minutos após a iniciação do protocolo Master Mix Addition.

PROCEDIMENTOS DE PÓS-PROCESSAMENTO

- Retire a Abbott 96 Deep-Well Plate da mesa de trabalho e elimine-a de acordo com o Manual de Operação do Abbott *m2000sp*.
- Coloque a Abbott 96-Well Optical Reaction Plate num saco de plástico selável e elimine de acordo com o Manual de Operação do Abbott *m2000rt* juntamente com as luvas utilizadas para manusear a placa.
- Limpe a Abbott Splash-Free Support Base antes da próxima utilização, de acordo com o Manual de Operação do Abbott *m2000rt*.

PROCEDIMENTOS DE CONTROLO DE QUALIDADE

Calibração ótica do Abbott *m2000rt*

Consulte o folheto informativo do ensaio Abbott RealTime HCV (N.º de lista 4J86).

Calibração do ensaio

Consulte o folheto informativo do ensaio Abbott RealTime HCV (N.º de lista 4J86).

Para testes de DBS que utilizem *m2000sp* e *m2000rt*: assim que a calibração de um Abbott RealTime HCV é aceite e guardada, pode ser utilizada durante 6 meses. Durante este tempo, todas as amostras subsequentes podem ser testadas sem necessidade de calibração adicional, 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 preparações) com um novo número de lote.
- For instalado um novo ficheiro de aplicação Abbott RealTime HCV RNA DBS.

Deteção de inibição

Consulte o folheto informativo do ensaio Abbott RealTime HCV (N.º de lista 4J86).

Controlos negativos e positivos

Consulte o folheto informativo do ensaio Abbott RealTime HCV (N.º de lista 4J86).

Monitorização laboratorial da presença de contaminação

Consulte o folheto informativo do ensaio Abbott RealTime HCV (N.º de lista 4J86).

RESULTADOS PARA AMOSTRAS DE DBS

O resultado da concentração da amostra de DBS comunicada da execução de protocolo DBS do *m2000rt* representa a concentração viral do VHC no plasma da amostra de sangue total a partir da qual é obtida a amostra de DBS. O instrumento Abbott *m2000rt* comunica automaticamente os resultados na estação de trabalho Abbott *m2000rt*. Os resultados do ensaio podem ser comunicados em Unidades Internacionais UI/ml ou Log UI/ml.

Interpretação dos 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 ideal deste teste requer a colheita, a conservação e o transporte adequados das amostras para o centro de teste (consulte a secção **COLHEITA, CONSERVAÇÃO E TRANSPORTE PARA O CENTRO DE TESTE** deste folheto informativo).
- As amostras de sangue total colhidas em 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 com o ensaio Abbott RealTime HCV para DBS.

- A utilização do ensaio Abbott RealTime HCV para DBS está limitada a pessoal com formação nos procedimentos de preparação e pré-processamento de DBS, num ensaio de diagnóstico molecular e no sistema Abbott m2000.
- Os procedimentos de ensaio e instrumentos reduzem o risco de contaminação por produto de amplificação. No entanto, a contaminação de ácidos nucleicos dos calibradores, controlos positivos ou amostras tem de ser controlada por boas práticas laboratoriais e pela conformidade cuidada com os procedimentos especificados neste folheto informativo.
- Tal como acontece com qualquer teste de diagnóstico, os resultados do ensaio Abbott RealTime HCV para DBS devem ser interpretados em conjunto com outros resultados clínicos e laboratoriais. Não se pode presumir que uma amostra com um resultado de "Not Detected" é negativa para o ARN de VHC.
- A recolha, secagem, conservação e manuseamento inadequados de cartões de Guthrie pode levar a resultados de teste imprecisos.
- Podem ser utilizados cartões de Guthrie Ahlstrom-Munktel TFN e Whatman 903. A utilização de outros cartões não foi validada com o ensaio Abbott RealTime HCV.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO ESPECÍFICAS PARA AMOSTRAS DBS

Limite de deteção (LOD)

O LOD do ensaio Abbott RealTime HCV é de 462 UI/ml com o tipo de amostra DBS. O LOD foi determinado através de testes de amostras de DBS preparadas com uma série de diluição da norma internacional da OMS para o ARN do vírus da hepatite C diluído em sangue total negativo para VHC. Os testes para cada concentração de ARN de VHC foram realizados 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) de Abbott RealTime HCV para DBS

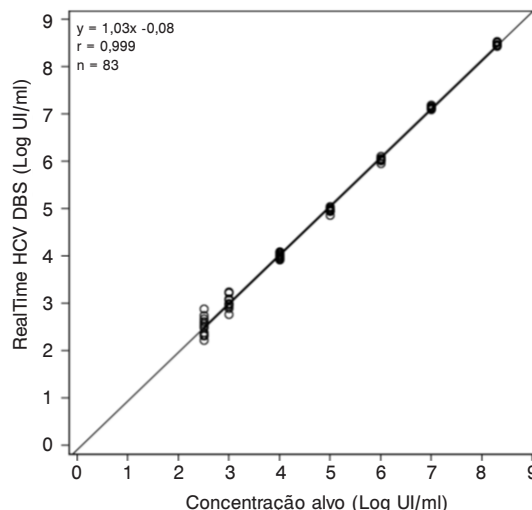
ARN de VHC (UI/ml)	Número testado	Número detetado	Percentagem detetada
500	84	83	99
400	84	80	95
350	84	75	89
300	84	73	87
150	84	54	64
50	84	26	31

A análise pelo método de Probit dos dados determinou que a concentração de ARN do VHC detetado na gota de sangue seco com 95% de probabilidade foi de 462 UI/ml (95% CI 381 a 593 UI/ml).

Intervalo linear

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 reivindicação de DBS. Um painel de DBS de 7 membros foi preparado com Armored RNA com VHC diluído a concentrações que variaram de 200 milhões de UI/ml a 316 UI/ml em sangue total negativo para VHC. Os resultados, representativos da linearidade do 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 mostra-se linear ao longo do intervalo de concentrações de ARN de VHC testadas (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 igual ou superior a 99,5%. A especificidade foi determinada pela análise de 119 amostras seronegativas para VHC, em 2 lotes de reagentes de amplificação. A especificidade global foi de 100% (119/119).

Precisão

A precisão foi avaliada através de testes de um painel de DBS de 6 membros destinado a abranger a concentração de ARN de VHC de 316 UI/ml a 200 milhões de UI/ml. Os membros do painel com concentrações inferiores a 5 Log UI/ml (100 000 UI/ml) foram preparados com amostra clínica positiva para VHC diluída em sangue total negativo para VHC, enquanto os membros do painel com concentrações superiores a 5 Log UI/ml (100 000 UI/ml) foram preparados com Armored RNA com VHC diluído em sangue total negativo para VHC. Cada membro do painel foi testado em 5 réplicas uma vez por dia durante 5 dias, em 3 pares m2000sp/rt com 3 lotes de reagentes de amplificação. Foram estabelecidos desvios-padrão (DP) na mesma determinação, entre determinações e inter-ensaio (na mesma determinação e entre determinações). O ensaio Abbott RealTime HCV para DBS foi concebido para obter um desvio-padrão (DP) inter-ensaio igual ou inferior a 0,25 Log UI/ml de ARN de VHC para amostras que contenham concentrações de VHC de 10 000 a 100 milhões de 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

Membro do painel	N	Concentração média (UI/ml)	Concentração média (Log UI/ml)	DP de componente na mesma determinação ^{a,e}	DP de componente entre determinações ^a	DP inter-ensaio ^{a,b}	DP de componente entre lotes/instrumento ^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) são representados em Log UI/ml.

^b Inter-ensaio contém componentes na mesma determinação e entre determinações.

^c O total inclui componentes na mesma determinação, entre determinações e entre lotes/instrumento.

^d A concentração média do membro do painel 1 é inferior ao LOD. As estimativas de precisão baseiam-se nas réplicas quantificadas.

^e O DP na mesma determinação também é conhecido como Repetibilidade. O DP total também é conhecido como Reprodutibilidade.

A Repetibilidade e a Reprodutibilidade para o Membro do painel 1 (próximo do LLOQ) foi de 0,26 Log UI/ml e 0,27 Log UI/ml, respetivamente, e para o Membro do painel 2 (próximo do LLOQ) de 0,23 Log UI/ml e 0,25 Log UI/ml, respetivamente. A Repetibilidade e a Reprodutibilidade para o Membro do painel 5 (próximo do ULOQ) foi de 0,12 Log UI/ml e 0,14 Log UI/ml, respetivamente, e para o Membro do painel 6 (próximo do ULOQ) de 0,04 Log UI/ml e 0,07 Log UI/ml, respetivamente.

Correlação

A quantificação de ARN de VHC foi comparada entre o ensaio Abbott RealTime HCV utilizando gotas de sangue seco e o teste Abbott RealTime HCV de ensaio de substâncias comparáveis com a marca CE utilizando plasma humano. A análise incluiu amostras de plasma e de DBS de um total de 346 indivíduos (com colheita e teste efetuados na Geórgia, nos Camarões e na Grécia). Tanto a DBS preparada a partir de sangue venoso como a DBS preparada a partir de sangue capilar (picada de dedo) foram testadas pelo ensaio Abbott RealTime HCV para DBS. Os resultados quantitativos das amostras que se encontravam dentro dos intervalos dinâmicos dos ensaios foram analisados pelo método de regressão linear dos mínimos quadrados e pelo método de tendência de Bland-Altman (capilar de DBS versus plasma N=346, venoso de DBS versus plasma N=346, e capilar de DBS versus venoso de DBS N=345). Para a correlação entre capilar de DBS e plasma, o coeficiente de correlação foi de 0,843, o declive foi de 0,91 (95% CI 0,85 a 0,97), e a constante foi de 0,48 Log UI/ml (95% CI 0,12 a 0,84) (**Figura 2**). Para a correlação entre venoso de DBS e plasma, o coeficiente de correlação foi de 0,840, o declive foi de 0,94 (95% CI 0,88 a 1,00), e a constante foi de 0,31 Log UI/ml (95% CI -0,07 a 0,69) (**Figura 3**). Para a correlação entre capilar de DBS e venoso de DBS, o coeficiente de correlação foi de 0,943, o declive foi de 0,91 (95% CI 0,87 a 0,94), e a constante foi de 0,53 Log UI/ml (95% CI 0,33 a 0,72) (**Figura 4**). Além disso, os gráficos de Bland-Altman para essas mesmas comparações são apresentados na **Figura 5**, na **Figura 6** e na **Figura 7**. A diferença de tendência média entre capilar de DBS e plasma foi de -0,05 Log UI/ml. A diferença de tendência média entre venoso de DBS e plasma foi de -0,04 Log UI/ml. A diferença de tendência média entre capilar de DBS e venoso de DBS foi de -0,02 Log UI/ml.

A tendência prevista entre Capilar de DBS e Plasma foi avaliada com níveis alvo de LLOQ e ULOQ. Além disso, a tendência prevista entre Venoso de DBS e Plasma foi avaliada com níveis alvo de LLOQ e ULOQ. Consulte a **Tabela 3** para obter o resumo da tendência prevista.

Tabela 3. Tendência prevista entre (capilar ou venoso de) DBS e plasma com LLOQ e ULOQ

Comparação	Nível	Nível alvo de carga viral (Log UI/ml)	Tendência prevista (Log UI/ml)
Capilar de DBS vs Plasma	LLOQ	2,66	0,24
	ULOQ	8,00	-0,26
Venoso de DBS vs Plasma	LLOQ	2,66	0,15
	ULOQ	8,00	-0,17

Figura 2. Capilar de DBS e Plasma

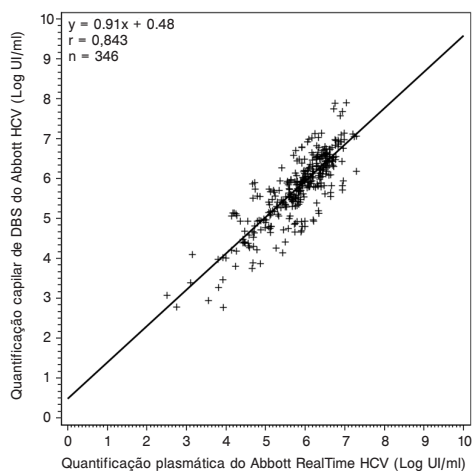


Figura 5. Capilar de DBS Versus Plasma

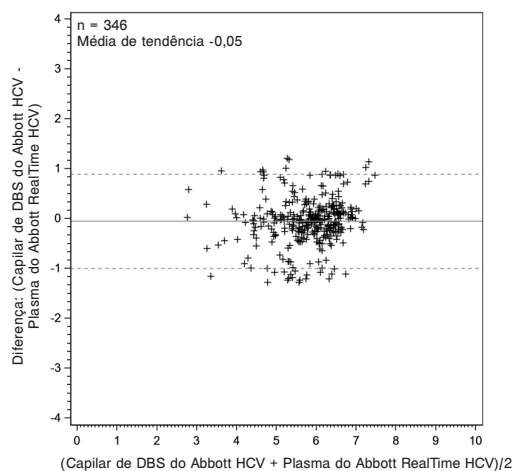


Figura 3. Venoso de DBS e Plasma

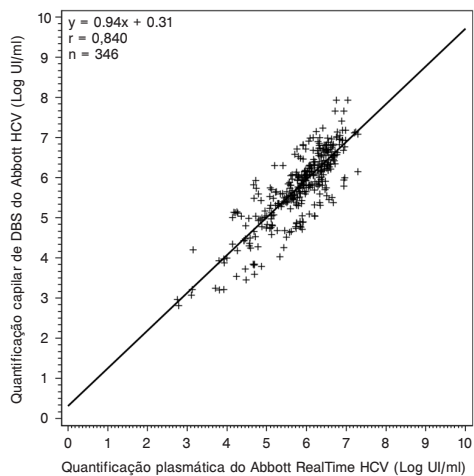


Figura 6. Venoso de DBS Versus Plasma

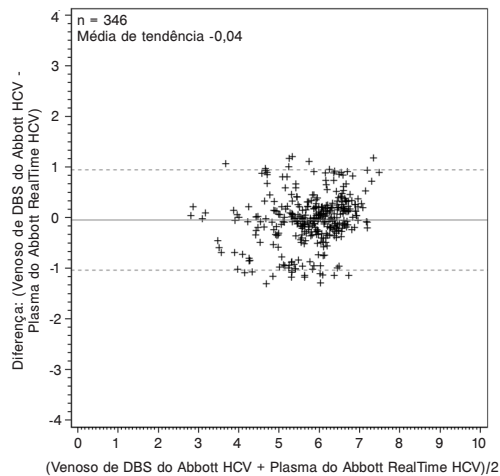


Figura 4. Capilar de DBS e Venoso de DBS

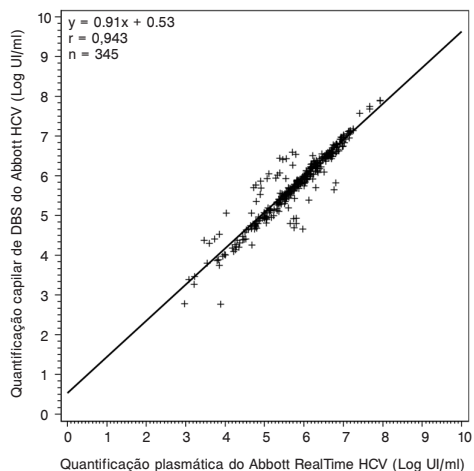
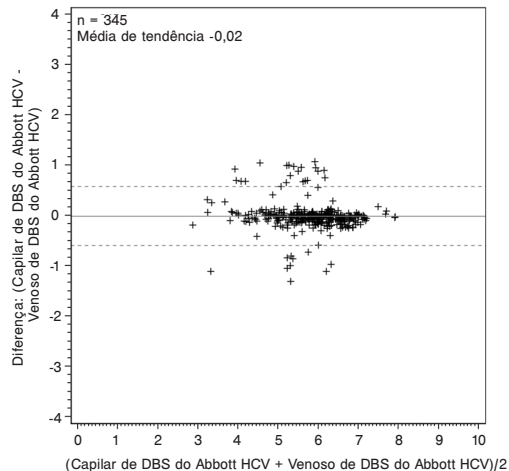


Figura 7. Capilar de DBS Versus Venoso de DBS



BIBLIOGRAFIA

1. Gower E, Estes C, Blach S, et al. Global epidemiology and genotype distribution of the hepatitis C virus infection. *J Hepatol*. 2014; 61(1):S45-S57.
2. World Health Organization Updated Version April 2016: Guidelines for the screening, care and treatment of persons with hepatitis C infection. <http://www.who.int/hepatitis/publications/hepatitis-c-guidelines-2016/en/>.
3. AASLID/IDSA Recommendations for testing, managing and treating hepatitis C, revisão em abril de 2017. www.hcvguidelines.org.
4. European Association of the Study of the Liver. Recommendation on Treatment of Hepatitis C 2018. *J. Hepatology* (2018).
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;39:1363-75.
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. *N Engl J Med* 1998;339(21):1493-9.
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):958-65.
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):975-82.
9. Hadziyannis SJ, Sette H Jr., Morgan TR, et al. Peginterferon-[alpha]2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose. *Ann Intern Med* 2004;140(5):346-55.
10. Orlent H, Deltenre P, Francque S, et al. Update of the Belgian Association for the Study of Liver Guidelines for the Treatment of Chronic Hepatitis C Genotype 1 with Protease Inhibitors. *Acta Gastro-Enterologica Belgica* 2012;LXXV:245-259.
11. Halfon P, Bourliere M, Penaranda G, Khiri H, and OuzinD. Real-time PCR assays for hepatitis C virus (HCV) RNA quantitation are adequate for clinical management of patients with chronic HCV infection. *J. Clin Microbiology* 2006;44(7): 2507-2511.
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):1611-8.
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):41-5.
14. WHO guidelines on hepatitis B and C testing. Geneva: World Health Organization; 2017.
15. Saldanha J, Heath A., 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 Sanguinis* 2005 Apr; 88 (3):202-204.

ASSISTÊNCIA TÉCNICA

Para obter assistência técnica, contacte o serviço técnico da Abbott Molecular através do número 1-800-553-7042 (nos EUA) ou +49-6122-580 (fora dos EUA) ou visite o website da Abbott Molecular em www.molecular.abbott/portal.

O Abbott RealTime HCV é importado para a União Europeia pela Abbott Diagnostics GmbH, sediada em 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 Abbott. Todos os direitos reservados.

www.abbottmolecular.com

51-608440/R1

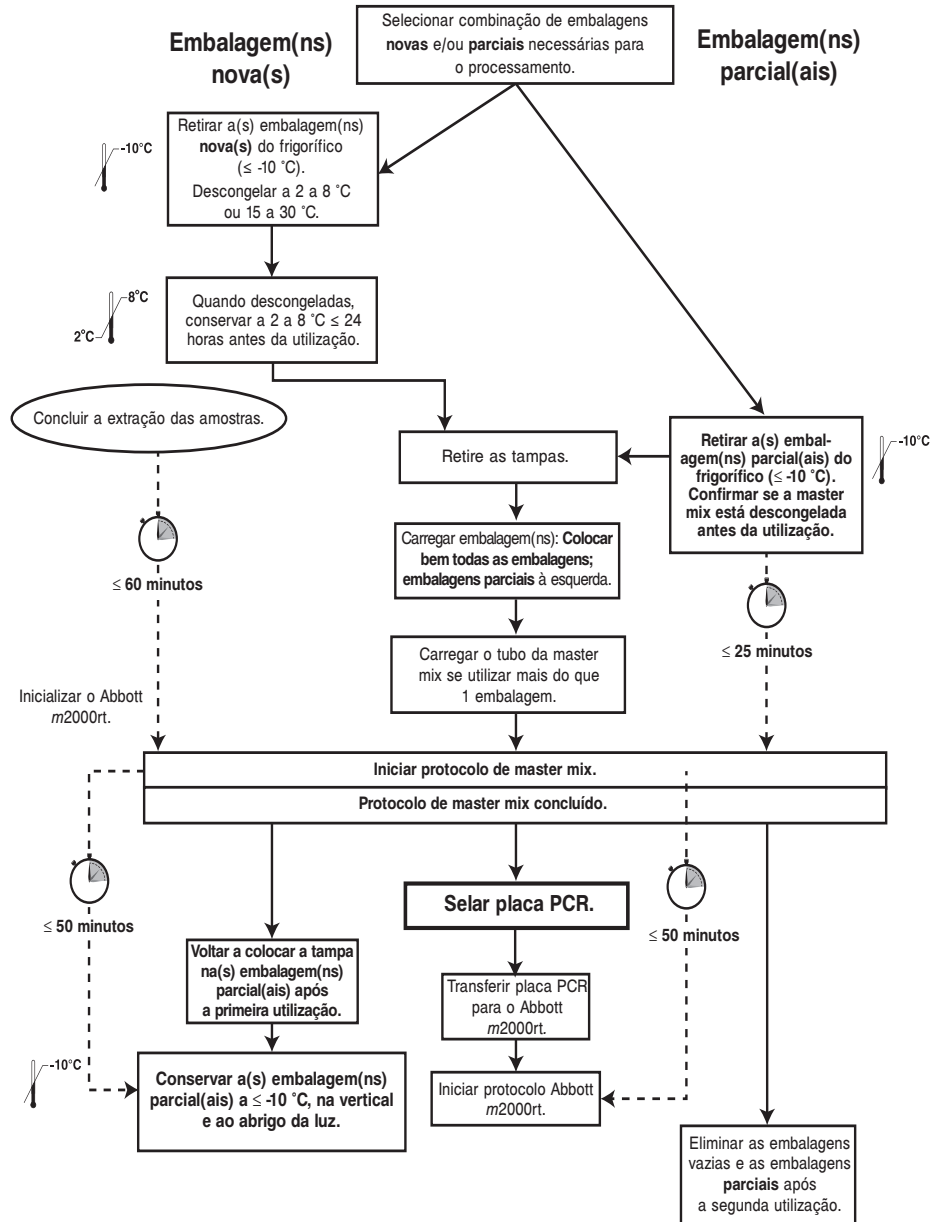
Julho de 2020

ANEXO 1. DESCRIÇÃO GERAL DA FUNCIONALIDADE DE UTILIZAÇÃO PROLONGADA DO ABBOTT REALTIME HCV AMPLIFICATION REAGENT

A funcionalidade de utilização prolongada do reagente de amplificação permite a utilização de uma embalagem de reagente de amplificação e de um controlo interno (CI) num total de 2 vezes. As embalagens de reagente de amplificação que ainda não foram utilizadas para preparar a master mix são designadas de embalagens de reagente de amplificação **novas**. As embalagens de reagente de amplificação que foram utilizadas uma vez e contêm master mix preparada são designadas de embalagens de reagente de amplificação **parciais**. Consulte as instruções fornecidas neste manual para obter mais informações.

Condições de conservação (Amplification Reagent Pack e frascos Internal Control)		
Tipo de embalagem	Temperatura de conservação	Tempo de conservação
Embalagens novas	-10 °C ou temperatura inferior	Até à data indicada no rótulo
CI novo	-10 °C ou temperatura inferior	Até à data indicada 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, consulte os passos 25 e 32 do Protocolo do ensaio para obter instruções específicas.



- As embalagens de reagente de amplificação elegíveis para utilização prolongada devem apresentar um número de série de 6 dígitos acima do código de barras.
- As embalagens de reagente de amplificação **parciais** só podem ser utilizadas uma segunda vez no mesmo instrumento que o da utilização inicial. A sua utilização num instrumento diferente gera um erro de processamento, que pode atrasar o mesmo.
- As embalagens de reagente de amplificação **parciais** e **novas** podem ser utilizadas em conjunto. Todas as embalagens de reagente de amplificação utilizadas no instrumento para um processamento devem ter o mesmo número de lote.

Abbott RealTime HCV

Tillæg til tørret blodplet (DBS)

da

REF 04J86-010
51-608440/R1

GTIN

REF

04J86-010

IVD

51-608440/R1

Symbolforklaring	
GTIN	Globalt handelsvarenummer
REF	Referencenummer
IVD	Medicinsk udstyr til in vitro-diagnostik
	Maks. tilladt tid
	Øvre temperaturgrænse
	Temperaturbegrænsning
EC REP	Autoriseret repræsentant i EU
	Producent

KUNDESERVICE – INTERNATIONALT: KONTAKT DIN REPRÆSENTANT FRA ABBOTT

Denne indlægsseddel skal læses omhyggeligt før brug. Instruktionerne i indlægssedlen skal følges. Pålideligheden af analyseresultaterne kan ikke garanteres, hvis instruktionerne i denne indlægsseddel ikke følges.

Denne brugerhåndbog er et supplement til indlægssedlen for analysen Abbott RealTime HCV (listenr. 4J86), specifikt til prøvetypen tørret blodplet (DBS).

MEDDELELSE TIL BRUGEREN

Hvis der opstår en alvorlig hændelse i forbindelse med denne enhed, skal hændelsen rapporteres til fabrikanten og til den relevante kompetente myndighed i den medlemsstat, hvor brugeren og/eller patienten er hjemmehørende. Se kontaktoplysningerne i afsnittet om teknisk hjælp i denne vejledning for rapportering til fabrikanten.

NAVN

Abbott RealTime HCV

TILSIGTET BRUG TIL DBS

Abbott RealTime HCV analysen er en *in vitro*-analyse af revers transskription efterfulgt af polymerasekædereaktion (RT-PCR) til kvantificering af RNA fra hepatitis C-virus (HCV RNA) i fuldblod, der kommer på kort som tørrede blodpletter (DBS) (dvs. opsamlet via venepunktur eller kapillært blod) fra HCV-smittede personer. Abbott RealTime HCV analysen er beregnet som en hjælp i behandlingen af HCV-smittede patienter i antiviral terapi. Abbott RealTime HCV analysen er ikke beregnet til at screene blod-, plasma-, serum- eller vævsdonorer for HCV eller som diagnostisk test til at bekræfte tilstedeværelsen af HCV-smitte.

TILSIGTET BRUGER

De tilsigtede brugere af Abbott RealTime HCV analysen er laboratorie- og sundhedsfagligt personale.

OVERSIGT OVER OG FORKLARING AF TESTEN

Hepatitis C-virus (HCV) er en af hovedårsagerne til leversygdomme. Det anslås, at ca. 1,1 % af befolkningen er kronisk smittet med hepatitis C¹, og at ca. 700.000 mennesker hvert år dør af hepatitis C-relateret leversygdom.² HCV er et positivt-strengt RNA-virus, som primært overføres via intravenøst stofbrug og gennem blodprodukter. Omkring 55 til 85 % af alle HCV-smittede personer udvikler kronisk hepatitis, og op til 30 % af de kronisk inficerede personer udvikler skrumpelever.¹ Hos patienter med cirrose er forekomsten af hepatocellulært carcinom 2 til 4 % om året.¹

Kvantitativ måling af HCV RNA-niveauet i perifert blod har vist sig at være en essentiel parameter i styringen af forskellige HCV-behandlinger.⁶⁻¹³ Med fremkomsten af direkte virkende antivirale regimer er behandlingerne for HCV-infektion blevet forbedret dramatisk. Formålet med HCV-behandling er at opnå en vedvarende virologisk respons (SVR), der ses som fortsat fravær af påviseligt HCV RNA.²⁻⁵ Måling af HCV-virusbelastning er blevet anvendt til individualisering af behandlingsvarighed og responsstyret terapi eller til bestemmelse og forudsigelse af vedvarende eller ikke-vedvarende virologisk respons ved antiviral terapi.²⁻⁵

Størstedelen af den globale HCV-byrde findes i lande med lav til mellemstor indtægt.¹⁴ Identifikation af patienter med aktiv HCV-infektion er meget begrænset i disse ressourcebegrænsede områder. Fuldblod opsamlet som en tørret blodplet (DBS) kan bruges som et alternativ til serum eller plasma til 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 for DBS anvender revers transskription efterfulgt af polymerasekædereaktion (RT-PCR)-teknologi kombineret med homogen fluorescensdetektion i realtid til kvantificering af HCV RNA i DBS. Valget af en bevaret region af 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 rapporteres i internationale enheder/mL (IE/mL) eller den tilsvarende 10-talslogaritme.

BIOLOGISKE PROCEDUREPRINCIPPER

Abbott RealTime HCV analysen til DBS kræver 3 reagenssæt:

- Abbott RealTime HCV reagenssæt til amplifikation
- Abbott RealTime HCV kontrolsæt
- Abbott RealTime HCV kalibratorsæt

Abbott RealTime HCV analysen for DBS bruger RT-PCR til at generere et amplificeret produkt fra HCV RNA-genomet i humane DBS-prøver. Trinene i Abbott RealTime HCV analysen for DBS består af præanalytisk DBS-behandling, prøveklargøring, RT-PCR-samling, amplifikation, detektion og resultatrapportering. Præanalytisk DBS-behandling udføres ved hjælp af Abbott mSample Preparation System DBS Buffer Kit, før prøven anbringes på m2000sp-systemet. Efter den præanalytiske DBS-behandling udføres alle efterfølgende trin automatisk af m2000sp- og m 2000rt-systemerne.

Se indlægssedlen for Abbott RealTime HCV analysen (listenr. 4J86) for yderligere oplysninger om prøveklargøring, RT-PCR-samling, amplifikation og detektion.

FORLÆNGET ANVENDELSE AF AMPLIFIKATIONSREAGENS

Den valgfri funktion til forlænget anvendelse af amplifikationsreagens gør det muligt at bruge amplifikationsreagenspakker og IC'er i alt 2 gange. Amplifikationsreagenspakker med klargjort master mix kan opbevares ved -10 °C eller koldere, tillukket og beskyttet mod lys i op til 14 dage før genbrug. Den interne kontrol (IC) kan opbevares tillukket ved -10 °C eller koldere i op til 14 dage før genbrug. Den næste brug må ikke overskride reagensernes udløbsdato.

En oversigt over denne funktion findes i bilag 1 til denne brugerhåndbog.

I hele denne brugerhåndbog 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 master mix, kaldes delvise amplifikationsreagenspakker. IC-hætteglas, der er blevet brugt én gang, kaldes delvise IC-hætteglas.

FOREBYGGELSE AF KONTAMINERING MED NUKLEINSYRER

Se indlægssedlen for Abbott RealTime HCV-analysen (listenr. 4J86).

REAGENSER

Se indlægssedlen for Abbott RealTime HCV-analysen (listenr. 4J86).

ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER

IVD

Til **In-vitro**-diagnostisk brug

Abbott RealTime HCV-analysen for DBS er ikke beregnet til at screene blod-, plasma-, serum- eller vævsdonorer til HCV eller til brug som en diagnostisk test for at bekræfte tilstedeværelsen af HCV-infektion.

SIKKERHEDSFORANSTALTNINGER

Se indlægssedlen for Abbott RealTime HCV-analysen (listenr. 4J86). RealTime HCV-analysen til DBS bruger kun *m2000sp*- og *m2000rt*-instrumenter

SÆRLIGE FORHOLDSREGLER

Forholdsregler ved håndtering af DBS-prøver

Abbott RealTime HCV-analysen for DBS er kun beregnet til brug med fuldblods- eller DBS-prøver, der er blevet behandlet og opbevaret som beskrevet i afsnittet **INDSAMLING, OPBEVARING OG TRANSPORT AF PRØVER TIL TESTSTEDET**.

Se indlægssedlen for Abbott RealTime HCV-analysen (listenr. 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. Hvis blodpletten ikke udføres korrekt, eller hvis DBS ikke tørres, opbevares og håndteres korrekt, kan det medføre unøjagtige testresultater.
- For at undgå krydskontaminering skal du bruge en ny pipettespids til hver DBS-prøve, når du skubber pletten ud af det perforerede DBS-kort. Hvis du anvender et ikke-perforeret DBS-kort, skal du sikre, at det værktøj, du anvender til at lave blodpletten med, dekontamineres før og efter kontakt med DBS-prøven.

Arbejdsområder

Vi anbefaler kun at anvende to forbeholdte områder, et prøveklargøringsområde og et amplifikationsområde, når Abbott *m2000sp* og Abbott *m2000rt* anvendes.

Se indlægssedlen for Abbott RealTime HCV-analysen (listenr. 4J86).

Aerosolkontaminering

Se indlægssedlen for Abbott RealTime HCV-analysen (listenr. 4J86).

Kontaminering og hæmning

Se indlægssedlen for Abbott RealTime HCV-analysen (listenr. 4J86).

Kontaminering fra eksternt amplificeret produkt indeholdende deoxyuridin

Laboratorier, der anvender eller har anvendt HCV-amplifikationsanalyser, der omfatter post-PCR-behandling af det amplificerede produkt, kan være kontamineret med et amplificeret produkt indeholdende deoxyuridin. En sådan kontaminering kan medføre unøjagtige resultater i Abbott RealTime HCV-analysen for DBS. Se afsnittet **Overvågning af laboratoriet for tilstedeværelse af kontaminering** i indlægssedlen for Abbott RealTime HCV-analysen (listenr. 4J86). Når negative kontroller er vedvarende reaktive, eller hvis kontaminering med et HCV-amplificeret produkt, der indeholder deoxyuridin, sandsynligvis er forekommet, anbefales det, at laboratoriet anvender proceduren for kontaminationskontrol af uracil-N-glycosylase (UNG), hvis dekontaminering af laboratoriet mislykkes.

OPBEVARINGSINSTRUKTIONER

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

-  **Nye og delvise** Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Packs og hætteglas med Internal Control (IC) skal opbevares ved -10 °C eller koldere, når de ikke er i brug. Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Pack, der er i brug, skal omhyggeligt holdes væk fra direkte kontakt med prøver, kalibratorer og kontroller.
- Delvise** amplifikationsreagenspakker og IC'er skal opbevares ved -10 °C eller koldere, tillukket, opretstående og beskyttet mod lys efter første brug. Hvis de opbevares på denne måde, kan **delvise** amplifikationsreagenspakker med klargjort master mix anvendes igen inden for 14 dage efter første brug. IC-hætteglas kan også bruges igen inden for 14 dage efter optøning, hvis de opbevares tillukket ved -10 °C eller koldere. Når du har anvendt dem 2 gange, skal delvise amplifikationsreagenspakker og IC-hætteglas kasseres. Den næste brug må ikke overskride reagensernes udløbsdato.

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

-  Abbott RealTime HCV Negative and Positive Controls skal opbevares ved -10 °C eller koldere.

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

-  Abbott RealTime HCV Calibrator A og Calibrator B skal opbevares ved -10 °C eller koldere.

FORSENDELSSESBETINGELSER

Se indlægssedlen for Abbott RealTime HCV-analysen (listenr. 4J86).

ANGIVELSE AF USTABILITET ELLER NEDBRYDNING AF REAGENSER

Se indlægssedlen for Abbott RealTime HCV-analysen (listenr. 4J86).

INSTRUMENTPROCEDURE

Abbott RealTime HCV for DBS-applikationsfilen skal installeres på Abbott *m2000sp*- og Abbott *m2000rt*-systemer fra Abbott RealTime HCV *m2000* ROW System Combined Application CD-ROM (liste 1L69-040 eller højere), før analysen udføres. For detaljerede oplysninger om installation af applikationsfiler henviser vi til afsnittet Betjeningsinstruktioner i brugervejledningerne for Abbott *m2000sp* og Abbott *m2000rt*.

INDSAMLING, OPBEVARING OG TRANSPORT AF PRØVER TIL TESTSTEDET

Prøvetagning og opbevaring

- Brug fingerprik eller EDTA-fuldblod til klargøring af DBS. EDTA-fuldblod skal 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 opsamlet i et rør skal blandes grundigt ved forsigtig at vende det flere gange, før man laver en plet. Kom blodpletten på cirklerne på 12 mm på Ahlstrom-Munktel TFN-papirkortet eller Whatman 903, og sørg for, at hele cirklen er dækket. Vi anbefaler, at man anvender mindst 70 µL blod (ca. 3 til 5 bloddråber) for hver cirkel for at sikre fuld dækning.
- 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).
- DBS-prøvekort kan opbevares under de forhold, der er angivet i tabellen nedenfor, før analysen.

Opbevaring af DBS-prøvekort		
Forhold	Maksimal 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

Afsend prøver i henhold til den anbefalede opbevaringstemperatur og -tid, der er angivet i afsnittet **Prøvetagning og opbevaring** ovenfor. Ved indenlandske og internationale forsendelser skal prøverne pakkes og mærkes i overensstemmelse med gældende nationale, føderale og internationale bestemmelser 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 (listenr. 4J86-90)
- Abbott RealTime HCV Calibrator Kit (listenr. 4J86-70)
- Abbott RealTime HCV Control Kit (listenr. 4J86-80)

For klargøringsområde til prøver til Abbott *m2000sp*-instrumentet

- Abbott *mSample* Preparation System DBS Buffer Kit (listenr. 09N02-001)
- Abbott *m2000sp*-instrument (listenr. 9K14-01, 9K14-02)
- Abbott *mSample* Preparation System (4 × 24 Preps) (listenr. 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).
- Vortexblander
- Master Mix Tube (listenr. 04J71-80)
- Abbott 96-Deep-Well Plate (listenr. 04J71-30)
- 5 mL Reaction Vessels (listenr. 04J71-20)
- 200 mL Reagent Vessels (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. 1L69-040 eller højere)
- m2000 System 13mm DBS-PoS Set (listenr. 09N03-001)
- 1,4 mL Micro Vial 15mm Caps (listenr. 3N20-01) er ekstraudstyr
- Uracil N-Glycosylase (UNG)^a (listenr. 6L87-02)

^a Hvis det er nødvendigt i henhold til afsnittet **Kontaminering fra eksternt amplifieret produkt indeholdende deoxyuridin** i denne brugerhåndbog.

For amplifikationsområdet for Abbott m2000rt-instrumentet

- Abbott m2000rt-instrument (listenr. 9K15-01)
- Abbott RealTime HCV m2000 ROW System Combined Application CD-ROM (listenr. 1L69-040 eller højere)
- Abbott m2000rt Optical Calibration Kit (listenr. 04J71-93)

Andre materialer

- Biologisk sikkerhedskabinet godkendt til at arbejde med infektiøse materialer
- Pose, der kan forsegles, til DBS-kort
- Tørremiddelpakke til DBS-kort
- Ahlstrom - Munktell TFN-papirkort og/eller Whatman 903
- Plastpose, der kan forsegles, til bortskaffelse af 96-brænds reaktionsplade
- RNase-frit vand (Eppendorf eller tilsvarende)^b
- 1,7 mL mikrocentrifugerør af molekylærbiologisk kvalitet (Dot Scientific, Inc. eller tilsvarende)^b
- Cotton Tip Applicators (Puritan eller tilsvarende)^b

^b **Bemærk:** Disse 3 ting anvendes i proceduren til Overvågning af laboratoriet for tilstedeværelse af kontaminering. Se afsnittet **KVALITETSKONTROLPROCEDURER** i indlægssedlen for Abbott RealTime HCV-analysen (listenr. 4J86).

Proceduremæssige forholdsregler

- Læs instruktionerne i denne brugerhåndbog grundigt, før du behandler prøver.
- Amplifikationsreagenser og intern kontrol kan bruges op til 2 gange, som beskrevet i denne brugerhåndbog. Abbott RealTime HCV Calibrators, Negative Control, Low Positive Control og High Positive Control-hætteglas er kun beregnet til engangsbrug og bør kasseres efter brug.
- Anvend kun pipettespidser med aerosolbarriere eller engangspipetter 1 gang ved pipettering af prøver eller IC. For at undgå kontaminering af pipettecylindern under pipettering skal man sørge for, at pipettecylindern ikke rører indersiden af prøverøret eller beholderen. Det anbefales at bruge forlængede pipettespidser med aerosolbarriere.
- Overvågningsprocedurer for tilstedeværelse af amplifikationsprodukt kan findes i afsnittet **KVALITETSKONTROLPROCEDURER**.
- For at mindske risikoen for kontamination med nukleinsyrer skal man rengøre og desinficere spildte prøver ved at anvende et tuberkulocid desinfektionsmiddel såsom 1,0 % natriumhypochlorit eller andet egnet desinfektionsmiddel.
- Abbott RealTime HCV Calibrators og Controls skal klargøres sammen med de prøver, der skal testes. Brugen af Abbott RealTime HCV Controls og Calibrators er en integreret del af ydeevnen for Abbott RealTime HCV-analysen. Se afsnittet **KVALITETSKONTROLPROCEDURER**.
- Start protokollen for Abbott m2000sp Master Mix Addition inden for 1 time efter prøveklargøring.
- Hvis protokollen for Abbott m2000sp Master Mix Addition afbrydes, skal de amplifikationsreagenser, der blev brugt for anden gang, kasseres. Man kan gemme nye reagenspakker, der anvendes for første gang, og opbevare dem til senere brug som beskrevet i denne vejledning.

- m2000rt-protokollen skal startes inden for 50 minutter efter start af protokollen for Master Mix Addition. Hvis Abbott m2000rt-instrumentets kørsel ikke påbegyndes inden for 50 minutter eller afbrydes eller afsluttes, skal man komme Abbott 96-Well Optical Reaction Plate i en plastpose, der kan forsegles, og bortskaffe den i henhold til brugervejledningen for Abbott m2000rt sammen med de handsker, der bruges til håndtering af pladen.

VIGTIGT: Amplifikationsreagenser, der skal bruges igen, skal opbevares ved -10 °C eller koldere inden for 50 minutter, efter man starter protokollen for Master Mix Addition.

ANALYSEPROTOKOL: DBS-PRØVER I ABBOTT M2000SP- OG ABBOTT M2000RT-INSTRUMENTER

For en detaljeret beskrivelse af, hvordan man udfører en protokol på Abbottm2000sp-instrumentet og Abbott m2000rt-instrumentet, henvises til afsnittet Betjeningsvejledning i brugervejledningerne for Abbott m2000sp og Abbott m2000rt. DBS-protokollen kræver Abbott m2000sp softwareversion 6.0 eller nyere. Følg brugervejledningen for Abbott m2000sp (listenr. 09K20 version 6 eller nyere).

Der kan i alt behandles 96 prøver i hver kørsel. En negativ kontrol, en lav positiv kontrol og en høj positiv kontrol er inkluderet i hver kørsel, så man kan behandle maksimalt 93 DBS-prøver pr. kørsel, når kalibratorerne ikke er inkluderet. Man skal behandle kalibratore og kontroller direkte som væskeprøver. Trin 1 til og med trin 5 er kun for DBS. Du må ikke behandle plasma- eller serumprøver på en kørsel, hvor du anvender DBS-protokollen. For hver DBS-prøve anvendes et enkelt Abbott Master Mix Tube til hele prøvebehandlingsproceduren. Sørg for, at mærke DBS-prøver under hele behandlingen.

1. Fyld Abbott Master Mix Tube med 1,3 mL mDBS-buffer fra Abbott mSample Preparation System DBS Buffer Kit (listenr. 09N02-001).

BEMÆRK: Brug ikke mLysis Buffer eller andre reagenser til dette trin

2. Hold det perforerede DBS-papirkort over Abbott Master Mix Tube.
3. Skub DBS-cirklen ud af kortet med en ren pipettespids, 1 DBS-cirkel pr. Master Mix Tube. Hver DBS skal have en diameter på ca. 12 mm.

BEMÆRK: BRUG EN NY PIPETTESPID TIL HVER DBS-PRØVE FOR AT FORHINDRE KRYDSKONTAMINERING.

Alternativt kan du skære 1 hel DBS ud af ikke-perforeret DBS-papir (ca. 1,25 cm i diameter) for hver prøve og overføre den til et Master Mix Tube.

BEMÆRK: Undgå direkte kontakt mellem skæreeverfladen og DBS-prøver. Dekontaminer det redskab, der anvendes til at skære DBS mellem prøver, hvis det er nødvendigt, i henhold til god laboratoriepraksis.

4. Sørg for, at DBS-cirklen er helt nedsænket i mDBS Buffer ved at banke på røret eller bruge pipettespiden til at skubbe DBS ned i bufferen.

BEMÆRK: Hvis der anvendes en pipettespids til at skubbe DBS ned i bufferen, skal du sørge for, at pipettespiden ikke forårsager tab af DBS-buffervolumen på grund af væskeindslutning i spidsen og/eller absorption af bufferen via spidsens filter.

5. Prøverørene rystes eller hvirvles manuelt. Undlad at vortexe prøverne. Inkuber dem i 30 minutter (± 2 minutter) ved omgivelsestemperatur.
6. I mellemtiden optås analysekontroller og intern kontrol (IC) ved 15 °C til 30 °C eller ved 2 °C til 8 °C. Optø kalibratore ved 15 °C til 30 °C eller ved 2 °C til 8 °C, hvis det er 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. Hvis de er til stede, skal du fjerne dem med en steril pipettespids og bruge en ny spids til hvert hætteglas.
8. Optø amplifikationsreagenserne 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 amplifikations-master mix-proceduren.
9. Vælg nye og/eller delvise amplifikationsreagenspakker, der skal bruges i kørslen. Der henvises til afsnittet Betjeningsvejledning i brugervejledningen for Abbott m2000sp (listenr. 09K20 version 6 eller nyere) for instruktioner vedrørende lagerstyring af amplifikationsreagenspakker. Amplifikationsreagenspakker skal have samme partinummer.

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 amplifikations-master mix-proceduren.

BEMÆRK: Når de er tøet 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 skal opbevares ved -10 °C eller koldere, indtil de skal anvendes til tilsætning af master mix. Når de tages ud af fryseren, må den samlede eksponering for rumtemperatur ikke overstige 25 minutter, herunder tilfælde, hvor pakker tages ud, men ikke anvendes. Hvis der er gået mere end 25 minutter, kasseres delvise amplifikationsreagenspakker.

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
Internal Control ^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 Man kan anvende en kombination af nye og delvise hætteglas med intern kontrol.

- 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.
- Vortex hvert hætteglas med IC 3 gange i 2 til 3 sekunder inden brug.
- 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 tillukkes igen og opbevares ved -10 °C eller koldere til næste brug.
- Placer de lave og høje positive kontroller, den negative kontrol og kalibratorer, hvis det er relevant, i Abbott m2000sp-prøveracks.
- Når inkubationen er afsluttet, rystes eller hvirvles DBS-prøvererne manuelt og sættes derefter i m2000sp-prøveracks.
BEMÆRK: Sørg for, at Abbott m2000sp-prøveracks er kalibreret specifikt til Abbott RealTime HCV-proceduren for DBS.
- Sæt dem forsigtigt i prøveracks for at undgå sprøjt. Hvis der er stregkoder på rørenes mærkater, skal de vende mod højre ved scanning. Sørg for, at hvert rør sidder rigtigt i prøveracket, så bunden af røret rører den indvendige bund af raket.
- Sæt fyldte prøveracks 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.
- Placer 5 mL reaktionsbeholdere i Abbott m2000sp 1 mL undersystemholderen.
- Anbring reagenserne til Abbott mSample Preparation System og Abbott 96 Deep-Well Plate på Abbott m2000sp-arbejdsbordet som beskrevet i afsnittet Betjeningsvejledning i brugervejledningen for Abbott m2000sp.
- Vælg applikationsfilen HCV RNA DBS på skærbilledet Protocol. Start prøveekstraktionsprotokollen som beskrevet i afsnittet Betjeningsvejledning i brugervejledningen for Abbott m2000sp.

20. Angiv partispecifikke værdier for kalibratorer (nødvendig, hvis der ikke er gemt en kalibreringskurve på Abbott m2000rt) og kontroller i Sample Extraction: Worktable Setup, Calibrator and Control-felterne. Partispecifikke værdier er angivet i hvert Abbott RealTime HCV Calibrator and Control Kit Card.

21. Protokollen for Abbott m2000sp Master Mix Addition (trin 28) skal startes inden for 1 time, efter prøveklargøringen er afsluttet.

BEMÆRK: Skift handsker før håndtering af amplifikationsreagenserne.

22. Sæt amplifikationsreagenserne og master mix-røret (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 master mix-rør.

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 brugervejledningen for Abbott m2000sp (listenr. 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 den anden brug. Bekræft, at master mix er optøet, før der anbringes en eller flere delvise pakker på Abbott m2000sp-arbejdsbordet. Når delvise amplifikationsreagenspakker tages ud af fryseren på -10 °C eller koldere og anvendes for anden gang, skal de anvendes inden for 25 minutter eller kasseres. Dette gælder for den samlede eksponering for rumtemperatur, 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. Hvis man banker dem mod bordet, kan det medføre tab af master mix, som kan sætte sig i hættten.

24. Tag hættterne af. Hvis en ny amplifikationsreagenspakke opbevares til en anden brug, skal hætteglassene tillukkes igen inden opbevaring. Hvis der er planer om at bruge de originale hættter igen til hætteglassene med reagens, skal de originale hættter gemmes. Hvis der er planer om at bruge nye hættter til hætteglassene med reagens, kasseres de originale hættter.

Hvis uracil-N-glycosylase (UNG) anvendes til kontaminationskontrol, skal nedenstående instruktioner følges.

25. Brug en PIPETTE, DER KUN ER BEREGNET TIL REAGENSBRUG, til at tilsætte en specificeret volumen på 1 E/µL UNG (listenr. 6L87-02) til hætteglasset med reagens i position 3 af nye og delvise amplifikationsreagenspakker. Bland alle delvise pakker manuelt ved forsigtigt at pipettere op og ned. Bland ikke nye pakker.

- Brug nedenstående tabel til at bestemme mængden af UNG, der skal tilsættes til hætteglasset med reagens i position 3 af nye og delvise amplifikationsreagenspakker. Hætteglasset med reagens i position 3 i en ny reagenspakke indeholder det termostabile rTth polymeraseenzym. Hætteglasset med reagens i position 3 i en delvis reagenspakke indeholder master mix.

Volumen af UNG, der skal tilsættes hætteglasset med reagens i position 3 af hver amplifikationsreagenspakke	
Resterende tests i pakken	Tilsæt denne volumen af 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 er tilsat hætteglasset med reagens i position 3, afhænger af antallet af resterende tests i reagenspakken og ikke antallet af prøver, der køres. Der henvises til betjeningsvejledningen for Abbott *m2000sp* for instruktioner vedrørende lagerstyring af amplifikationsreagenspakker, og hvordan man finder ud af, hvor mange tests der er tilbage i en reagenspakke.

- Delvise amplifikationspakker placeres til venstre for nye amplifikationsreagenspakker på Abbott *m2000sp*-arbejdsbordet.
- Sørg for, at amplifikationsreagenspakker sidder korrekt i instrumentet.
- Vælg den relevante dybbrændsplade, der passer til den tilsvarende prøveklargøringssekstraktion. Start protokollen for Abbott *m2000sp* Master Mix Addition. Følg anvisningerne i afsnittet Betjeningsvejledning i brugervejledningen for Abbott *m2000sp*.

BEMÆRK: Operatøren må ikke manuelt fylde tomme/ufyldte brønde i Abbott 96-Well Optical Reaction Plate.

- Når prøveekstraktionen er afsluttet, fylder Abbott *m2000sp* automatisk alle tomme brønde i Abbott 96-Well Optical Reaction Plate med *mElution Buffer*, når mere end 48 prøver er behandlet i en kørsel. Fyldning af pladen udføres ikke for kørsler, der indeholder 48 prøver eller færre.
- Hvis instrumentet beder om det, skal Reagent Carrier 2 forblive på plads og minimum indeholde reagensbeholderen til *mElution Buffer* (Reagent Carrier 2, placering 6). Hvis denne reagensbeholder er taget ud, anbringes en ny reagensbeholder med etiketten for *mElution Buffer* i Reagent Carrier 2, placering 6. Der hældes systemvæske til reagensbeholderen, som bruges til at fylde tomme brønde. Når denne proces er fuldført, fortsætter systemet med at tilsætte master mix.

BEMÆRK: Instruktioner om den automatiske pladefyldningsfunktion findes i brugervejledningen for Abbott *m2000sp* (listenr. 09K20 version 6 eller nyere), afsnit 5, Betjeningsvejledning, Prøveekstraktion - lukket tilstand.

- Protokollen for Abbott *m2000rt* (trin 33) skal startes inden for 50 minutter efter start af protokollen for Master Mix Addition (trin 28).

BEMÆRK: Hvis kørslen af en eller anden grund afbrydes efter trin 28, anvendes en ny Abbott 96-Well Optical Reaction Plate, hvis protokollen for Abbott *m2000sp* Master Mix Addition (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 du vender tilbage til prøveklargøringsområdet.
- Forsegl Abbott 96-Well Optical Reaction Plate, når Abbott *m2000sp*-instrumentet har tilsat prøver og master mix i henhold til afsnittet Betjeningsvejledning i brugervejledningen for Abbott *m2000sp*.
- Placer den forseglede optiske reaktionsplade i Abbott Splash-Free Support Base for overførsel til Abbott *m2000rt*-instrumentet.
Hvis uracil-N-glycosylase (UNG) anvendes, skal nedenstående instruktioner følges:
- Overfør den forseglede optiske plade til Abbott Splash-Free Support Base, og inkuber den ved stuetemperatur (15 °C til 30 °C) i 10 minutter. Efter inkubation ved stuetemperatur overføres Abbott 96-Well Optical Reaction Plate på Abbotts Splash-Free Support Base til Abbott *m2000rt*-instrumentet.
- Placer Abbott 96-Well Optical Reaction Plate i Abbott *m2000rt*-instrumentet. Vælg applikationsfilen HCV RNA DBS på skærbilledet Protocol. Start protokollen som beskrevet i afsnittet Betjeningsvejledning i brugervejledningen for Abbott *m2000rt*.
BEMÆRK: Det anbefales at overføre testordrer via en cd-rom eller netværksforbindelse med eksport- og importfunktioner i *m2000ap* og *m2000rt*-softwaren. Hvis testordren oprettes manuelt i Abbott *m2000rt*, angives prøve-id'er på de tilsvarende PCR-bakkeplaceringer i henhold til skemaet "Wells for Selected Plate" på skærbilledet "PCR Plate Results" på Abbott *m2000sp*. Se afsnit 5 i brugervejledningen for Abbott *m2000sp*.
- Hvis en klargjort delvis amplifikationsreagenspakke skal bruges igen, skal man tillukke de 3 hætteglas med reagens med gemte eller nye hætter (listenr. 3N20-01), og reagenserne skal straks opbevares ved -10 °C eller koldere, beskyttet mod lys og i opretstående position. Kassér amplifikationsreagenspakker, der er opbrugt eller har været brugt to gange.

VIGTIGT: Amplifikationsreagenser, der skal bruges igen, skal opbevares ved -10 °C eller koldere inden for 50 minutter, efter man starter protokollen for Master Mix Addition.

EFTERBEHANDLINGSPROCEDURER

- Fjern Abbott 96 Deep-Well Plate fra arbejdsbordet, og bortskaf den i henhold til brugervejledningen for Abbott *m2000sp*.
- Placer Abbott 96-Well Optical Reaction Plate i en plastpose, der kan forsegles, og bortskaf den i henhold til brugervejledningen for Abbott *m2000rt* sammen med de handsker, der blev anvendt til at håndtere pladen.
- Rengør Abbott Splash-Free Support Base før næste brug i henhold til brugervejledningen for Abbott *m2000rt*.

KVALITETSKONTROLPROCEDURER

Optisk kalibrering af Abbott *m2000rt*

Se indlægssedlen for Abbott RealTime HCV-analysen (listenr. 4J86).

Analysekalibrering

Se indlægssedlen for Abbott RealTime HCV-analysen (listenr. 4J86).

Til DBS-test på *m2000sp* og *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 amplifikationsreagenssæt til Abbott RealTime HCV med et nyt partinummer.
- Der anvendes et Abbott *mSample Preparation System* (4 x 24 Preps) med et nyt partinummer.
- Der installeres en ny Abbott RealTime HCV RNA DBS-applikationsfil.

Påvisning af hæmning

Se indlægssedlen for Abbott RealTime HCV-analysen (listenr. 4J86).

Negative og positive kontroller

Se indlægssedlen for Abbott RealTime HCV-analysen (listenr. 4J86).

Overvågning af laboratoriet for forekomst af kontaminering

Se indlægssedlen for Abbott RealTime HCV-analysen (listenr. 4J86).

RESULTATER FOR DBS-PRØVER

Den rapporterede DBS-prøvekoncentration fra *m2000rt*DBS-protokolkørslen repræsenterer den virale HCV-koncentration i plasmaet af den fuldblodprøve, hvorfra DBS-prøven blev udtaget. Abbott *m2000rt*-instrumentet rapporterer automatisk resultaterne på Abbott *m2000rt*-arbejdsstationen. Analyseresultaterne kan rapporteres i internationale enheder IE/mL eller Log IE/mL.

Fortolkning af resultater

Resultat	Fortolkning
Ikke registreret	Mål ikke registreret
<2,66 Log IE/mL ^a	Registreret
2,66 til 8,00 Log IE/mL	
>8,00 Log IE/mL	>ULQ ^b

^a 462 IE/mL

^b ULQ = øvre kvantificeringsgrænse

BEGRÆNSNINGER FOR PROCEDUREN

- **TIL IN VITRO-DIAGNOSTISK BRUG**
- Optimal ydeevne af denne test kræver passende prøveindsamling, opbevaring og transport til teststedet (se afsnittet **INDSAMLING, OPBEVARING OG TRANSPORT AF PRØVER TIL TESTSTEDET** på denne indlægsseddel).
- Fuldblodsprøver, der er indsamlet i EDTA-rør, kan anvendes til at generere DBS, som testes med Abbott RealTime HCV-analysen for DBS. Brugen af andre antikoagulanter er ikke blevet valideret med Abbott RealTime HCV-analysen for DBS.
- Brug af Abbott RealTime HCV-analysen for DBS er begrænset til personale, der er uddannet i DBS-klargørings- og forbehandlingsprocedurer, en molekylær diagnostisk analyse og Abbott *m2000*-systemet.
- Instrumenterne og analyseprocedurerne reducerer risikoen for kontaminering med amplifikationsproduktet. Dog skal kontaminering med nukleinsyrer fra kalibratorer, positive kontroller eller prøver kontrolleres ved god laboratoriepraksis, og man skal omhyggeligt overholde de procedurer, der er angivet i denne indlægsseddel.
- Som ved enhver diagnostisk test skal resultater fra Abbott RealTime HCV-analysen for DBS fortolkes i sammenhæng med andre kliniske og laboratoriemæssige resultater. En prøve med resultatet "Ikke registreret" kan ikke antages at være negativ for HCV RNA.
- Forkert indsamling, tørring, opbevaring og håndtering af DBS-kort kan føre til unøjagtige testresultater.
- Man kan anvende Ahlstrom-Munktel TFN- og Whatman 903 DBS-kort. Brugen af andre kort er ikke blevet valideret med Abbott RealTime HCV-analysen.

SPECIFIKKE YDELSESKARAKTERISTIKA FOR DBS-PRØVER

Detektionsgrænse (LOD)

LOD for Abbott RealTime HCV-analysen er 462 IE/mL med DBS-prøvetypen. LOD blev bestemt ved at undersøge DBS-prøver, der var fremstillet ved 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 partier amplifikationsreagenser over 3 dage. Resultaterne, der repræsenterer ydeevnen af den analytiske følsomhed af Abbott RealTime HCV-analysen for DBS, er opsummeret i **tabel 1**.

Tabel 1. Detektionsgrænse (LOD) for Abbott RealTime HCV for DBS

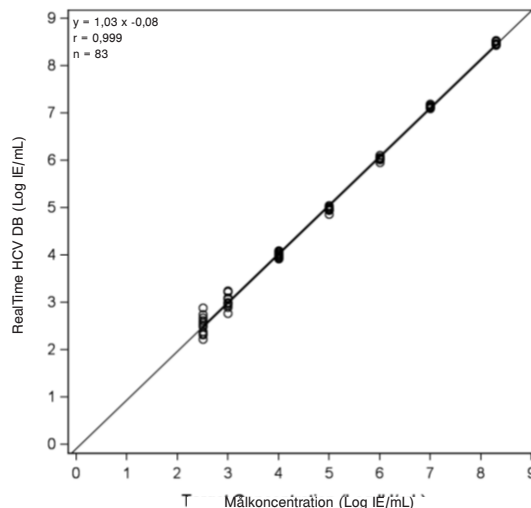
HCV RNA (IE/mL)	Antal testet	Antal registreret	Procent registreret
500	84	83	99
400	84	80	95
350	84	75	89
300	84	73	87
150	84	54	64
50	84	26	31

Probit-analyse af dataene fastslog, at koncentrationen af HCV RNA, der blev registreret fra den tørrede blodplet, med 95 % sandsynlighed var 462 IE/mL (95 % KI 381 til 593 IE/mL).

Lineært område

Den øvre kvantificeringsgrænse (ULQ) for Abbott RealTime HCV-analysen er 100 millioner IE/mL, og den nedre kvantificeringsgrænse svarer til LOD (462 IE/mL) for DBS-kravet. Et DBS-panel med 7 medlemmer blev fremstillet med HCV-armeret RNA fortyndet til en koncentration på mellem 200 millioner IE/mL og 316 IE/mL i HCV-negativt fuldblod. Resultaterne, der repræsenterer Abbott RealTime HCV-analysens linearitet for DBS, er vist i **figur 1**.

Figur 1. Abbott RealTime HCV-analyse for DBS-linearitet



Abbott RealTime HCV-analysen for DBS er lineær i hele området af testede HCV RNA-koncentrationer (316 til 200 millioner IE/mL, 2,5 til 8,3 Log IE/mL).

Specificitet

Målspecificiteten for Abbott RealTime HCV-analysen for DBS er større end eller lig med 99,5 %. Specificiteten blev bestemt ved at analysere 119 HCV sero-negative prøver på tværs af 2 partier amplifikationsreagenser. Den samlede specificitet var 100 % (119/119).

Præcision

Præcisionen blev evalueret ved at teste et DBS-panel med 6 medlemmer, som dækkede koncentrationsområdet af HCV RNA fra 316 IE/mL til 200 millioner IE/mL. Panelmedlemmer med koncentrationer under 5 Log IE/mL (100.000 IE/mL) blev klargjort med en HCV-positiv klinisk prøve fortyndet i HCV-negativt fuldblod, mens panelmedlemmer med koncentrationer over 5 Log IE/mL (100.000 IE/mL) blev klargjort med HCV-armeret RNA fortyndet i HCV-negativt fuldblod. Hvert panelmedlem blev testet i 5 replikater én gang om dagen i 5 dage, på 3 par *m2000sp/rt* med 3 amplifikationsreagenspartier. Standardafvigelse (SD) for Inden for kørslen, Mellem kørsler og Mellem analyser (Inden for kørsel og Mellem kørsel) blev fastlagt. Abbott RealTime HCV-analysen for DBS er beregnet til at opnå en standardafvigelse (SD) for Mellem analyser på mindre end eller lig med 0,25 Log IE/mL HCV RNA for prøver, der indeholder HCV-koncentrationer på mellem 10.000 og 100 millioner IE/mL. Resultaterne, der repræsenterer nøjagtigheden af Abbott RealTime HCV-analysen for DBS, er opsummeret i **tabel 2**.

Tabel 2. Præcision af Abbott RealTime HCV-analyse for DBS

Panelmedlem	N	Middeldkoncentration (IE/mL)	Middeldkoncentration (Log IE/mL)	SD for komponenten Inden for kørsel ^{a,e}	SD for komponenten Mellem kørsler ^a	SD for komponenten Mellem analyser ^{a,b}	SD for komponenten Mellem partier/ instrumenter ^a	
							I alt ^{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

^aStandardafvigelse (SD) er i Log IE/mL.

^bMellem analyser omfatter komponenterne Inden for kørsel og Mellem kørsler.

^cTotal omfatter komponenterne Inden for kørsel, Mellem kørsler og Mellem partier/instrumenter.

^dMiddeldkoncentrationen af panelmedlem 1 er under LOD. Præcisionsestimaterne er baseret på de replikater, der er kvantificeret.

^e SD for Mellem kørsel kaldes også repeterbarhed. Total SD kaldes også reproducerbarhed.

Repeterbarhed og reproducerbarhed for panelmedlem 1 (nær LLOQ) var henholdsvis 0,26 Log IE/mL og 0,27 Log IE/mL og for panelmedlem 2 (nær LLOQ) henholdsvis 0,23 Log IE/mL og 0,25 Log IE/mL. Repeterbarhed og reproducerbarhed for panelmedlem 5 (nær ULOQ) var henholdsvis 0,12 Log IE/mL og 0,14 Log IE/mL og for panelmedlem 6 (nær ULOQ) henholdsvis 0,04 Log IE/mL og 0,07 Log IE/mL.

Korrelation

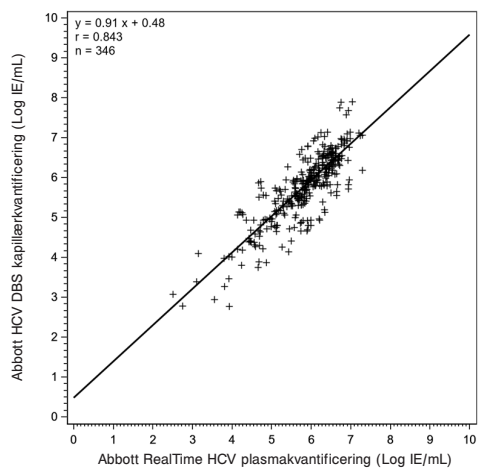
HCV RNA-quantificering blev sammenlignet mellem Abbott RealTime HCV-analysen ved hjælp af tørrede blodpletter og den CE-mærkede komparatoranalyse, Abbott RealTime HCV-testning ved hjælp af humant plasma. Plasma- og DBS-prøver fra i alt 346 forsøgspersoner (indsamlet og afprøvet i Georgien, Cameroun og Grækenland) indgik i analysen. Både DBS fremstillet af veneblod og DBS fremstillet af kapillærblod (fingerprik) blev testet af Abbott RealTime HCV-analysen for DBS. De kvantitative resultater fra prøver, der faldt inden for analysernes dynamiske områder, blev analyseret ved hjælp af de mindste kvadraters lineære regressionsmetode og Bland-Altman-bias-metoden (DBS kapillær versus plasma N = 346, DBS venøs versus plasma N = 346 og DBS kapillær versus DBS venøs N = 345). For korrelationen mellem DBS kapillær og plasma var korrelationskoefficienten 0,843, hældningen var 0,91 (95 % KI 0,85 til 0,97), og skæringspunktet var 0,48 Log IE/mL (95 % KI 0,12 til 0,84) (**Figur 2**). For korrelationen mellem DBS venøs og plasma var korrelationskoefficienten 0,840, hældningen var 0,94 (95 % KI 0,88 til 1,00), og skæringspunktet var 0,31 Log IE/mL (95 % KI -0,07 til 0,69) (**Figur 3**). For korrelationen mellem DBS kapillær og DBS venøs var korrelationskoefficienten 0,943, hældningen var 0,91 (95 % KI 0,87 til 0,94), og skæringspunkter var 0,53 Log IE/mL (95 % KI 0,33 til 0,72) (**Figur 4**). Derudover vises Bland-Altman-plots for de samme sammenligninger i **figur 5**, **figur 6** og **figur 7**. Forskellen i middelværdi af bias mellem DBS kapillær og plasma var -0,05 Log IE/mL. Forskellen i middelværdi af bias mellem DBS venøs og plasma var -0,04 Log IE/mL. Forskellen i middelværdi af bias mellem DBS kapillær og DBS venøs var -0,02 Log IE/mL.

Forventet bias mellem DBS kapillær og plasma blev evalueret ved målniveauerne LLOQ og ULOQ. Desuden blev den forventede bias mellem DBS venøs og plasma evalueret på målniveauerne LLOQ og ULOQ. Se **tabel 3** for oversigten over forventet bias.

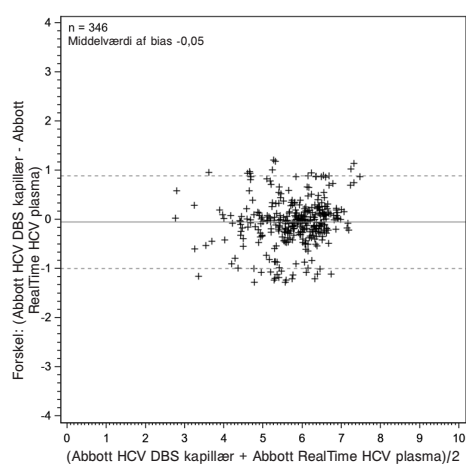
Tabel 3. Forventet bias mellem DBS (kapillær eller venøs) og plasma ved LLOQ og ULOQ

Sammenligning	Niveau	Målniveau for viral belastning (Log IE/mL)	Forventet bias (Log IE/mL)
DBS kapillær vs. plasma	LLOQ	2,66	0,24
	ULOQ	8,00	-0,26
DBS venøs vs. plasma	LLOQ	2,66	0,15
	ULOQ	8,00	-0,17

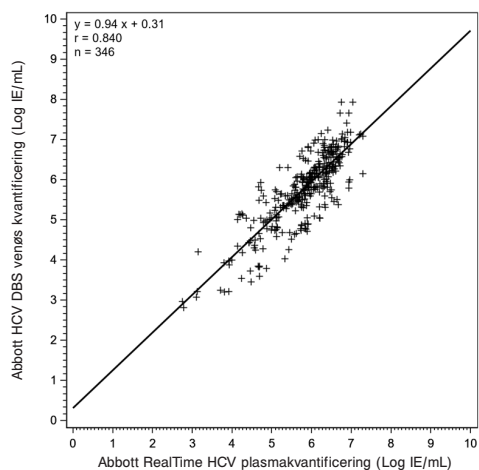
Figur 2. DBS kapillær og plasma



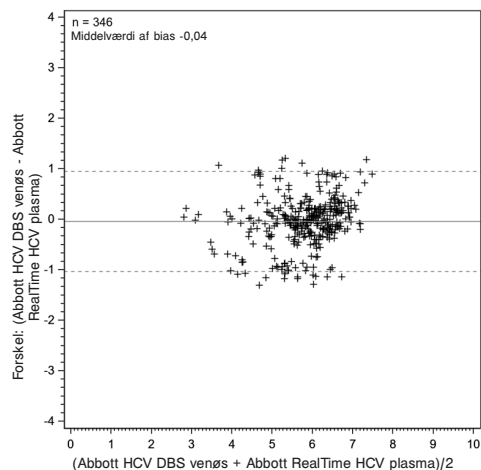
Figur 5. DBS kapillær vs. plasma



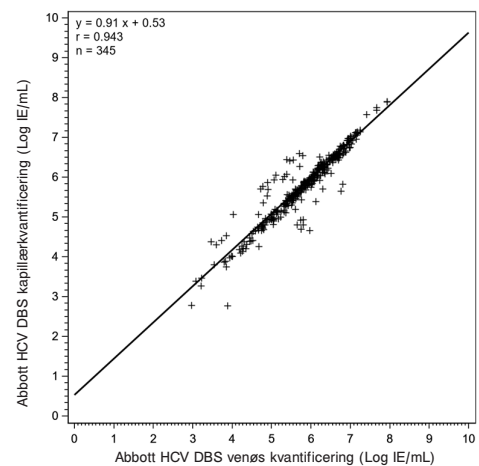
Figur 3. DBS venøs og plasma



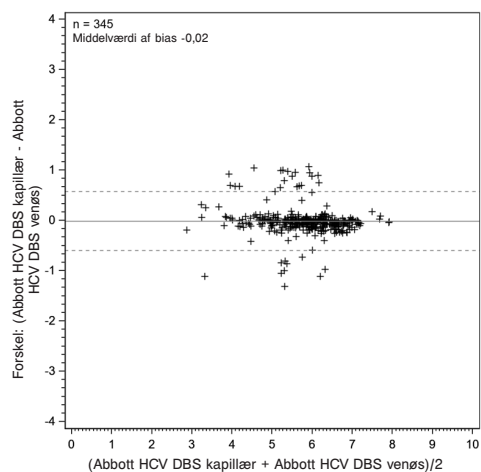
Figur 6. DBS venøs vs. plasma



Figur 4. DBS kapillær og DBS venøs



Figur 7. DBS kapillær vs. DBS venøs



LITTERATUR

1. Gower E, Estes C, Blach S, et al. Global epidemiology and genotype distribution of the hepatitis C virus infection. *J Hepatol*. 2014; 61(1):S45-S57.
2. World Health Organization Updated Version April 2016: Guidelines for the screening, care and treatment of persons with hepatitis C infection. <http://www.who.int/hepatitis/publications/hepatitis-c-guidelines-2016/en/>.
3. AASLID/IDSA Recommendations for testing, managing and treating hepatitis C, revised April, 2017. www.hcvguidelines.org.
4. European Association of the Study of the Liver. Recommendation on Treatment of Hepatitis C 2018. *J. Hepatology* (2018).
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;39:1363-75.
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. *N Engl J Med* 1998;339(21):1493-9.
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):958-65.
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):975-82.
9. Hadziyannis SJ, Sette H Jr., Morgan TR, et al. Peginterferon-[alpha]2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose. *Ann Intern Med* 2004;140(5):346-55.
10. Orlent H, Deltenre P, Francque S, et al. Update of the Belgian Association for the Study of Liver Guidelines for the Treatment of Chronic Hepatitis C Genotype 1 with Protease Inhibitors. *Acta Gastro-Enterologica Belgica* 2012;LXXV:245-259.
11. Halfon P, Bourliere M, Penaranda G, Khiri H, and Ouzin 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 Microbiology* 2006;44(7): 2507-2511.
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):1611-8.
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):41-5.
14. WHO guidelines on hepatitis B and C testing. Geneva: World Health Organization; 2017.
15. Saldanha J, Heath A., 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 Sanguinis* 2005 Apr; 88 (3):202-204.

TEKNISK ASSISTANCE

Hvis du har brug for teknisk assistance, kan du ringe til Abbott Molecular Technical Services på 1-800-553-7042 (inden for USA) eller +49-6122-580 (uden for USA) eller besøge Abbott Moleculars websted på www.molecular.abbott/portal.

Abbott RealTime HCV importeres til den Europæiske Union af Abbott Diagnostics GmbH, der er beliggende på Max-Planck-Ring 2, 65205 Wiesbaden, Tyskland



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



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



© 2020 Abbott. Alle rettigheder forbeholdes.

www.abbottmolecular.com

51-608440/R1

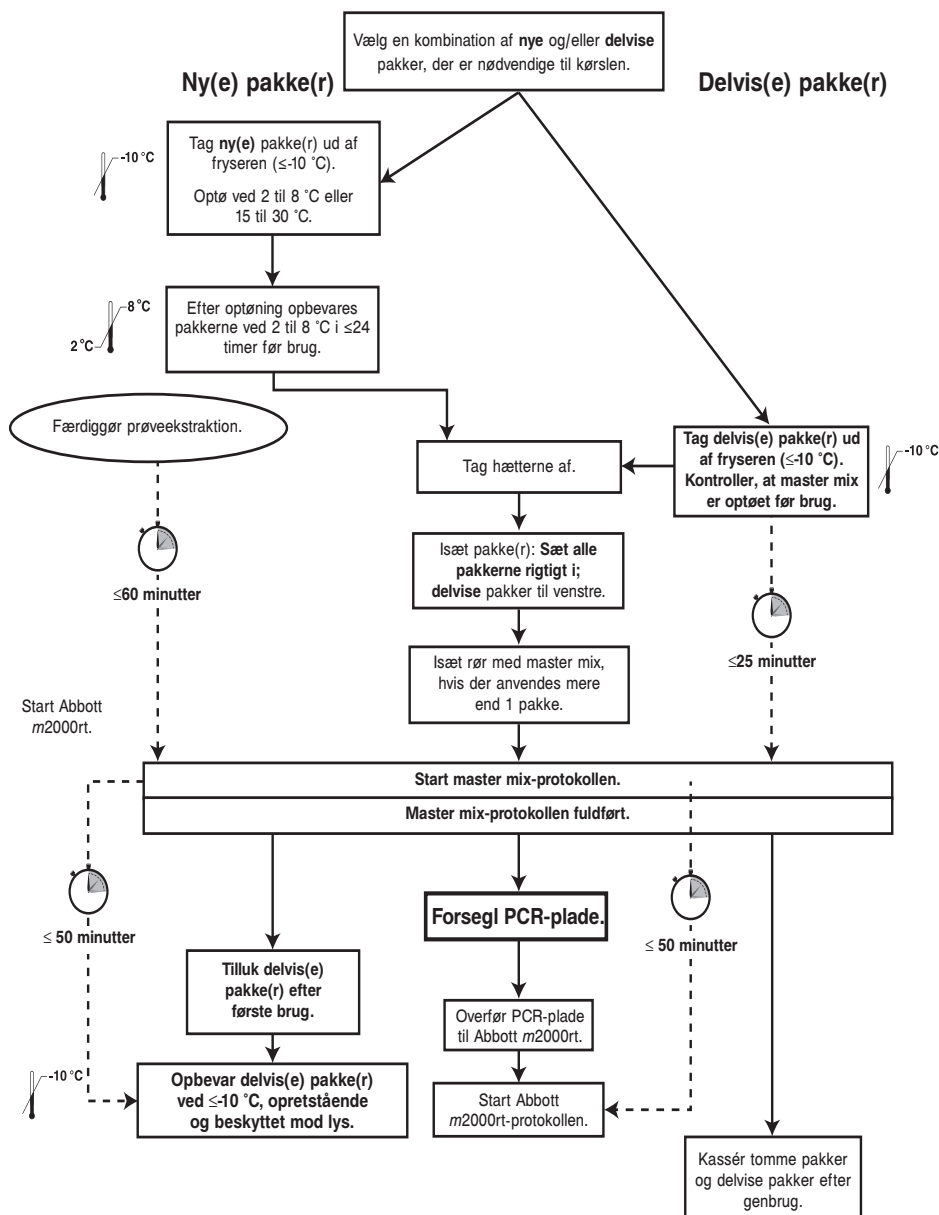
Juli 2020

BILAG 1. OVERSIGT OVER FORLÆNGET ANVENDELSE AF ABBOTT REALTIME HCV AMPLIFICATION REAGENT

Funktionen til forlænget anvendelse af amplifikationsreagens gør det muligt at bruge en amplifikationsreagenspakke og intern kontrol (IC) i alt 2 gange. Amplifikationsreagenspakker, der endnu ikke er blevet brugt til at klargøre master mix, kaldes **nye** amplifikationsreagenspakker. Amplifikationsreagenspakker, der er blevet brugt én gang og indeholder klargjort master mix, kaldes **delvise** amplifikationsreagenspakker. Se instruktionerne i denne vejledning for at få yderligere oplysninger.

Opbevaringsforhold (amplifikationsreagenspakke og hætteglas med intern kontrol)		
Pakketype	Opbevaringstemperatur	Opbevaringstid
Nye pakker	-10 °C eller koldere	Indtil den dato, der er vist på etiketten
Ny IC	-10 °C eller koldere	Indtil den dato, der er vist på etiketten
Delvise pakker	-10 °C eller koldere (beskyttet mod lys)	Op til 14 dage efter første brug
Delvis IC	-10 °C eller koldere	Op til 14 dage efter første brug

- Hvis UNG anvendes til kontaminationskontrolproceduren, henvises der til analyseprotokollens trin 25 og 32 for specifikke instruktioner.



- Amplifikationsreagenspakker med mulighed for forlænget anvendelse skal have et 6-cifret serienummer over strekoden.
- Delvise** amplifikationsreagenspakker kan kun bruges en gang mere, hvis de anvendes på samme instrument som ved den første anvendelse. Hvis du bruger dem på et andet instrument, vil det generere en behandlingsfejl, som kan forsinke kørslen.
- Delvise** og **nye** amplifikationsreagenspakker kan bruges sammen. Alle amplifikationsreagenspakker, der anvendes på instrumentet til en kørsel, skal have det samme partnummer.

Abbott RealTime HCV

Bilaga för DBS (Dried Blood Spot)

SV**GTIN****REF**

04J86-010

IVD

51-608440/R1

REF 04J86-010

51-608440/R1

Förklaring av symboler som används

GTIN

Globalt artikelnummer

REF

Referensnummer

IVD

Medicinsk utrustning för in vitro-diagnostik



Längsta tillåtna tid



Övre temperaturgräns



Temperaturgräns

EC REP

Auktoriserad representant i Europeiska gemenskapen



Tillverkare

INTERNATIONELL KUNDTJÄNST:

KONTAKTA EN ABBOTT-REPRESENTANT

Denna bipacksedel måste läsas noggrant före användning. Anvisningarna i bipacksedeln måste följas. Analysresultatens tillförlitlighet kan inte garanteras om det görs avsteg från instruktionerna i bipacksedeln.

Den här bruksanvisningen är ett tillägg till bipackssedeln till Abbott RealTime HCV-analys (listnr 4J86), som är särskilt avsedd för provtypen DBS (Dried Blood Spot).

MEDDELANDE TILL ANVÄNDARE

Om en allvarlig incident inträffar i relation till produkten ska den rapporteras till tillverkaren och berörd myndighet i medlemsstaten där användaren och/eller brukaren befinner sig. För att rapportera till tillverkaren, se kontaktinformationen som finns i avsnittet om teknisk assistans i dessa instruktioner.

NAMN

Abbott RealTime HCV

AVSEDD ANVÄNDNING FÖR DBS

Abbott RealTime HCV-analys är en in vitro-analys som tillämpar omvänd polymeraskedjereaktionsteknik (RT-PCR) för kvantifiering av hepatit C-viral RNA (HCV RNA) i helblod som placeras på kort som torkade bloddroppar (DBS, Dried Blood Spots) (dvs. som erhålls via venpunktion eller kapillärblod) från HCV-infekterade individer. Abbott RealTime HCV-analys är avsedd att användas som ett hjälpmedel vid hantering av HCV-infekterade patienter som genomgår antiviralbehandling. Abbott RealTime HCV-analys är inte avsedd för screening av blod-, plasma-, serum- eller vävnadsdonatorer för HCV, eller för att användas som ett diagnostiskt test för att bekräfta förekomst av HCV-infektion.

AVSEDD ANVÄNDARE

Avsedda användare av Abbott RealTime HCV-analys är laboratorie- och sjukvårdspersonal.

SAMMANFATTNING OCH FÖRKLARING AV TESTET

Hepatit C-virus (HCV) är en av huvudsakerna till leversjukdom. Uppskattningsvis 1,1 % av befolkningen är kroniskt hepatit C-infekterade¹ och cirka 700 000 personer dör varje år från hepatit C-relaterad leversjukdom.² HCV är ett positiv-strängt RNA-virus och överförs primärt genom intravenös droganvändning och via blodprodukter. Cirka 55 till 85 % av HCV-infekterade individer utvecklar kronisk hepatit, där

upp till 30 % av de kroniskt infekterade individerna utvecklar cirros.¹ För patienter med cirros är förekomsten av hepatocellulärt karcinom 2 till 4 % per år.¹

Kvantitativ mätning av HCV RNA-nivå i perifert blod har visat sig vara en viktig parameter vid hantering av olika anti-HCV-behandlingar.⁶⁻¹³ Behandling av HCV-infektion har ökat dramatiskt sedan direktverkande antiviral behandling har börjat användas. Syftet med anti-HCV-behandling är att uppnå en bibehållen virologisk reaktion (SVR), vilket visas som fortsatt avsaknad av detekterbar HCV RNA.²⁻⁵ Mätningar av HCV-virusbelastning har använts för att individanpassa behandlingens varaktighet och responsstyrd behandling eller för att fastställa och förutsäga bibehållen eller icke-bibehållen viral respons vid antiviralbehandling.²⁻⁵

Majoriteten av den globala HCV-belastningen återfinns i länder med låg- och medelinkomst (LMIC).¹⁴ Identifiering av patienter med aktiv HCV-infektion är mycket begränsad i dessa resursbegränsade områden. Helblod som samlas in som DBS (Dried Blood Spot) kan användas som ett alternativ till serum eller plasma för HCV RNA-testning. DBS är ett möjligt alternativ som eliminerar många logistiska och tekniska begränsningar i samband med insamling, bearbetning, förvaring och transport av serum eller plasma. Världshälsoorganisationens (WHO) riktlinjer för hepatit C-testning inkluderar rekommendationer för användning av DBS i HCV-virustester i resursbegränsade områden.¹⁴ Abbott RealTime HCV-analys för DBS tillämpar omvänd polymeraskedjereaktionsteknik (RT-PCR) i kombination med homogen fluorescerande realtidsdetektion för kvantifiering av HCV RNA i DBS. Valet av en bevarat område med HCV-genom ger möjlighet till detektion av genotyper 1 till 6. Analysen är standardiserad mot den andra internationella WHO-standard för RNA för hepatit C-virus (NIBSC Code 96/798)¹⁵ och resultaten rapporteras i internationella enheter/mL (IU/mL) eller motsvarande logaritmbas 10.

BIOLOGISKA ANALYSPRINCIPER

För Abbott RealTime HCV-analys för DBS krävs tre reagenssatser:

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

Vid Abbott RealTime HCV-analys för DBS används RT-PCR för att generera amplifierad produkt från HCV RNA-genomet i humana DBS-prover. Stegen i Abbott RealTime HCV-analysen för DBS består av föranalytisk DBS-behandling, provberedning, RT-PCR-sammansättning, amplifiering, detektion och resultatrapportering. Föranalytisk DBS-behandling utförs med Abbott mSample Preparation System DBS Buffer Kit innan provet sätts in i m2000sp-systemet. Efter den föranalytiska DBS-behandlingen utförs alla efterföljande steg automatiskt av systemen m2000sp och m2000rt.

Mer information om provberedning, RT-PCR-sammansättning, amplifiering och detektion finns i bipacksedeln till Abbott RealTime HCV-analys (listnr 4J86).

UTÖKAD ANVÄNDNING AV AMPLIFIERINGSREAGENS

Med tillvalsfunktionen för utökad användning av amplifieringsreagens kan amplifieringsreagensförpackningar och interna kontroller användas totalt två gånger. Amplifieringsreagensförpackningar som innehåller preparerad Master Mix kan förvaras vid -10 °C eller kallare, förslutna och skyddade från ljus, i upp till 14 dagar före användning en andra gång. Interna kontroller kan förvaras tillsluten vid -10 °C eller kallare i upp till 14 dagar före användning en andra gång. Datumet för användning en andra gång får inte vara efter utgångsdatumet för reagenset.

En översikt över den här funktionen finns i Bilaga 1 i den här bruksanvisningen.

I den här bruksanvisningen kallas amplifieringsreagensförpackningar och interna kontroller som ännu inte har använts för nya amplifieringsreagensförpackningar och interna kontroller (dvs. användning första gången). Amplifieringsreagensförpackningar som har

använts en gång och innehåller preparerad Master Mix kallas för delvis använda amplifieringsreagensförpackningar. Flaskor med intern kontroll som har använts en gång kallas delvis använda flaskor med intern kontroll.

FÖRHINDRA NUKLEINSYRAKONTAMINERING

Mer information finns i bipacksedeln till Abbott RealTime HCV-analys (listnr 4J86).

REAGENSER

Mer information finns i bipacksedeln till Abbott RealTime HCV-analys (listnr 4J86).

VARNINGAR OCH FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

IVD

För diagnostisk användning *in vitro*

Abbott RealTime HCV-analys för DBS är inte avsedd för screening av blod-, plasma-, serum- eller vävnadsdonatorer för HCV, eller för att användas som ett diagnostiskt test för att bekräfta förekomst av HCV-infektion.

SÄKERHETSÅTGÄRDER

Mer information finns i bipacksedeln till Abbott RealTime HCV-analys (listnr 4J86). För RealTime HCV-analys för DBS används endast *m2000sp*- och *m2000rt*-instrumenten

SÄRSKILDA FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

Hanteringsföreskrifter för DBS-prover

Abbott RealTime HCV-analys för DBS får endast användas med helblods- eller DBS-prover som har hanterats och förvarats enligt beskrivningen i avsnittet **PROVTAGNING, FÖRVARING OCH TRANSPORT TILL TESTPLATSEN**.

Mer information finns i bipacksedeln till Abbott RealTime HCV-analys (listnr 4J86).

Hanteringsföreskrifter som är specifika för DBS:

- Se till att DBS-korten är helt torra innan de placeras i en påse med torkmedel för förvaring. Felaktig placering av bloddroppar, torkning, förvaring eller hantering av DBS kan leda till felaktiga testresultat.
- För att undvika kontamination vid överföring ska du använda en ny pipettspets för varje DBS-prov när du trycker ut den torkade bloddroppen från det perforerade DBS-kortet. Om ett icke-perforerat DBS-kort används ser du till att det verktyg som används för att trycka ut den torkade bloddroppen dekontamineras före och efter kontakt med DBS-provet.

Arbetsområden

Endast två för ändamålet avsedda områden, provberedningsområdet och amplifieringsområdet, rekommenderas när Abbott *m2000sp* och Abbott *m2000rt* används.

Mer information finns i bipacksedeln till Abbott RealTime HCV-analys (listnr 4J86).

Aerosolkontaminering

Mer information finns i bipacksedeln till Abbott RealTime HCV-analys (listnr 4J86).

Kontaminering och hämning

Mer information finns i bipacksedeln till Abbott RealTime HCV-analys (listnr 4J86).

Kontaminering från den externa amplifierade produkten som innehåller deoxiuridin

Laboratorier som använder eller har använt HCV-amplifieringsanalyser som omfattar efter-PCR-behandling av den amplifierade produkten kan kontamineras av amplifierad produkt som innehåller deoxiuridin. Sådan kontaminering kan orsaka felaktiga resultat i Abbott RealTime HCV-analysen för DBS. I avsnittet **Övervakning av om kontaminering förekommer på laboratoriet** i bipacksedeln till Abbott RealTime HCV-analysen (listnr 4J86). När negativa kontroller är konstant reaktiva, eller där det är troligt att kontaminering med HCV-amplifierad produkt som innehåller deoxiuridin har skett, rekommenderar vi att laboratoriet använder en kontamineringskontrollprocedur med uracil-N-glykosylas (UNG) om dekontamineringen av laboratoriet inte lyckas.

FÖRVARINGSANVISNINGAR

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



- **Nya och delvis använda** Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Packs och flaskor med Internal Control (IC) måste förvaras vid -10 °C eller kallare när de inte används. Var noga med att separera den Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Pack som används från direktkontakt med prover, kalibratorer och kontroller.
- **Delvis använda** amplifieringsreagensförpackningar och interna kontroller måste förvaras vid -10 °C eller kallare, förslutna, i upprätt läge och skyddade från ljus efter användning första gången. Om de förvaras på det här sättet kan **delvis använda** amplifieringsreagensförpackningar med preparerad Master Mix användas en andra gång inom 14 dagar efter användning första gången. Interna kontroller kan också användas en andra gång inom 14 dagar efter att ha tinat, om de förvaras tillslutna vid -10 °C eller kallare. Efter två användningar ska delvis använda amplifieringsreagensförpackningar och interna kontroller kasseras. Datumet för användning en andra gång får inte vara efter utgångsdatumet för reagenset.

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



- Negativa och positiva kontroller för Abbott RealTime HCV måste förvaras vid -10 °C eller kallare.

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



- Abbott RealTime HCV Calibrator A och Calibrator B måste förvaras vid -10 °C eller kallare.

LEVERANSVILLKOR

Mer information finns i bipacksedeln till Abbott RealTime HCV-analys (listnr 4J86).

INDIKATION PÅ INSTABILITET ELLER FÖRSÄMRING AV REAGENS

Mer information finns i bipacksedeln till Abbott RealTime HCV-analys (listnr 4J86).

INSTRUMENTPROCEDUR

Tillämpningsfilen för Abbott RealTime HCV för DBS måste vara installerad på Abbott *m2000sp*- och Abbott *m2000rt*-systemen från Abbott RealTime HCV *m2000* ROW System Combined Application CD-ROM (listnr 1L69-040 eller högre) innan analysen utförs. Mer information om installation av tillämpningsfiler finns i avsnittet med användarinstruktioner i användarhandböckerna för Abbott *m2000sp* och Abbott *m2000rt*.

PROVTAGNING, FÖRVARING OCH TRANSPORT TILL TESTPLATSEN

Provtagning och -förvaring

- Använd fingerstick eller EDTA-helblod för att förbereda DBS. EDTA-helblod ska förvaras i kontrollerade temperaturförhållanden under förvaring och transport (2 till 8 °C i upp till 48 timmar eller vid en omgivningstemperatur på högst 30 °C i upp till 24 timmar).
- EDTA-helblod som samlas in i ett rör ska blandas noggrant genom att röret vänds försiktigt före placering av bloddroppar. Placera blodet på cirkelarna på 12 millimeter på Ahlstrom-Munktel TFN-papperskortet eller Whatman 903 och se till att hela cirkeln täcks. Vi rekommenderar att minst 70 µL blod (cirka 3 till 5 bloddroppar) används för varje cirkel för att säkerställa full täckning.
- Låt kortet lufttorka i rumstemperatur i minst 3 timmar. Förpacka varje kort i en förslutningsbar påse med torkmedelspaket (minst 2 till 3 torkmedelspaket).
- DBS-preparatkort kan förvaras under de förhållanden som anges i tabellen nedan före analysbehandlingen.

Förvaring av DBS-preparatkort

Förhållande	Längsta förvaringstid
2 °C till 30 °C i omgivningsluftfuktighet	18 veckor
≤ 37 °C i omgivningsluftfuktighet	12 veckor
≤ 45 °C i omgivningsluftfuktighet	8 veckor
≤ 38 °C i hög luftfuktighet (≤ 85 %)	4 veckor
-25 °C till -15 °C i omgivningsluftfuktighet	18 veckor
-70 °C eller kallare i omgivningsluftfuktighet	18 veckor

Provtransport

Transportera proverna enligt den rekommenderade förvaringstemperaturen och den tid som anges i avsnittet **Provtagning och -förvaring** ovan. För inrikes och internationella transporter ska proverna förpackas och märkas i enlighet med gällande statliga och internationella bestämmelser för transport av kliniska, diagnostiska eller biologiska prover.

ABBOTT REALTIME HCV-ANALYSPROCEDUR FÖR DBS

Nödvändigt material som inte tillhandahålls

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

För provberedningsområdet i Abbott m2000sp-instrumentet

- Abbott mSample Preparation System DBS Buffer Kit (listnr 09N02-001)
- Abbott m2000sp Instrument (listnr 9K14-01, 9K14-02)
- Abbott mSample Preparation System (4 × 24 beredningar) (listnr 04J70-24)
- Kalibrerade precisionspipetter som kan leverera 20 till 1 000 µL (Kalibrerade precisionspipetter som kan leverera < 20 µL kan krävas om UNG används.)
- Pipettspetsar med aerosolbarriär för 20 till 1 000 µL-pipetter (pipettspetsar med aerosolbarriär som kan leverera < 20 µL kan krävas om UNG används.)
- Vortex Mixer
- Master Mix Tube (listnr 04J71-80)
- Abbott 96-Deep-Well Plate (listnr 04J71-30)
- 5 mL Reaction Vessels (List No. 04J71-20)
- 200 mL Reagent Vessels (List No. 04J71-60)
- Abbott 96-Well Optical Reaction Plate (listnr 04J71-70)
- Abbott Optical Adhesive Covers (listnr 04J71-75)
- Abbott Adhesive Cover Applicators (listnr 9K32-01)
- Abbott Splash-Free Support Base (listnr 9K31-01)
- Abbott RealTime HCV m2000 ROW System Combined Application CD-ROM (listnr 1L69-040 eller högre)
- m2000 System 13mm DBS-PoS Set (listnr 09N03-001)
- 1.4 mL Micro Vial 15mm Caps (listnr 3N20-01), tillval
- Uracil N-Glycosylase (UNG)^a (listnr 6L87-02)

^a Om det behövs, enligt avsnittet **Kontaminering från den externa amplifierade produkten som innehåller deoxiuridin** i den här bruksanvisningen.

För Abbott m2000rt Instrument Amplification Area

- Abbott m2000rt Instrument (listnr 9K15-01)
- Abbott RealTime HCV m2000 ROW System Combined Application CD-ROM (listnr 1L69-040 eller högre)
- Abbott m2000rt Optical Calibration Kit (listnr 04J71-93)

Annat material

- Biologiskt säkerhetsskåp som är godkänt för arbete med smittförande material
- Förslutningsbar påse för DBS-kort
- Torkmedelspaket för DBS-kort
- Ahlstrom-Munktel TFN-papperskort och/eller Whatman 903
- Förslutningsbar plastpåse för kassering av 96-brunnars reaktionsplatta
- RNase-fritt vatten (Eppendorf eller motsvarande)^b
- 1,7 mL mikrocentrifugrör av molekylärbioologisk kvalitet (Dot Scientific, Inc. eller motsvarande)^b
- Cotton Tip Applicators (Puritan eller motsvarande)^b

^b**Obs! De här tre punkterna används för övervakning av om kontaminering förekommer på laboratoriet. Mer information finns i avsnittet KVALITETSKONTROLLPROCEDURER i bipacksedeln till Abbott RealTime HCV-analys (listnr 4J86).**

Försiktighetsåtgärder vid användning

- Läs anvisningarna i den här bruksanvisningen noggrant innan du bearbetar prover.
- Amplifieringsreagens och intern kontroll kan användas upp till två gånger, enligt beskrivningen i den här bruksanvisningen. Flaskorna för Abbott RealTime HCV Calibrators, Negative Control, Low Positive Control och High Positive Control är endast avsedda för engångsbruk och ska kasseras efter användning.

- Använd pipettspetsar med aerosolbarriär eller engångspipetter endast 1 gång vid pipettering av prover eller intern kontroll. Förhindra kontaminering av pipettcylindern vid pipettering genom att vara försiktig och se till att du inte vidrör pipettcylindern på insidan av provröret eller behållaren. Vi rekommenderar användning av pipettspetsar med förlängd aerosolbarriär.
- Övervakningsprocedurer för förekomst av amplifieringsprodukt finns i avsnittet **KVALITETSKONTROLLPROCEDURER**.
- För att minska risken för kontaminering av nukleinsyra tillsätter du ett tuberkulocidalt desinfektionsmedel, till exempel 1,0 % natriumhypoklorit eller annat lämpligt desinfektionsmedel, vid rengöring och desinficering efter spill från prover.
- Abbott RealTime HCV Calibrators och Controls måste beredas tillsammans med de prover som ska testas. Användning av Abbott RealTime HCV Calibrators och Controls är avgörande för prestanda för Abbott RealTime HCV-analys. Se avsnittet **KVALITETSKONTROLLPROCEDURER**.
- Abbott m2000sp Master Mix Addition-protokollet måste initieras inom 1 timme efter att provberedningen har slutförts.
- Om Abbott m2000sp Master Mix Addition-protokollet avbryts kasserar du de amplifieringsreagens som användes för andra gången. Nya reagensförpackningar som används för första gången kan sparas och förvaras för senare användning enligt beskrivningen i den här handboken.
- m2000rt-protokollet måste startas inom 50 minuter efter att Master Mix Addition-protokollet har initierats. Om Abbott m2000rt-instrumentkörningen inte initieras inom 50 minuter, eller avbryts, förseglar du Abbott 96-Well Optical Reaction Plate i en förslutningsbar plastpåse och kasserar den enligt anvisningarna i Abbott m2000rt-användarhandboken tillsammans med de handskar som användes för att hantera plattan.

VIKTIGT! Amplifieringsreagens som används en andra gång måste förvaras vid -10 °C eller kallare inom 50 minuter efter initiering av Master Mix Addition-protokollet.

ANALYSPROTOKOLL: DBS-PROVER MED ABBOTT m2000sp- OCH ABBOTT m2000rt-INSTRUMENT

En mer detaljerad beskrivning av hur du kör ett Abbott m2000sp- eller Abbott m2000rt-instrumentprotokoll finns i avsnittet med användarinstruktioner i användarhandböckerna till Abbott m2000sp och Abbott m2000rt. För DBS-protokollet krävs Abbott m2000sp Software Version 6.0 eller senare. Följ anvisningarna i användarhandboken för Abbott m2000sp (listnr 09K20, version 6 eller senare).

Totalt 96 prover kan bearbetas i varje körning. En negativ kontroll, en låg positiv kontroll och en hög positiv kontroll ingår i varje körning, vilket gör att maximalt 93 DBS-prover kan bearbetas per körning när kalibratorer inte ingår. Processkalibratorer och -kontroller direkt som flytande prover. Steg 1 till 5 är endast avsedda för DBS. Behandla inte plasma- eller serumprover i körningar där DBS-protokoll används. För varje DBS-prov ska ett enda Abbott Master Mix Tube användas för hela provbearbetningsproceduren. Se till att DBS-prover märks under hela bearbetningen.

1. Fyll Abbott Master Mix Tube med 1,3 mL mDBS-buffert från Abbott mSample Preparation System DBS Buffer Kit (listnr 09N02-001).
OBS! Använd inte mLysis Buffer eller några andra reagens i det här steget
2. Håll det perforerade DBS-kortet ovanför Abbott Master Mix Tube.
3. Tryck ut DBS-cirkeln från kortet med en ren pipettspets, 1 DBS-cirkel per Master Mix Tube. Varje DBS ska vara ungefär 12 millimeter i diameter.

OBS! ANVÄND EN NY PIPETTSPETS FÖR VARJE DBS-PROV FÖR ATT FÖRHINDRA KORSKONTAMINERING.

Alternativt använder du icke-perforerat DBS-papper och skär ut en hel DBS (6 mm i diameter) för varje prov och överför till ett Master Mix Tube.

OBS! Undvik direkt kontakt med skärytan med DBS-prover. Sanera det verktyg som används för att skära DBS mellan proverna vid behov, enligt god laboratoriepraxis.

4. Kontrollera att DBS-cirkeln är helt nedsänkt i mDBS Buffer genom att knacka på röret eller använda pipettspetsen för att trycka in DBS i bufferten.

OBS! Om en pipettspets används för att trycka in DBS i bufferten kontrollerar du att pipettspetsen inte orsakar förlust av DBS-buffertvolym på grund av vätskeinnslutning i spetsen och/eller absorption av bufferten från spetsfiltret.

- Skaka eller snurra provrören manuellt. Vortexblanda inte proverna. Inkubera i 30 minuter (± 2 minuter) vid omgivningstemperatur.
- Tina samtidigt analyskontroller och intern kontroll vid 15 °C till 30 °C eller vid 2 °C till 8 °C. Tina kalibratorer vid 15 °C till 30 °C eller vid 2 °C till 8 °C endast om du utför en kalibreringskörning.
OBS! När de har tinat kan analyskontroller, intern kontroll och kalibratorer förvaras vid 2 °C till 8 °C i upp till 24 timmar före användning.
- Vortexblanda varje analyskalibrator och varje kontroll tre gånger i två till tre sekunder före användning. Se till att innehållet i flaskorna är längst ned genom att knacka flaskorna mot bänken så att vätskan hamnar på flaskans botten. Se till att bubblor eller skum inte skapas. Om det gör det tar du bort bubblorna eller skummet med en steril pipettspets och använder en ny spets för varje flaska.
- Tina amplifieringsreagens vid 15 °C till 30 °C eller vid 2 °C till 8 °C och förvara det vid 2 °C till 8 °C tills det behövs för proceduren med amplifierings-Master Mix.
- Välj **nya** eller **delvis använda** amplifieringsreagensförpackningar som ska användas i körningen. Instruktioner om hantering av lager för amplifieringsreagensförpackningar finns i avsnittet med användarinstruktioner i Abbott *m2000sp* Operations Manual (listnr 09K20, version 6 eller senare). Amplifieringsreagensförpackningar måste ha sammapartinummer. Tina **nya** amplifieringsreagens vid 15 °C till 30 °C eller vid 2 °C till 8 °C och förvara dem vid 2 °C till 8 °C tills de behövs för proceduren med amplifierings-Master Mix.
OBS! När de nya amplifieringsreagensen har tinat kan de förvaras vid 2 °C till 8 °C i upp till 24 timmar om de inte används omedelbart. Delvis använda amplifieringsreagensförpackningar som används en andra gång ska INTE förvaras vid 2 °C till 8 °C före användning. De ska förvaras vid -10 °C eller kallare tills de behövs för Master Mix Addition. När de väl tas ut ur frysen får den ackumulerade rumstemperaturexponeringen inte överstiga 25 minuter, inklusive fall då förpackningar tas från lagret men inte används. Om 25 minuter överskrids kasserar du de delvis använda amplifieringsreagensförpackningarna.

I följande tabell visas det antal provberedningsreagens och flaskor med intern kontroll som behövs baserat på antalet reaktioner.

Krav för provberedningsreagens och intern kontroll				
Reagens	1 till 24 reaktioner	25 till 48 reaktioner	49 till 72 reaktioner	73 till 96 reaktioner
<i>m</i> Microparticles	1 flaska	2 flaskor	2 flaskor	2 flaskor
<i>m</i> Lysis	1 flaska	2 flaskor	3 flaskor	4 flaskor
<i>m</i> Wash 1	1 flaska	2 flaskor	3 flaskor	4 flaskor
<i>m</i> Wash 2	1 flaska	2 flaskor	3 flaskor	4 flaskor
<i>m</i> Elution Buffer	1 flaska	2 flaskor	3 flaskor	4 flaskor
Intern kontroll ^a	1 ny flaska eller 1 delvis använd flaska	1 ny flaska eller 2 delvis använda flaskor	2 nya flaskor eller 3 delvis använda flaskor	2 nya flaskor eller 4 delvis använda flaskor

^aEn kombination av nya och delvis använda flaskor med intern kontroll kan användas.

- Vänd försiktigt på Abbott*m*Sample Preparation-flaskorna för att säkerställa en homogen lösning. Om kristaller observeras i någon av reagensflaskorna när de öppnas låter du reagenset nå jämvikt vid rumstemperatur tills kristallerna försvinner. Använd inte reagensen förrän kristallerna har lösts upp.
- Vortexblanda varje intern kontroll tre gånger i två till tre sekunder före användning.
- Använd en kalibrerad precisionspipett som är **SÄRSKILT AVSEDD FÖR ANVÄNDNING AV INTERN KONTROLL** för att tillsätta 500 µL intern kontroll i alla flaskor med *m*Lysis Buffer. Blanda genom att försiktigt vända behållaren fem till tio gånger för att minimera skumbildning. Delvis använda flaskor med intern kontroll kan förslutas och förvaras vid -10 °C eller kallare för användning en andra gång.
- Placera de låga och höga positiva kontrollerna, den negativa kontrollen och kalibratorerna, om tillämpligt, i Abbott *m2000sp*-provcrack.

- När inkubationen är klar skakar du eller snurrar på DBS-provrören manuellt och placerar dem sedan i Abbott *m2000sp*-provcrack.
OBS! Se till att Abbott *m2000sp*-provcrack har kalibrerats specifikt för Abbott RealTime HCV-proceduren för DBS.
- Sätt in provcrack försiktigt för att undvika stänk. Om streckkoder används måste streckkoderna på rötetiketterna vara riktade åt höger för skanning. Se till att alla rör sitter ordentligt på plats i provcrack, så att rörets botten når botten på rackets insida.
- Sätt in fyllda provrack i Abbott*m2000sp* i provrackpositioner i följd, med det första racket längst till höger på arbetsbordet och eventuella ytterligare rack i följd till vänster om det första racket.
- Placera de 5 mL reaktionskärlen i 1 mL delysystemshållaren i Abbott *m2000sp*.
- Sätt in Abbott *m*Sample Preparation System-reagenser och Abbott 96 Deep-Well Plate på Abbott *m2000sp*-arbetsbordet, enligt beskrivningen i avsnittet med användarinstruktioner i användarhandboken till Abbott *m2000sp*.
- Från protokollskärmen väljer du tillämpningsfilen för HCV RNA DBS. Initiera provextraktionsprotokollet enligt beskrivningen i avsnittet med användarinstruktioner i användarhandboken för Abbott *m2000sp*.
- Ange kalibrator (krävs om en kalibreringskurva inte har lagrats i Abbott *m2000rt*) och kontrollera partispecifika värden i fälten för provextraktion: Worktable Setup (arbetsbordskonfiguration), Calibrator (kalibrator) och Control (kontroll). Partispecifika värden anges på informationsbladen till Abbott RealTime HCV Calibrator och Control Kit Card.
- Abbott *m2000sp* Master Mix Addition-protokollet (steg 28) måste initieras inom 1 timme efter att provberedningen har slutförts.
OBS! Byt handskar innan du hanterar amplifieringsreagens.
- Sätt in amplifieringsreagensen och Master Mix Tube (vid behov) på Abbott *m 2000 sp*-arbetsbordet efter att provberedningen är klar. I följande tabell visas det antal amplifieringsreagensförpackningar som behövs baserat på antalet reaktioner. Om endast ett amplifieringsreagensförpackning används behövs inget Master Mix Tube.

Krav för Amplification Reagent Pack

1 till 24 reaktioner	25 till 48 reaktioner	49 till 72 reaktioner	73 till 96 reaktioner
1 om den är ny , upp till 4 med delvis använda förpackningar	2 om de är nya , upp till 4 med delvis använda förpackningar	3 om de är nya , upp till 4 med delvis använda förpackningar	4 nya eller delvis använda förpackningar

^a Instruktioner gällande lagerhållning och hur du tar reda på det maximala antal reaktioner som kan testas med de valda delvis använda förpackningarna finns i användarhandboken för Abbott *m2000sp* (listnr 09K20, version 6 eller senare).

- Delvis använda amplifieringsreagensförpackningar kan endast användas på samma Abbott *m2000sp*-instrument som används för den första beredningen av reagensförpackningen. Om du använder en amplifieringsreagensförpackning en andra gång på ett annat instrument leder det till att ett fel inträffar, vilket kan fördröja körningen.
- Delvis använda och nya amplifieringsreagensförpackningar kan användas tillsammans.

VIKTIGT! Delvis använda amplifieringsreagensförpackningar ska förvaras vid -10 °C eller kallare till omedelbart före användning en andra gång. Kontrollera att Master Mix har tinat innan du placerar delvis använda förpackningar på Abbott *m2000sp*-arbetsbordet. När amplifieringsreagensförpackningar som ska användas en andra gång har tagits ut från förvaring vid -10 °C eller kallare måste de användas inom 25 minuter eller kasseras. Det här gäller ackumulerade rumstemperaturexponering, inklusive fall då förpackningar tas från lagret men inte används.

- Se till att innehållet i de nya amplifieringsreagensförpackningarna är längst ned i flaskorna innan du öppnar amplifieringsreagensen genom att knacka flaskorna i upprätt läge mot bänken fem till tio gånger.
- Knacka inte på delvis använda amplifieringsreagensförpackningar som ska användas en andra gång. Om du knackar på det kan det leda till att Master Mix-volymer fastnar i locket och går förlorad.

24. Ta bort locken. Om en ny amplifieringsreagensförpackning ska förvaras för användning en andra gång måste flaskorna förslutas för förvaring. Om du planerar att återanvända originallocken för att återförsluta reagensflaskorna sparar du de ursprungliga locken. Om du planerar att använda nya lock för att återförsluta reagensflaskorna kan originallocken kasseras.

Om uracil-N-glykosylas (UNG) används för kontamineringskontroll följer du instruktionerna nedan.

25. Använd EN PIPETT SOM ENDAST ÄR AVSEDD FÖR REAGENSANVÄNDNING för att tillsätta angiven volym på 1 U/μL UNG (listnr 6L87-02) i reagensflaskan på position 3 för nya och delvis använda amplifieringsreagensförpackningar. Blanda manuellt genom att pipettera försiktigt uppåt och nedåt för alla delvis använda förpackningar. Blanda inte nya förpackningar.
- Använd tabellen nedan för att bestämma den UNG-volym som ska tillsättas reagensflaskan på position 3 för nya och delvis använda amplifieringsreagensförpackningar. Reagensflaskan på position 3 för en ny reagensförpackning innehåller det termotabila rTth-polymerasenzymet. Reagensflaskan på position 3 för en delvis använd reagensförpackning innehåller Master Mix.

UNG-volym som ska tillsättas reagensflaskan på position 3 för alla amplifieringsreagensförpackningar	
Test som återstår i förpackningen	Tillsatt den här UNG-volymen (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 förpackning)	27

OBS! Den UNG-volym som tillsätts reagensflaskan på position 3 beror på antalet återstående tester i reagensförpackningen, inte det antal prover som körs. I användarhandboken för Abbott *m2000sp* finns instruktioner om lagerhållning av amplifieringsreagensförpackningar och hur du avgör hur många tester som återstår i en reagensförpackning.

26. Delvis använda amplifieringsförpackningar sätts i till vänster om nya amplifieringsreagensförpackningar på Abbott *m2000sp*-arbetsbordet.
27. Se till att amplifieringsreagensförpackningarna sitter ordentligt på plats i instrumentet.
28. Välj lämplig djupbrunnsplatta som överensstämmer med motsvarande provberedningsextraktion. Initiera Abbott *m2000sp* Master Mix Addition-protokollet. Följ instruktionerna i avsnittet för användarinstruktioner i Abbott *m2000sp* Operations Manual.
- OBS!** Användaren ska inte manuellt fylla tomma/ofyllda brunnar i Abbott 96-Well Optical Reaction Plate.

- När provextraktionen är klar fyller Abbott *m2000sp* automatiskt alla tomma brunnar i Abbott 96-Well Optical Reaction Plate med *mElution*-buffert när det finns fler än 48 prover som bearbetats i en körning. Plattfyllning utförs inte för körningar som innehåller högst 48 prover.
- Om du uppmanas till det av instrumentet lämnar du kvar Reagent Carrier 2 och den ska åtminstone innehålla reagenskärlet för *mElution* Buffer (Reagent Carrier 2, position 6). Om det reagenskärlet har tagits ur instrumentet placerar du ett nytt reagenskärlet med etiketten *mElution* Buffer i Reagent Carrier 2, position 6. Systemvätska fylls på i reagenskärlet och används för påfyllning av tomma brunnar. När processen är klar fortsätter systemet med Master Mix Addition.

OBS! Systeminstruktioner för användning av den automatiska funktionen för påfyllning av plattor finns i avsnitt 5, Operating Instructions (användarinstruktioner), Sample Extraction-Closed Mode (provextraktion – stängt läge) i användarhandboken för Abbott *m2000sp* (listnr 09K20, version 6 eller senare).

- Abbott *m2000rt*-protokollet (steg 33) måste startas inom 50 minuter efter att Master Mix Addition-protokollet (steg 28) har initierats.

OBS! Om körningen avbryts av någon anledning efter steg 28 måste en ny Abbott 96-Well Optical Reaction Plate användas för att Abbott *m2000sp* Master Mix Addition-protokollet (steg 28) ska upprepas.

29. Slå på och initiera Abbott *m2000rt*-instrumentet i amplifieringsområdet.
- OBS! 15 minuters uppvärmning krävs för Abbott *m2000rt*.**
- OBS! Ta av handskarna innan du återvänder till provberedningsområdet.**
30. Försegla Abbott 96-Well Optical Reaction Plate när Abbott *m2000sp*-instrumentet har slutfört tillsats av prover och Master Mix enligt beskrivningen i avsnittet med användarinstruktioner i användarhandboken till Abbott *m2000sp*.
31. Placera den förseglade optiska reaktionsplattan i Abbott Splash-Free Support Base för överföring till Abbott *m2000rt*-instrumentet.
- Om uracil-N-glykosylas (UNG) används följer du instruktionerna nedan:**
32. Överför den förseglade optiska plattan till Abbott Splash-Free Support Base och inkubera vid rumstemperatur (15 °C till 30 °C) i 10 minuter. Efter inkubation i rumstemperatur överför du Abbott 96-Well Optical Reaction Plate på Abbott Splash-Free Support Base till Abbott *m2000rt*-instrumentet.
33. Placera Abbott 96-Well Optical Reaction Plate i Abbott *m2000rt*-instrumentet. Från protokollskärmen väljer du tillämpningsfilen för HCV RNA DBS. Initiera protokollet enligt beskrivningen i avsnittet för användarinstruktioner i användarhandboken för Abbott *m2000sp*.
- OBS! Testorderöverföring via cd-skiva eller nätverksanslutning med export- och importfunktioner i *m2000sp* - och *m2000rt*-programvaran rekommenderas. Om du skapar Abbott *m2000rt*-testordern manuellt anger du prov-ID:n på motsvarande PCR-plattor enligt rutnätet "Wells for Selected Plate" (brunnar för vald platta) som visas på skärmen "PCR Plate Results" (resultat för PCR-plattor) på Abbott *m2000sp*. Se avsnitt 5 i användarhandboken för Abbott *m2000sp*.**

34. Om en preparerad delvis använd amplifieringsreagensförpackning ska användas en andra gång försluter du de tre reagensflaskorna med de sparade locken eller ny lock (listnr 3N20-01) och placerar reagenserna omedelbart på en förvaringsplats med en temperatur på -10 °C eller kallare, skyddade från ljus och i upprätt position. Kassera alla amplifieringsreagensförpackningar som är förbrukade eller som har använts två gånger.

VIKTIGT! Amplifieringsreagens som används en andra gång måste förvaras vid -10 °C eller kallare inom 50 minuter efter initiering av Master Mix Addition-protokollet.

EFTERBEARBETNINGSPROCEDURER

1. Ta bort Abbott 96 Deep-Well Plate från arbetsbordet och kassera den enligt anvisningarna i Abbott *m2000sp* Operations Manual.
2. Placera Abbott 96-Well Optical Reaction Plate i en förslutningsbar plastpåse och kassera den enligt anvisningarna i Abbott *m2000rt*-användarhandboken tillsammans med de handskar som användes för att hantera plattan.
3. Rengör Abbott Splash-Free Support Base före nästa användning enligt anvisningarna i användarhandboken för Abbott *m2000rt*.

KVALITETSKONTROLLPROCEDURER

Abbott *m2000rt* Optical Calibration

Mer information finns i bipacksedeln till Abbott RealTime HCV-analys (listnr 4J86).

Analyskalibrering

Mer information finns i bipacksedeln till Abbott RealTime HCV-analys (listnr 4J86).

För DBS-testning med *m2000sp* och *m2000rt*: När en Abbott RealTime HCV-kalibrering har godkänts och lagrats kan den användas i sex månader. Under den här tiden kan alla efterföljande prover testas utan ytterligare kalibrering om inte:

- en Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit med ett nytt partinummer används,
- ett Abbott *mSample* Preparation System (4 x 24 beredningar) med ett nytt partinummer används,
- en ny tillämpningsfil för Abbott RealTime HCV RNA DBS är installerad.

Detektering av hämning

Mer information finns i bipacksedeln till Abbott RealTime HCV-analys (listnr 4J86).

Negativa och positiva kontroller

Mer information finns i bipacksedeln till Abbott RealTime HCV-analys (listnr 4J86).

Övervakning av om kontaminering förekommer på laboratoriet

Mer information finns i bipacksedeln till Abbott RealTime HCV-analys (listnr 4J86).

RESULTAT FÖR DBS-PROVER

Det rapporterade DBS-provkoncentrationsresultatet från *m2000rt* DBS-protokollkörningen motsvarar HCV-viruskoncentrationen i plasman från det helblodsprov från vilket DBS-provet erhålls. Abbott *m2000rt*-instrumentet rapporterar automatiskt resultatet på Abbott *m2000rt*-arbetsstationen. Analysresultatet kan rapporteras i International Units IU/mL eller Log IU/mL.

Tolkning av resultat

Resultat	Tolkning
Not Detected (ej detekterat)	Målet har inte detekterats
< 2,66 Log IU/mL ^a	Detekterat
2,66 till 8,00 Log IU/mL	
> 8,00 Log IU/mL	> ULQ ^b

^a 462 IU/mL

^b ULQ = Upper Limit Of Quantitation (övre kvantifieringsgräns)

PROCEDURENS BEGRÄNSNINGAR

- **FÖR DIAGNOSTISK ANVÄNDNING IN VITRO**
- Optimala prestanda för det här testet kräver korrekt provtagning, förvaring och transport till testplatsen (mer information finns i avsnittet **PROVTAGNING, FÖRVARING OCH TRANSPORT TILL TESTPLATSEN** i den här bipacksedeln).
- Helblodsprover som tas i EDTA-rör kan användas för att generera DBS som testas med Abbott RealTime HCV-analys för DBS. Användning av andra antikoagulanter har inte validerats med Abbott RealTime HCV-analys för DBS.
- Användning av Abbott RealTime HCV-analys för DBS är begränsad till personal som har utbildats i procedurer för DBS-beredning och -förbearbetning, molekylär diagnostisk analys och Abbott *m2000*-systemet.
- Instrumenten och analysprocedurerna minskar risken för kontaminering med amplifieringsprodukt. Nukleinsyrakontaminering från kalibratorer, positiva kontroller eller prover måste dock kontrolleras enligt god laboratoriepraxis och de procedurer som anges i denna bipacksedel måste följas noggrant.

- Som med alla diagnostiska tester ska resultat från Abbott RealTime HCV-analys för DBS tolkas tillsammans med andra kliniska resultat och laboratoriefynd. Ett prov med resultatet "Not Detected" (ej detekterat) kan inte antas vara negativt för HCV RNA.
- Felaktig insamling, torkning, förvaring eller hantering av DBS-kort kan leda till felaktiga testresultat.
- Ahlstrom-Munktel TFN- eller Whatman 903 DBS-kort kan användas. Användning av andra kort har inte validerats med Abbott RealTime HCV-analys.

SPECIFIKA PRESTANDAEGENSKAPER FÖR DB-PROVER

Detekteringsgräns (LOD, Limit of Detection)

LOD för Abbott RealTime HCV-analys är 462 IU/mL med DBS-provtypen. LOD fastställdes genom testning av DBS-prover som bereddades med en spädningsserie enligt WHO:s internationella standard för RNA för hepatit C-virus utspädd i HCV-negativt helblod. Testning av varje HCV RNA-koncentration utfördes med fyra satser med amplifieringsreagens under tre dagar. Resultatet som är representativt för prestanda vad gäller analytisk känslighet för Abbott RealTime HCV-analys för DBS sammanfattas i **tabell 1**.

Tabell 1. Abbott RealTime HCV för DBS – detekteringsgräns (LOD, Limit of Detection)

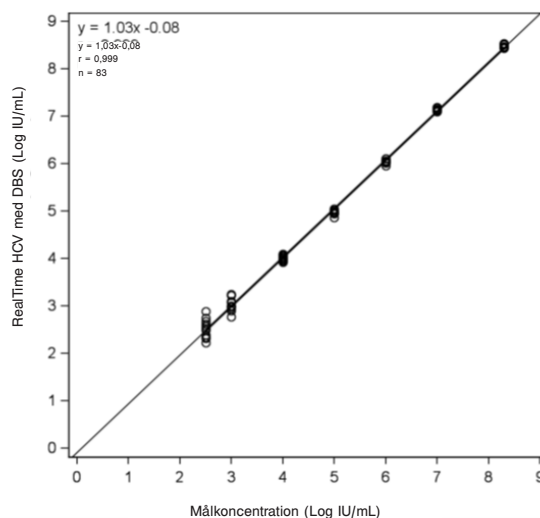
HCV RNA (IU/mL)	Antal testade	Antal detekterade	Procent detekterade
500	84	83	99
400	84	80	95
350	84	75	89
300	84	73	87
150	84	54	64
50	84	26	31

Vid probit-analys av data fastställdes att den koncentration av HCV RNA som detekterades från torkade blodproppar (DBS) med 95 % sannolikhet var 462 IU/mL (95 % CI 381 till 593 IU/mL).

Linjärt intervall

Den övre kvantifieringsgränsen (ULQ) för Abbott RealTime HCV-analys är 100 miljoner IU/mL och den nedre kvantifieringsgränsen motsvarar LOD (462 IU/mL) för DBS-angivelsen. En DBS-panel med sju medlemmar bereddades med Armored RNA (aRNA) för HCV utspädd till koncentrationer från 200 miljoner IU/mL till 316 IU/mL i HCV-negativt helblod. Resultatet som är representativt för Abbott RealTime HCV-analyslinjäritet för DBS visas i **bild 1**.

Bild 1 Abbott RealTime HCV-analys för DBS – linjäritet



Abbott RealTime HCV-analys för DBS har visat sig vara linjär över intervallet av testade HCV RNA-koncentrationer (316 till 200 miljoner IU/mL, 2,5 till 8,3 Log IU/mL).

Specificitet

Målspecificiteten för Abbott RealTime HCV-analys för DBS är större än eller lika med 99,5 %. Specificiteten bestämdes genom analys av 119 HCV-seronegativa prover, i två partier med amplifieringsreagens. Den totala specificiteten var 100 % (119/119).

Precision

Precisionen utvärderades genom testning av en DBS-panel med 6 medlemmar med målet att täcka HCV RNA-koncentrationsintervallet från 316 IU/mL till 200 miljoner IU/mL. Panelmedlemmar med koncentrationer under 5 Log IU/mL (100 000 IU/mL) bereddes med HCV-positiva kliniska prover utspädda i HCV-negativt helblod, medan panelmedlemmar med koncentrationer över 5 Log IU/mL (100 000 IU/mL) bereddes med Armored RNA (aRNA) för HCV utspädd i HCV-negativt helblod. Varje panelmedlem testades i fem replikat en gång om dagen i fem dagar, på tre *m2000sp/rt*-par med tre amplifieringsreagenspartier. Standardavvikelser (SD) fastställdes inom körning, mellan körningar och mellan analyser (inom körning och mellan körningar). Abbott RealTime HCV-analys för DBS har utformats för att uppnå en standardavvikelse (SD) mellan analyser på mindre än eller lika med 0,25 Log IU/mL HCV RNA för prover som innehåller HCV-koncentrationer från 10 000 till 100 miljoner IU/mL. Resultatet som är representativt för precisionen för Abbott RealTime HCV-analys för DBS sammanfattas i **tabell 2**.

Tabell 2. Abbott RealTime HCV-analys för DBS – precision

Panelmedlem	N	Medelkoncentration (IU/mL)	Medelkoncentration (Log IU/mL)	Komponent-SD inom körning ^{a,e}	Komponent-SD mellan körningar ^a	SD mellan analyser ^{a,b}	Komponent-SD mellan partier/instrument ^a	Totalt ^{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 Standardavvikelser (SD) anges i Log IU/mL.

^b Mellan analyser innehåller komponenter inom körning och mellan körningar.

^c Totalt inkluderar komponenter inom körning, mellan körningar, och mellan partier/instrument.

^d Medelkoncentrationen för panelmedlem 1 ligger under LOD. Precisionsuppskattningarna baseras på de replikat som kvantifieras.

^e SD för inom körning inom kort kallas även repeterbarhet. Total SD kallas även reproducerbarhet.

Repeterbarhet och reproducerbarhet för panelmedlem 1 (nära LLOQ) var 0,26 Log IU/mL respektive 0,27 Log IU/mL och för panelmedlem 2 (nära LLOQ) 0,23 Log IU/mL respektive 0,25 Log IU/mL. Repeterbarhet och reproducerbarhet för panelmedlem 5 (nära ULOQ) var 0,12 Log IU/mL respektive 0,14 Log IU/mL och för panelmedlem 6 (nära ULOQ) var 0,04 Log IU/mL respektive 0,07 Log IU/mL.

Korrelation

HCV RNA-quantifiering jämfördes mellan Abbott RealTime HCV-analys med torkade bloddroppar och den CE-märkta jämförelseanalysen, med Abbott RealTime HCV-testning med humant plasma. Plasma- och DBS-prover från totalt 346 försökspersoner (insamlade och testade i Georgia, Kamerun och Grekland) ingick i analysen. Både DBS som beretts från venöst blod och DBS som beretts från kapillärblood (fingerstick) testades med Abbott RealTime HCV-analys för DBS. De kvantitativa resultaten från prover som föll inom analysernas dynamiska intervall analyserades med minstakvadratmetoden för linjär regression och Bland-Altman bias-metoden (DBS kapillärt jämfört med plasma N=346, DBS venöst jämfört med plasma N=346 och DBS kapillärt jämfört med DBS venöst N=345). För korrelationen mellan DBS kapillärt och plasma var korrelationskoefficienten 0,843, lutningen 0,91 (95 % CI 0,85 till 0,97) och intercepten var 0,48 Log IU/mL (95 % CI 0,12 till 0,84) (**bild 2**). För korrelationen mellan DBS venöst och plasma var korrelationskoefficienten 0,840, lutningen 0,94 (95 % CI 0,88 till 1,00) och intercepten 0,31 Log IU/mL (95 % CI -0,07 till 0,69) (**bild 3**). För korrelationen mellan DBS kapillärt och DBS venöst var korrelationskoefficienten 0,943, lutningen 0,91 (95 % CI 0,87 till 0,94) och intercepten var 0,53 Log IU/mL (95 % CI 0,33 till 0,72) (**bild 4**). Dessutom visas Bland-Altman-kurvor för samma jämförelser i **bild 5**, **bild 6** och **bild 7**. Den genomsnittliga bias-skillnaden mellan DBS kapillärt och plasma var -0,05 Log IU/mL. Den genomsnittliga bias-skillnaden mellan DBS venöst och plasma var -0,04 Log IU/mL. Den genomsnittliga bias-skillnaden mellan DBS kapillärt och DBS venöst var -0,02 Log IU/mL.

Förväntad bias mellan DBS kapillärt och plasma utvärderades på målnivåerna LLOQ och ULOQ. Dessutom utvärderades förväntad bias mellan DBS venöst och plasma på målnivåerna LLOQ och ULOQ. I **tabell 3** finns en sammanfattning av förväntad bias.

Tabell 3. Förväntad bias mellan DBS (kapillärt eller venöst) och plasma vid LLOQ och ULOQ

Jämförelse	Nivå	Målnivå för virusbelastning (Log IU/mL)	Förväntad bias (Log IU/mL)
DBS kapillärt jämfört med plasma	LLOQ	2,66	0,24
	ULOQ	8,00	-0,26
DBS venöst jämfört med plasma	LLOQ	2,66	0,15
	ULOQ	8,00	-0,17

Bild 2. DBS kapillärt och plasma

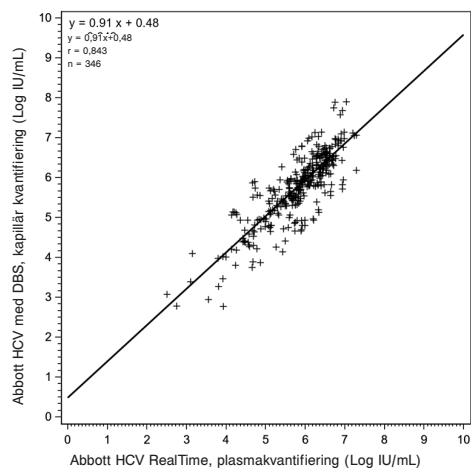


Bild 5. DBS kapillärt jämfört med plasma

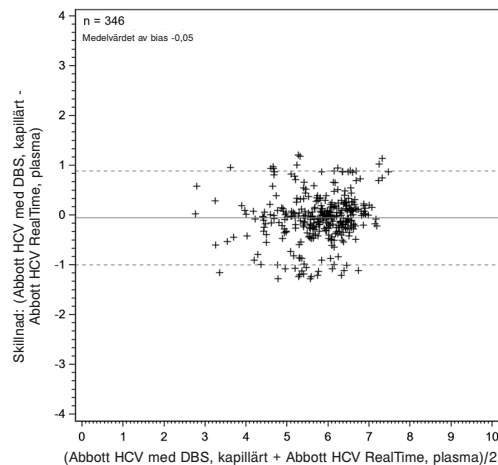


Bild 3. DBS venöst och plasma

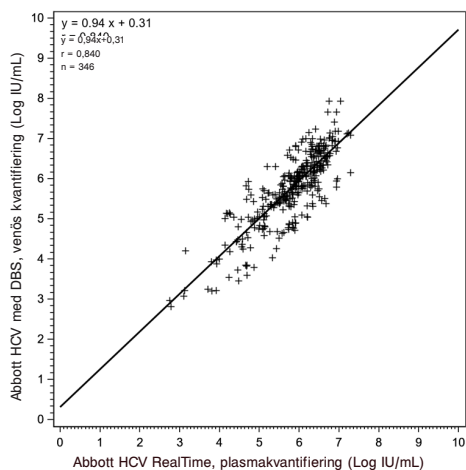


Bild 6. DBS venöst jämfört med plasma

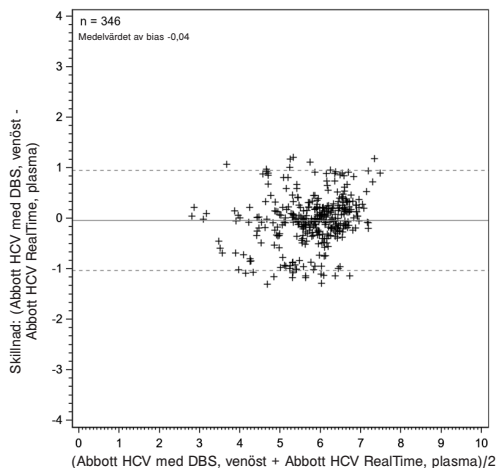


Bild 4. DBS kapillärt och DBS venöst

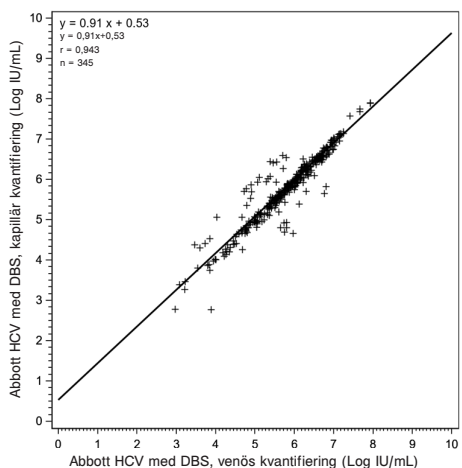
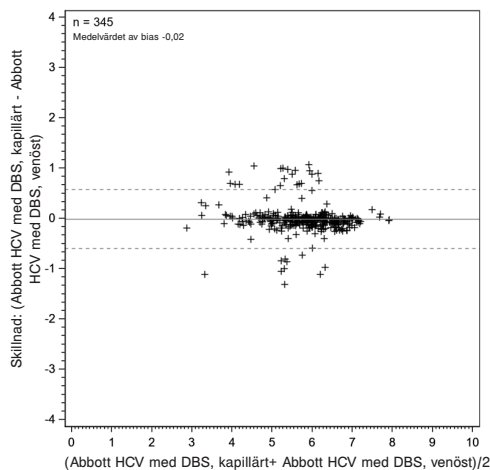


Bild 7. DBS kapillärt jämfört med DBS venöst



REFERENSER

1. Gower E, Estes C, Blach S, et al. Global epidemiology and genotype distribution of the hepatitis C virus infection. *J Hepatol*. 2014; 61(1):S45-S57.
2. World Health Organization Updated Version April 2016: Guidelines for the screening, care and treatment of persons with hepatitis C infection. <http://www.who.int/hepatitis/publications/hepatitis-c-guidelines-2016/en/>.
3. AASLID/IDSA Recommendations for testing, managing and treating hepatitis C, revised April, 2017. www.hcvguidelines.org.
4. European Association of the Study of the Liver. Recommendation on Treatment of Hepatitis C 2018. *J. Hepatology* (2018).
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;39:1363-75.
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. *N Engl J Med* 1998;339(21):1493-9.
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):958-65.
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):975-82.
9. Hadziyannis SJ, Sette H Jr., Morgan TR, et al. Peginterferon-[alpha]2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose. *Ann Intern Med* 2004;140(5):346-55.
10. Orlent H, Deltenre P, Francque S, et al. Update of the Belgian Association for the Study of Liver Guidelines for the Treatment of Chronic Hepatitis C Genotype 1 with Protease Inhibitors. *Acta Gastro-Enterologica Belgica* 2012;LXXV:245-259.
11. Halfon P, Bourliere M, Penaranda G, Khiri H, and OuzinD. Real-time PCR assays for hepatitis C virus (HCV) RNA quantitation are adequate for clinical management of patients with chronic HCV infection. *J. Clin Microbiology* 2006;44(7): 2507-2511.
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):1611-8.
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):41-5.
14. WHO guidelines on hepatitis B and C testing. Geneva: World Health Organization; 2017.
15. Saldanha J, Heath A., 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 Sanguinis* 2005 Apr; 88 (3):202-204.

TEKNISK HJÄLP

Om du behöver teknisk hjälp ringer du Abbott Molecular Technical Services på 1-800-553-7042 (i USA) eller +49-6122-580 (utanför USA) eller besöker Abbotts Molecular-webbplatsen på www.molymolecular.abbott/portal.

Abbott RealTime HCV importeras till EU av Abbott Diagnostics GmbH, som finns på Max-Planck- Ring 2, 65205 Wiesbaden, Tyskland



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



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

© 2020 Abbott. Med ensamrätt.

www.abbottmolecular.com

51-608440/R1

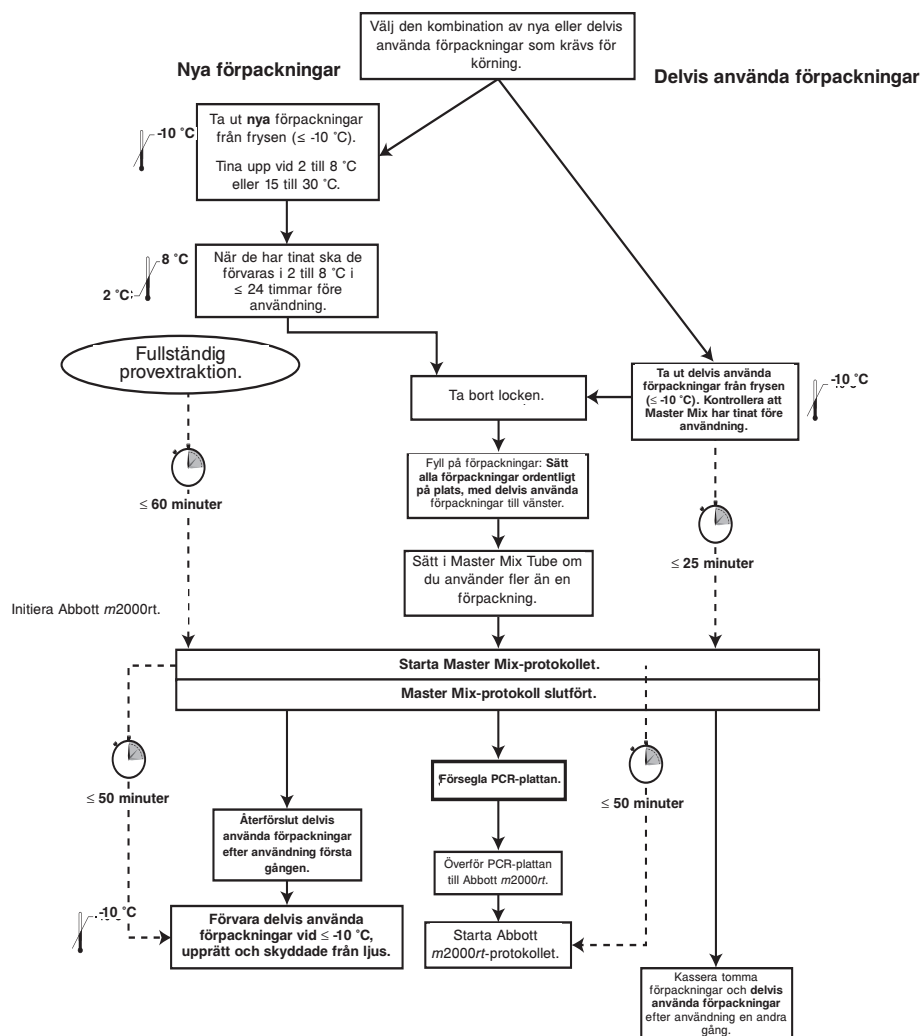
Juli 2020

BILAGA 1. ÖVERSIKT ÖVER ABBOTT REALTIME HCV AMPLIFICATION REAGENT-FUNKTIONEN FÖR UTÖKAD ANVÄNDNING

Med funktionen för utökad användning av amplifieringsreagens kan en amplifieringsreagensförpackning och en intern kontroll användas totalt två gånger. Amplifieringsreagensförpackningar som ännu inte har använts för att bereda Master Mix kallas för **nya** amplifieringsreagensförpackningar. Amplifieringsreagensförpackningar som har använts en gång och innehåller preparerad Master Mix kallas för **delvis använda** amplifieringsreagensförpackningar. Mer information finns i instruktionerna i den här handboken.

Förvaringsförhållanden ((Amplification Reagent Pack och flaskor med intern kontroll))		
Förpackningstyp	Förvaringstemperatur	Förvaringstid
Nya förpackningar	-10 °C eller kallare	Utgångsdatum visas på etiketten
Ny intern kontroll	-10 °C eller kallare	Utgångsdatum visas på etiketten
Delvis använda förpackningar	-10 °C eller kallare (skyddad från ljus)	Upp till 14 dagar efter användning första gången
Delvis använd intern kontroll	-10 °C eller kallare	Upp till 14 dagar efter användning första gången

- Om UNG används för kontamineringskontroll går du till steg 25 och 32 i analysprotokollet för att få specifika instruktioner.



- Amplifieringsreagensförpackningar som är lämpliga för långvarig användning måste ha ett sexsiffrigt serienummer ovanför streckkoden.
- Delvis använda** amplifieringsreagensförpackningar kan endast användas en andra gång på samma instrument som de används på första gången. Om du använder dem på ett annat instrument genereras ett bearbetningsfel som kan fördröja körningen.
- Delvis använda** och **nya** amplifieringsreagensförpackningar kan användas tillsammans. Alla amplifieringsreagensförpackningar som används i instrumentet för en körning måste ha samma partinummer.

Abbott RealTime HCV

Συμπληρωματικές οδηγίες για δείγμα αποξηραμένων κηλίδων αίματος (DBS)

el

REF 04J86-010

51-608440/R1

GTIN

REF

04J86-010

IVD

51-608440/R1

Επεξήγηση των χρησιμοποιούμενων συμβόλων

GTIN

Διεθνής Κωδικός Μονάδων Εμπορίας

REF

Αριθμός αναφοράς

IVD

In vitro διαγνωστικό ιατροτεχνολογικό προϊόν



Μέγιστος επιτρεπόμενος χρόνος



Ανώτερο όριο θερμοκρασίας



Όριο θερμοκρασίας

EC REP

Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα



Κατασκευαστής

ΔΙΕΘΝΗΣ ΕΞΥΠΗΡΕΤΗΣΗ ΠΕΛΑΤΩΝ: ΚΑΛΕΣΤΕ ΤΟΝ ΑΝΤΙΠΡΟΣΩΠΟ ΤΗΣ ABBOTT

Διαβάστε προσεκτικά το ένθετο συσκευασίας πριν από τη χρήση. Ακολουθείτε πιστά τις οδηγίες που παρέχονται στο ένθετο συσκευασίας. Η αξιοπιστία των αποτελεσμάτων της δοκιμασίας δεν μπορεί να διασφαλιστεί σε περίπτωση αποκλίσεων από τις οδηγίες που παρέχονται στο παρόν ένθετο συσκευασίας.

Οι παρούσες οδηγίες χρήσης αποτελούν συμπληρωματικές οδηγίες στο ένθετο συσκευασίας της δοκιμασίας Abbott RealTime HCV (Αρ. Καταλόγου 4J86), συγκεκριμένα για τύπο δείγματος αποξηραμένων κηλίδων αίματος (DBS).

ΕΙΔΟΠΟΙΗΣΗ ΠΡΟΣ ΤΟΝ ΧΡΗΣΤΗ

Σε περίπτωση σοβαρού συμβάντος σε σχέση με την παρούσα συσκευή, το περιστατικό θα πρέπει να αναφέρεται στον κατασκευαστή και στην κατάλληλη αρμόδια αρχή του κράτους μέλους στο οποίο είναι εγκατεστημένος ο χρήστης ή/και ο ασθενής. Για αναφορά στον κατασκευαστή, ανατρέξτε στις πληροφορίες επικοινωνίας που παρέχονται στην ενότητα τεχνικής βοήθειας αυτών των οδηγιών.

ΟΝΟΜΑΣΙΑ

Abbott RealTime HCV

ΠΡΟΒΛΕΠΟΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ ΓΙΑ DBS

Η δοκιμασία Abbott RealTime HCV αποτελεί μια in vitro δοκιμασία ανάλυσης 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 δοκιμασία Abbott RealTime HCV προορίζεται για χρήση ως βοήθημα στην αντιμετώπιση ασθενών που έχουν προσβληθεί από HCV και υποβάλλονται σε αντι-ική θεραπεία. Η δοκιμασία Abbott RealTime HCV δεν προορίζεται για χρήση ως προκαταρκτικός έλεγχος 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

Οι προοριζόμενοι χρήστες για τη δοκιμασία Abbott RealTime HCV είναι επαγγελματίες εργαστηρίων και επαγγελματίες του τομέα υγειονομικής περίθαλψης.

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 έλλειψη 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 ικού 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 δοκιμασία Abbott RealTime HCV για DBS χρησιμοποιεί την τεχνολογία ανάλυσης 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 δοκιμασία 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 δοκιμασία Abbott RealTime HCV για DBS απαιτούνται 3 kit αντιδραστηρίων:

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

Η δοκιμασία Abbott RealTime HCV για DBS χρησιμοποιεί τη μέθοδο RT-PCR για να προκύψει το ενισχυμένο προϊόν από το γονιδίωμα RNA του HCV σε ανθρώπινα δείγματα DBS. Τα βήματα της δοκιμασίας 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 m2000sp. Μετά την προαναλυτική επεξεργασία DBS, όλα τα επόμενα βήματα εκτελούνται αυτόματα από τα συστήματα m2000sp και m2000rt. Ανατρέξτε στο ένθετο συσκευασίας της δοκιμασίας Abbott RealTime HCV (Αρ. καταλόγου 4J86) για περισσότερες λεπτομέρειες σχετικά με την προετοιμασία των δειγμάτων, τη διάταξη RT-PCR, την ενίσχυση και την ανίχνευση.

ΕΚΤΕΤΑΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ ΤΟΥ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΟΥ ΕΝΙΣΧΥΣΗΣ

Η προαιρετική λειτουργία της εκτεταμένης χρήσης του αντιδραστηρίου ενίσχυσης επιτρέπει τη χρήση συσκευασιών αντιδραστηρίων ενίσχυσης και εσωτερικών προτύπων ελέγχου (IC) συνολικά 2 φορές. Οι συσκευασίες αντιδραστηρίων ενίσχυσης που περιέχουν το παρασκευασμένο Master Mix μπορούν να φυλαχθούν σε θερμοκρασία -10°C ή χαμηλότερη, πωματισμένες και προστατευμένες από το φως, για έως και 14 ημέρες πριν από τη δεύτερη χρήση. Το εσωτερικό πρότυπο ελέγχου (IC) μπορεί να αποθηκευτεί πωματισμένο 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 αντιδραστηρίου.

Μια επισκόπηση αυτού του χαρακτηριστικού παρέχεται στο Παράρτημα 1 του παρόντος φύλλου οδηγιών χρήσης.

Σε όλο το φύλλο οδηγιών χρήσης, οι συσκευασίες αντιδραστηρίων ενίσχυσης και τα IC που δεν έχουν ακόμη χρησιμοποιηθεί θα αναφέρονται ως νέες συσκευασίες αντιδραστηρίων ενίσχυσης και IC (δηλ. αρχική χρήση). Οι συσκευασίες αντιδραστηρίων ενίσχυσης που έχουν χρησιμοποιηθεί μία φορά και περιέχουν παρασκευασμένο Master Mix θα αναφέρονται ως συσκευασίες αντιδραστηρίων ενίσχυσης μερικού όγκου. Τα φιαλίδια IC που έχουν χρησιμοποιηθεί μία φορά θα αναφέρονται ως φιαλίδια IC μερικού όγκου.

ΠΡΟΛΗΨΗ ΤΗΣ ΕΠΙΜΟΛΥΝΣΗΣ ΝΟΥΚΛΕΪΚΩΝ ΟΞΕΩΝ

Ανατρέξτε στο ένθετο συσκευασίας της δοκιμασίας Abbott RealTime HCV (Αρ. Καταλόγου 4J86).

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Ανατρέξτε στο ένθετο συσκευασίας της δοκιμασίας Abbott RealTime HCV (Αρ. Καταλόγου 4J86).

ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

IVD

Για *in vitro* διαγνωστική χρήση

Η δοκιμασία Abbott RealTime HCV για DBS δεν προορίζεται για χρήση ως προκαταρκτικός έλεγχος αιμοδοτών, δωτών πλάσματος, ορού ή ιστού για HCV ή ως εξέταση διαγνωστικού ελέγχου για την επιβεβαίωση της παρουσίας λοίμωξης HCV.

ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ ΑΣΦΑΛΕΙΑΣ

Ανατρέξτε στο ένθετο συσκευασίας της δοκιμασίας Abbott RealTime HCV (Αρ. Καταλόγου 4J86). Στη δοκιμασία RealTime HCV για DBS χρησιμοποιούνται μόνο τα όργανα *m2000sp* και *m2000rt*.

ΕΙΔΙΚΕΣ ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

Προφυλάξεις κατά το χειρισμό δειγμάτων DBS

Η δοκιμασία 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 ΣΤΟ ΧΩΡΟ ΕΞΕΤΑΣΗΣ**.

Ανατρέξτε στο ένθετο συσκευασίας της δοκιμασίας Abbott RealTime HCV (Αρ. Καταλόγου 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 πιπέτας για κάθε δείγμα DBS κατά την αφαίρεση της κηλίδας από τη διατήρητη κάρτα DBS. Εάν χρησιμοποιείται μη διατήρητη 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 ένθετο συσκευασίας της δοκιμασίας Abbott RealTime HCV (Αρ. Καταλόγου 4J86).

Επιμόλυνση λόγω αερολυμάτων

Ανατρέξτε στο ένθετο συσκευασίας της δοκιμασίας Abbott RealTime HCV (Αρ. Καταλόγου 4J86).

Επιμόλυνση και αναστολή

Ανατρέξτε στο ένθετο συσκευασίας της δοκιμασίας Abbott RealTime HCV (Αρ. Καταλόγου 4J86).

Επιμόλυνση από εξωτερικό ενισχυμένο προϊόν που περιέχει dU

Τα εργαστήρια που χρησιμοποιούν ή έχουν χρησιμοποιήσει δοκιμασίες 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 δοκιμασία Abbott RealTime HCV για DBS. Ανατρέξτε στην ενότητα **Έλεγχος του εργαστηρίου για παρουσία επιμόλυνσης** στο ένθετο συσκευασίας της δοκιμασίας Abbott RealTime HCV (Αρ. καταλόγου 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 (Αρ. καταλόγου 4J86-90)



- Οι **νέες** και οι **μερικού όγκου** συσκευασίες αντιδραστηρίων 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.
- Οι συσκευασίες αντιδραστηρίων ενίσχυσης **μερικού όγκου** και το IC πρέπει να αποθηκεύονται σε θερμοκρασία -10°C ή χαμηλότερη, σε πωματισμένη συσκευασία, σε όρθια θέση και προστατευμένες από το φως, μετά την αρχική χρήση. Εάν αποθηκευτούν με αυτόν τον τρόπο, οι συσκευασίες αντιδραστηρίων ενίσχυσης **μερικού όγκου** 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 πωματισμένο σε θερμοκρασία -10°C ή χαμηλότερη. Μετά από 2 χρήσεις, οι συσκευασίες αντιδραστηρίων ενίσχυσης μερικού όγκου και το IC θα πρέπει να απορρίπτονται. Η δεύτερη χρήση δεν θα πρέπει να υπερβαίνει την ημερομηνία λήξης του αντιδραστηρίου.

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



- Τα Abbott RealTime HCV Negative και Positive Controls πρέπει να αποθηκεύονται σε θερμοκρασία -10°C ή χαμηλότερη.

Abbott RealTime HCV Calibrator Kit (Αρ. καταλόγου 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 ένθετο συσκευασίας της δοκιμασίας Abbott RealTime HCV (Αρ. καταλόγου 4J86).

ΕΝΔΕΙΞΕΙΣ ΑΣΤΑΘΕΙΑΣ Ή ΑΚΑΤΑΛΛΗΛΟΤΗΤΑΣ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Ανατρέξτε στο ένθετο συσκευασίας της δοκιμασίας Abbott RealTime HCV (Αρ. καταλόγου 4J86).

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ ΟΡΓΑΝΟΥ

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 (Κατάλογος 1L69-040 ή μεταγενέστερος) πριν από την πραγματοποίηση της δοκιμασίας. 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 ΣΤΟ 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 μίμησης 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. Συσκεύαστε 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 δοκιμασίας.

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 επισημαίνονται με ετικέτες σύμφωνα με τους ισχύοντες κρατικούς, ομοσπονδιακούς και διεθνείς κανονισμούς περί μεταφοράς κλινικών, διαγνωστικών ή βιολογικών δειγμάτων.

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΔΟΚΙΜΑΣΙΑΣ ABBOTT REALTIME HCV ΓΙΑ DBS

Υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται

- Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit (Αρ. Καταλόγου 4J86-90)
- Abbott RealTime HCV Calibrator Kit Pleas (Αρ. Καταλόγου 4J86-70)
- Abbott RealTime HCV Control Kit (Αρ. καταλόγου 4J86-80)

Για το όργανο Abbott m2000sp Χώρος προετοιμασίας δειγμάτων

- Abbott mSample Preparation System DBS Buffer Kit (Αρ. καταλόγου 09N02-001)
- Όργανο Abbott m2000sp (Αρ. καταλόγου 9K14-01, 9K14-02)
- Abbott mSample Preparation System (4 × 24 διαδικασίες παρασκευής) (Αρ. καταλόγου 04J70-24)
- Βαθμονομημένες πιπέτες ακριβείας με δυνατότητα αναρρόφησης 20 έως 1000 µL (Ενδέχεται να απαιτούνται βαθμονομημένες πιπέτες ακριβείας με δυνατότητα αναρρόφησης < 20 µL εάν χρησιμοποιηθεί UNG.)
- Ρύγχη πιπετών με διαχωριστή αερολύματος για πιπέτες 20 έως 1000 µL (Ενδέχεται να απαιτούνται ρύγχη πιπετών με διαχωριστή αερολύματος για πιπέτες με δυνατότητα αναρρόφησης < 20 µL εάν χρησιμοποιηθεί UNG.)
- Μηχανικός αναδευτήρας (Vortex)
- Master Mix Tube (Αρ. καταλόγου 04J71-80)
- Abbott 96-Deep-Well Plate (Αρ. καταλόγου 04J71-30)
- 5 mL Reaction Vessels (Αρ. καταλόγου 04J71-20)
- 200 mL Reagent Vessels (Αρ. καταλόγου 04J71-60)
- Abbott 96-Well Optical Reaction Plate (Αρ. καταλόγου 04J71-70)
- Abbott Optical Adhesive Covers (Αρ. καταλόγου 04J71-75)
- Abbott Adhesive Cover Applicators (Αρ. καταλόγου 9K32-01)
- Abbott Splash-Free Support Base (Αρ. καταλόγου 9K31-01)
- Abbott RealTime HCV m2000 ROW System Combined Application CD-ROM (Αρ. καταλόγου 1L69-040 ή μεταγενέστερος)
- m2000 System 13mm DBS-PoSt Set (Αρ. καταλόγου 09N03-001)
- 1.4 mL Micro Vial 15mm Caps (Αρ. καταλόγου 3N20-01) προαιρετικά
- Uracil N-Glycosylase (UNG)^a (Αρ. καταλόγου 6L87-02)

^aΕάν απαιτείται, σύμφωνα με την ενότητα **Επιμόλυνση από εξωτερικό ενισχυμένο προϊόν που περιέχει dU** στο παρόν φύλλο οδηγιών χρήσης.

Για το Abbott m2000rt Instrument Amplification Area

- Όργανο Abbott m2000rt (Αρ. καταλόγου 9K15-01)
- Abbott RealTime HCV m2000 ROW System Combined Application CD-ROM (Αρ. καταλόγου 1L69-040 ή μεταγενέστερος)
- Abbott m2000rt Optical Calibration Kit (Αρ. καταλόγου 04J71-93)

Άλλα υλικά

- Θάλαμος βιοασφάλειας εγκεκριμένος για εργασίες με μολυσματικά υλικά
- Σφραγιζόμενο σακουλάκι για την κάρτα DBS
- Συσκευασία υλικού αφύγνωσης για την κάρτα DBS
- Χάρτινη κάρτα Ahlstrom-Munktel TFN ή/και Whatman 903
- Σφραγιζόμενο πλαστικό σακουλάκι για την απόρριψη της πλάκας αντίδρασης 96 βοθρίων
- Νερό χωρίς RNase (Eppendorf ή αντίστοιχο)^β
- Σώληνάρια μικροφυγοκέντρου 1,7 mL εφαρμογών μοριακής βιολογίας (Dot Scientific, Inc. ή αντίστοιχα)^β
- Βαμβακοφόροι στυλεοί (Puritan ή αντίστοιχοι)^β

Βσημείωση: Αυτά τα 3 υλικά χρησιμοποιούνται στη διαδικασία για Έλεγχο του εργαστηρίου για παρουσία επιμόλυνσης. Ανατρέξτε στην ενότητα **ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΕΣ ΕΛΕΓΧΟΥ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ** στο ένθετο συσκευασίας της δοκιμασίας Abbott RealTime HCV (Αρ. καταλόγου 4J86).

Προφυλάξεις κατά τη διαδικασία

- Διαβάστε προσεκτικά τις οδηγίες του παρόντος φύλλου οδηγιών χρήσης 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 φύλλο οδηγιών χρήσης. Τα φιαλίδια 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 πιπετών με διαχωριστή αερολύματος ή οι πιπέτες 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 της πιπέτας κατά την αναρρόφηση, προσέξτε ώστε να μην ακουμπήσετε το κυλινδρικό στέλεχος της πιπέτας στην εσωτερική επιφάνεια του σωληναρίου ή του δοχείου δειγματος. Συνιστάται η χρήση ρυγχών πιπετών 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 δοκιμασίας 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. Οι νέες συσκευασίες 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 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 στο όργανο Abbott m2000rt, σφραγίστε το Abbott 96-Well Optical Reaction Plate σε ένα σφραγιζόμενο πλαστικό σακουλάκι και απορρίψτε το σύμφωνα με το Abbott m2000rt Operations Manual, 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 ΔΟΚΙΜΑΣΙΑΣ: ΔΕΙΓΜΑΤΑ DBS ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΤΩΝ ΟΡΓΑΝΩΝ ABBOTT m2000sp ΚΑΙ ABBOTT m2000rt

Για λεπτομερή περιγραφή του τρόπου εκτέλεσης ενός πρωτοκόλλου για το όργανο Abbott m2000sp και το όργανο Abbott m2000rt, ανατρέξτε στο Abbott m2000sp Operations Manual και στο Abbott m2000rt Operations Manual, στην ενότητα Οδηγίες λειτουργίας. Για το πρωτόκολλο DBS απαιτείται το Abbott m2000sp Software Version 6.0 ή μεταγενέστερης έκδοσης. Ακολουθήστε τις οδηγίες στο Abbott m2000sp Operations Manual (Έκδοση καταλόγου 09K20 6 ή μεταγενέστερη).

Σε κάθε σειρά μετρήσεων μπορούν να υποβληθούν σε επεξεργασία 96 δείγματα συνολικά. Σε κάθε σειρά μετρήσεων συμπεριλαμβάνεται ένα αρνητικό πρότυπο ελέγχου, ένα θετικό πρότυπο ελέγχου χαμηλού επιπέδου και ένα θετικό πρότυπο ελέγχου υψηλού επιπέδου, 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 επισημανθεί 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* (Αρ. καταλόγου 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 πιπέτας, 1 κύκλος DBS ανά Master Mix Tube. Κάθε DBS θα πρέπει να έχει διάμετρο περίπου μιάμιση ίντσα (12 χιλιοστά).

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΕΙΤΕ ΝΕΟ ΡΥΓΧΟΣ ΠΙΠΕΤΑΣ ΓΙΑ ΚΑΘΕ ΔΕΙΓΜΑ DBS ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΠΟΦΥΓΗ ΔΙΑΣΤΑΥΡΟΥΜΕΝΗΣ ΕΠΙΜΟΛΥΝΣΗΣ.

Εναλλακτικά, από μη διάτρητο χαρτί DBS, κόψτε 1 ολόκληρο DBS (διαμέτρου περίπου μιάμισης ίντσας) για κάθε δείγμα και μεταφέρετε σε ένα 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 της πιπέτας για να εμβυθίσετε το DBS στο ρυθμιστικό διάλυμα.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Εάν χρησιμοποιείται ρύγχος πιπέτας για την εμβύθιση του DBS στο ρυθμιστικό διάλυμα, βεβαιωθείτε ότι το ρύγχος της πιπέτας 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). Επώαστε επί 30 λεπτά (± 2 λεπτά) σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.
6. Στο διάστημα αυτό, αποψύξτε τα πρότυπα ελέγχου της δοκιμασίας 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 δοκιμασίας, 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 δοκιμασίας 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 πιπέτας, 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 νέες συσκευασίες αντιδραστηρίων ενίσχυσης ή/και συσκευασίες αντιδραστηρίων ενίσχυσης **μερικού όγκου** για χρήση στη σειρά αναλύσεων. Ανατρέξτε στο Abbott *m2000sp* Operations Manual (Αρ.καταλόγου 09K20 έκδοσης 6 ή μεταγενέστερη), ενότητα «Οδηγίες λειτουργίας» για οδηγίες σχετικά με τη διαχείριση των αποθεμάτων των συσκευασιών αντιδραστηρίων ενίσχυσης. Οι συσκευασίες 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. Οι συσκευασίες αντιδραστηρίων ενίσχυσης **μερικού όγκου** 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 ψύκτη, η συνολική έκθεση σε θερμοκρασία δωματίου δεν θα πρέπει να υπερβαίνει τα 25 λεπτά, συμπεριλαμβανομένων των περιπτώσεων όπου οι συσκευασίες αφαιρούνται από τον χώρο αποθήκευσης, αλλά δεν χρησιμοποιούνται. Σε περίπτωση υπέρβασης των 25 λεπτών, απορρίψτε τις συσκευασίες αντιδραστηρίων ενίσχυσης **μερικού όγκου**.

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
<i>mMicroparticles</i>	1 φιάλη	2 φιάλες	2 φιάλες	2 φιάλες
<i>mLysis</i>	1 φιάλη	2 φιάλες	3 φιάλες	4 φιάλες
<i>mWash 1</i>	1 φιάλη	2 φιάλες	3 φιάλες	4 φιάλες
<i>mWash 2</i>	1 φιάλη	2 φιάλες	3 φιάλες	4 φιάλες
<i>mElution Buffer</i>	1 φιάλη	2 φιάλες	3 φιάλες	4 φιάλες
Εσωτερικό πρότυπο ελέγχου ^a	1 νέο φιαλίδιο ή 1 φιαλίδιο μερικού όγκου	1 νέο φιαλίδιο ή 2 φιαλίδια μερικού όγκου	2 νέα φιαλίδια ή 3 φιαλίδια μερικού όγκου	2 νέα φιαλίδια ή 4 φιαλίδια μερικού όγκου

^a Μπορεί να χρησιμοποιηθεί συνδυασμός νέων φιαλιδίων και φιαλιδίων εσωτερικού προτύπου ελέγχου μερικού όγκου.

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 εξισορροπήσει σε θερμοκρασία δωματίου, μέχρι οι κρυστάλλοι να διαλυθούν. Μη χρησιμοποιήσετε τα αντιδραστήρια, εάν οι κρυστάλλοι δεν διαλυθούν.
11. Αναδεύστε κάθε εσωτερικό πρότυπο ελέγχου 3 φορές για 2 έως 3 δευτερόλεπτα πριν από τη χρήση.
12. Χρησιμοποιήστε μια βαθμονομημένη πιπέτα ακριβείας **ΕΙΔΙΚΗ 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 φιαλίδια IC μερικού όγκου 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 οργάνου 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 οργάνου Abbott *m2000sp* έχουν βαθμονομηθεί ειδικά για τη διαδικασία Abbott *RealTime HCV* για DBS.

15. Φορτώστε τους φορείς δειγμάτων προσεκτικά για να αποφευχθεί τυχόν υπερχείλιση. 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 στο όργανο 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 οργάνου 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 στο Abbott *m2000sp* Operations Manual στην ενότητα «Οδηγίες λειτουργίας».
19. Από την οθόνη Protocol (Πρωτόκολλο), επιλέξτε το αρχείο εφαρμογής HCV RNA DBS. Εκκινήστε το πρωτόκολλο εκχύλισης δειγματος, όπως περιγράφεται στο Abbott *m2000sp* Operations Manual, στην ενότητα «Οδηγίες λειτουργίας».
20. Εισάγετε τις ειδικές τιμές για την παρτίδα βαθμονομητών (απαιτείται εάν δεν έχει αποθηκευτεί καμπύλη βαθμονόμησης στο όργανο Abbott *m2000rt*) και προτύπων ελέγχου στα πεδία Sample Extraction (Εκχύλιση δειγματος): Worktable Setup (Πύθμηση 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 οργάνου Abbott *m2000sp* μόλις ολοκληρωθεί η παρασκευή των δειγμάτων. Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζεται ο αριθμός των συσκευασιών αντιδραστηρίων ενίσχυσης που απαιτούνται με βάση τον αριθμό των αντιδράσεων. Εάν χρησιμοποιείται μόνο 1 συσκευασία 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 εάν πρόκειται για νέα, έως και 4 με συσκευασίες μερικού όγκου	2 εάν πρόκειται για νέα, έως και 4 με συσκευασίες μερικού όγκου	3 εάν πρόκειται για νέα, έως και 4 με συσκευασίες μερικού όγκου	4 νέες ή μερικού όγκου συσκευασίες

^a Ανατρέξτε στο Abbott *m2000sp* Operations Manual (Αρ. καταλόγου 09K20 έκδοσης 6 ή μεταγενέστερη) για οδηγίες σχετικά με τη διαχείριση των αποθεμάτων προκειμένου να προσδιοριστεί ο μέγιστος αριθμός αντιδράσεων που μπορούν να εξεταστούν με τις επιλεγμένες συσκευασίες μερικού όγκου.

- Οι συσκευασίες αντιδραστηρίων ενίσχυσης μερικού όγκου μπορούν να χρησιμοποιηθούν μόνο στο ίδιο όργανο Abbott *m2000sp* που χρησιμοποιήθηκε για την αρχική προετοιμασία της συσκευασίας αντιδραστηρίων. Η χρήση συσκευασίας αντιδραστηρίου ενίσχυσης για δεύτερη φορά σε διαφορετικό όργανο θα οδηγήσει σε σφάλμα, το οποίο μπορεί να καθυστερήσει τη σειρά αναλύσεων.
- Μπορούν να χρησιμοποιηθούν μαζί συσκευασίες μερικού όγκου και νέες συσκευασίες αντιδραστηρίων ενίσχυσης.

ΣΗΜΑΝΤΙΚΟ: Οι συσκευασίες αντιδραστηρίων ενίσχυσης μερικού όγκου πρέπει να αποθηκεύονται σε θερμοκρασία -10°C ή χαμηλότερη έως αμέσως πριν από τη δεύτερη χρήση. Επιβεβαιώστε ότι το Master Mix έχει αποψυχθεί πριν τοποθετησετε συσκευασίες μερικού όγκου στον πάγκο εργασίας του Abbott *m2000sp*. Μετά την αφαίρεσή τους από το χώρο αποθήκευσης σε θερμοκρασία -10°C ή χαμηλότερη, οι συσκευασίες αντιδραστηρίων ενίσχυσης μερικού όγκου 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 οι συσκευασίες αφαιρούνται από τον χώρο αποθήκευσης, αλλά δεν χρησιμοποιούνται.

23. Βεβαιωθείτε ότι το περιεχόμενο των νέων συσκευασιών 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 συσκευασίες αντιδραστηρίων ενίσχυσης μερικού όγκου που χρησιμοποιούνται για δεύτερη φορά. Το χτύπημα μπορεί να προκαλέσει απώλεια του όγκου του Master Mix στο πώμα.

24. Αφαιρέστε τα πώματα. Εάν μια νέα συσκευασία αντιδραστηρίου ενίσχυσης πρόκειται να αποθηκευτεί για δεύτερη χρήση, τα φιαλίδια θα πρέπει να επαναπνευματιστούν 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 ΕΙΔΙΚΗ ΠΙΠΕΤΑ ΜΟΝΟ ΓΙΑ ΧΡΗΣΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΟΥ για να προσθέσετε τον καθορισμένο όγκο 1 U/μL UNG (Αρ. καταλόγου 6L87-02) στο φιαλίδιο αντιδραστηρίου στη θέση 3 των νέων και μερικού όγκου συσκευασιών αντιδραστηρίων ενίσχυσης. Αναμίξτε χειροκίνητα αναρροφώντας ή/και με την πιπέτα για όλες τις συσκευασίες μερικού όγκου. Μην αναμειγνύετε νέες συσκευασίες.
- Χρησιμοποιήστε τον παρακάτω πίνακα για να προσδιορίσετε τον όγκο UNG που θα προστεθεί στο φιαλίδιο αντιδραστηρίου στη θέση 3 των νέων και μερικού όγκου συσκευασιών αντιδραστηρίων ενίσχυσης. Το φιαλίδιο αντιδραστηρίου στη θέση 3 μιας νέας συσκευασίας αντιδραστηρίου περιέχει το θερμοσταθερό ένζυμο rTth πολυμεράσης. Το φιαλίδιο αντιδραστηρίου στη θέση 3 μιας συσκευασίας αντιδραστηρίου μερικού όγκου περιέχει το Master Mix.

Όγκος UNG που θα προστεθεί στο φιαλίδιο αντιδραστηρίου στη θέση 3 κάθε συσκευασίας αντιδραστηρίων ενίσχυσης	
Εξετάσεις που απομένουν στη συσκευασία	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 (νέα συσκευασία)	27

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Ο όγκος UNG που προστίθεται στο φιαλίδιο αντιδραστηρίου στη θέση 3 εξαρτάται από τον αριθμό των εξετάσεων που απομένουν στη συσκευασία αντιδραστηρίων και όχι από τον αριθμό των δειγμάτων που υποβάλλονται σε ανάλυση. Ανατρέξτε στο Abbott *m2000sp* Operations Manual για οδηγίες σχετικά με τη διαχείριση αποθεμάτων των συσκευασιών αντιδραστηρίων ενίσχυσης και τον τρόπο καθορισμού του αριθμού των εξετάσεων που απομένουν σε μια συσκευασία αντιδραστηρίων.

26. Οι συσκευασίες ενίσχυσης μερικού όγκου φορτώνονται στην αριστερή πλευρά των νέων συσκευασιών αντιδραστηρίων ενίσχυσης στον πάγκο εργασίας του Abbott *m2000sp*.
27. Βεβαιωθείτε ότι οι συσκευασίες αντιδραστηρίων ενίσχυσης έχουν τοποθετηθεί σταθερά επάνω στο όργανο.
28. Επιλέξτε την κατάλληλη πλάκα βαθέων βοθρίων που αναλογεί στην αντίστοιχη εκχύλιση προετοιμασίας δείγματος. Εκκινήστε το πρωτόκολλο Abbott *m2000sp* Master Mix Addition. Ακολουθήστε τις οδηγίες, όπως περιγράφονται στο Abbott *m2000sp* Operations Manual, 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, το όργανο 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 το όργανο, ο φορέας αντιδραστηρίων 2 πρέπει να παραμείνει στη θέση του, περιέχοντας τουλάχιστον τον υποδοχέα αντιδραστηρίου για το ρυθμιστικό διάλυμα έκλυσης *mElution* (φορέας αντιδραστηρίων 2, θέση 6). Εάν ο συγκεκριμένος υποδοχέας αντιδραστηρίου έχει αφαιρεθεί, τοποθετήστε νέο υποδοχέα με την ετικέτα του ρυθμιστικού διαλύματος *mElution* στον φορέα αντιδραστηρίων 2, στη θέση 6. Το σύστημα θα προσθέσει υγρό στον υποδοχέα αντιδραστηρίου 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 βοηθίων πλάκας ανατρέξτε στο **Abbott m2000sp Operations Manual** (Αρ. καταλόγου 09K20 έκδοση 6 ή μεταγενέστερη), Ενότητα 5, Οδηγίες λειτουργίας, Εκχύλιση δείγματος – 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 στο όργανο Abbott *m2000rt* στο χώρο ενίσχυσης.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Για την προθέρμανση του οργάνου 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 το όργανο Abbott *m2000sp* ολοκληρώσει την προσθήκη των δειγμάτων και του Master Mix σύμφωνα με το Abbott *m2000sp Operations Manual*, Ενότητα «Οδηγίες λειτουργίας».

31. Τοποθετήστε τη σφραγισμένη οπτική πλάκα αντίδρασης στη βάση Abbott Splash-Free Support Base για μεταφορά στο όργανο 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 στο όργανο Abbott *m2000rt*.
33. Τοποθετήστε το Abbott 96-Well Optical Reaction Plate στο όργανο Abbott *m2000rt*. Από την οθόνη Protocol (Πρωτόκολλο), επιλέξτε το αρχείο εφαρμογής HCV RNA DBS. Εκκινήστε το πρωτόκολλο, όπως περιγράφεται στο Abbott *m2000rt Operations Manual*, 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) στο όργανο Abbott *m2000sp*. Ανατρέξτε στην Ενότητα 5 στο Abbott *m2000sp Operations Manual*.

34. Εάν πρόκειται να χρησιμοποιηθεί για δεύτερη φορά μια προετοιμασμένη συσκευασία αντίδρασης ενίσχυσης μερικού όγκου, πωματίστε τα 3 φιαλίδια αντιδραστηρίων με τα αποθηκευμένα πώματα ή νέα πώματα (Αρ. καταλόγου 3N20-01) και αποθηκεύστε αμέσως τα αντιδραστήρια σε θερμοκρασία -10°C ή χαμηλότερη, προστατευμένα από το φως και σε όρθια θέση. Απορρίψτε τις συσκευασίες αντιδραστηρίων 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 το Abbott *m2000sp Operations Manual*.
2. Τοποθετήστε το Abbott 96-Well Optical Reaction Plate σε ένα σφραγιζόμενο πλαστικό σακουλάκι και απορρίψτε το σύμφωνα με το Abbott *m2000rt Operations Manual*, 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 το Abbott *m2000rt Operations Manual*.

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΕΣ ΕΛΕΓΧΟΥ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ

Οπτική βαθμονόμηση του οργάνου Abbott *m2000rt*

Ανατρέξτε στο ένθετο συσκευασίας της δοκιμασίας Abbott RealTime HCV (Αρ. Καταλόγου 4J86).

Βαθμονόμηση δοκιμασίας

Ανατρέξτε στο ένθετο συσκευασίας της δοκιμασίας Abbott RealTime HCV (Αρ. Καταλόγου 4J86).

Για την εξέταση DBS με χρήση των συστημάτων *m2000sp* και *m2000rt*: Όταν η βαθμονόμηση Abbott RealTime HCV γίνει αποδεκτή και αποθηκευτεί από το όργανο, μπορείτε να τη χρησιμοποιείτε για διάστημα 6 μηνών. Σε αυτό το διάστημα, μπορείτε να εξετάζετε 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 ένθετο συσκευασίας της δοκιμασίας Abbott RealTime HCV (Αρ. Καταλόγου 4J86).

Αρνητικό και θετικό πρότυπο ελέγχου

Ανατρέξτε στο ένθετο συσκευασίας της δοκιμασίας Abbott RealTime HCV (Αρ. Καταλόγου 4J86).

Έλεγχος του εργαστηρίου για παρουσία επιμόλυνσης

Ανατρέξτε στο ένθετο συσκευασίας της δοκιμασίας Abbott RealTime HCV (Αρ. Καταλόγου 4J86).

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΓΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ DBS

Το αποτέλεσμα της συγκέντρωσης σε δείγμα DBS που αναφέρεται στη σειρά ανάλυσης του πρωτοκόλλου *m2000rt* DBS εκφράζει τη συγκέντρωση του ιού HCV στο πλάσμα δειγμάτων ολικού αίματος από τα οποία έχει ληφθεί το δείγμα DBS. Το όργανο Abbott *m2000rt* αναφέρει αυτόματα τα αποτελέσματα στον σταθμό εργασίας του Abbott *m2000rt*. Τα αποτελέσματα της δοκιμασίας 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

^b ULQ = άνω όριο ποσοτικού προσδιορισμού

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

- **ΓΙΑ IN VITRO ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΧΡΗΣΗ**
- Για τη βέλτιστη απόδοση αυτής της δοκιμασίας 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 ένθετο συσκευασίας).
- Τα δείγματα ολικού αίματος που συλλέγονται σε σωληνάρια EDTA μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη δημιουργία δειγμάτων DBS που εξετάζονται με τη δοκιμασία Abbott RealTime HCV για DBS. Η χρήση άλλων αντιπηκτικών δεν έχει επικυρωθεί με τη δοκιμασία Abbott RealTime HCV για DBS.
- Η δοκιμασία 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 οργάνων και η διαδικασία της δοκιμασίας 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 ένθετο συσκευασίας.
- Όπως ισχύει για όλες τις διαγνωστικές εξετάσεις, τα αποτελέσματα από τη δοκιμασία 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, εξήρανση, 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 δοκιμασία Abbott RealTime HCV.

ΙΔΙΑΙΤΕΡΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ ΓΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ DBS

Όριο ανίχνευσης (LOD)

Το LOD της δοκιμασίας 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 συγκεντρώση HCV RNA. Τα αποτελέσματα, τα οποία είναι αντιπροσωπευτικά της αναλυτικής ευαισθησίας της δοκιμασίας Abbott RealTime HCV για DBS, συνοψίζονται στον Πίνακα 1.

Πίνακας 1. Όριο ανίχνευσης (LOD) της δοκιμασίας Abbott RealTime HCV για DBS

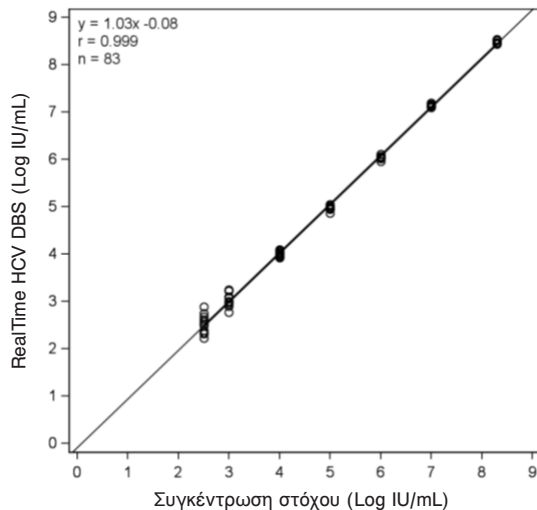
HCV RNA (IU/mL)	Αριθμός που εξετάστηκε	Αριθμός που ανιχνεύτηκε	Ποσοστό που ανιχνεύτηκε
500	84	83	99
400	84	80	95
350	84	75	89
300	84	73	87
150	84	54	64
50	84	26	31

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 δοκιμασία Abbott RealTime HCV είναι 100 εκατομμύρια IU/mL και το κάτω όριο ποσοτικού προσδιορισμού ισοδυναμεί με το όριο ανίχνευσης (LOD) (462 IU/mL) για τον ισχυρισμό 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 δοκιμασίας Abbott RealTime HCV για DBS, απεικονίζονται στο Σχήμα 1.

Σχήμα 1. Γραμμικότητα της δοκιμασίας Abbott RealTime HCV για DBS



Η δοκιμασία 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 δοκιμασίας 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 οργάνων m2000sp/rt με 3 παρτίδες αντιδραστηρίου ενίσχυσης. Προσδιορίστηκαν οι τυπικές αποκλίσεις (SD) εντός της σειράς αναλύσεων, μεταξύ των σειρών ανάλυσης και μεταξύ των δοκιμασιών. Η δοκιμασία Abbott RealTime HCV για DBS έχει σχεδιαστεί για επίτευξη τυπικής απόκλισης (SD) μεταξύ των δοκιμασιών 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 δοκιμασίας Abbott RealTime HCV για DBS, συνοψίζονται στον Πίνακα 2.

Πίνακας 2. Ακρίβεια της δοκιμασίας 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 δοκιμασιών ^{α,β}	Τιμή SD μεταξύ παρτίδων/όργανο ^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 δοκιμασιών 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/όργανο.

^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

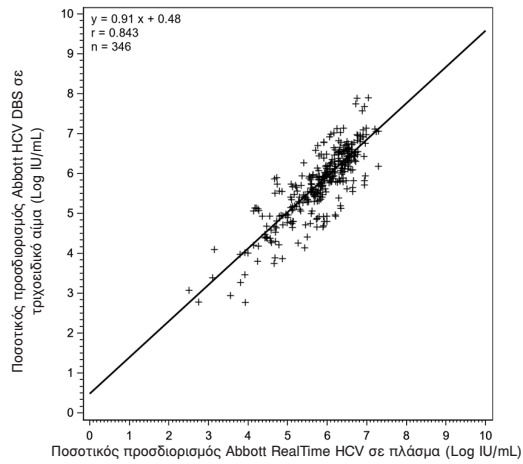
Ο ποσοτικός προσδιορισμός HCV RNA συγκρίθηκε μεταξύ της δοκιμασίας Abbott RealTime HCV με χρήση αποξηραμένων κηλίδων αίματος και της συγκριτικής δοκιμασίας με σήμανση CE, Abbott RealTime HCV με χρήση ανθρώπινου πλάσματος. Στην ανάλυση συμπεριλήφθηκαν δείγματα πλάσματος και DBS από 346 ασθενείς συνολικά (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 δοκιμασία Abbott RealTime HCV για DBS. Τα αποτελέσματα ποσοτικού προσδιορισμού από δείγματα που εμπίπτουν στο δυναμικό εύρος των δοκιμασιών 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 ULOQ. Επιπλέον, το προβλεπόμενο συστηματικό σφάλμα μεταξύ DBS φλεβικού αίματος και πλάσματος αξιολογήθηκε στα επίπεδα στόχου LLOQ και ULOQ. Ανατρέξτε στον **Πίνακα 3** για τη σύνοψη του προβλεπόμενου συστηματικού σφάλματος.

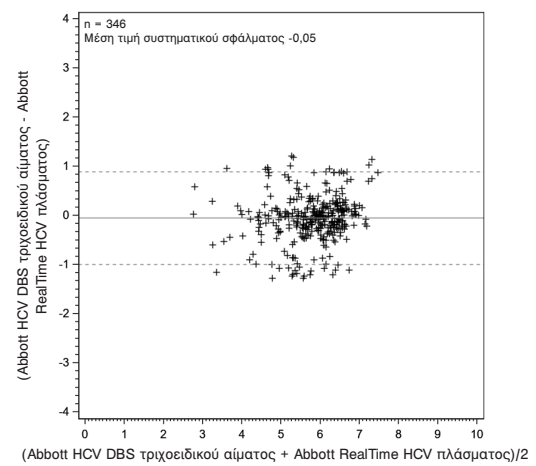
Πίνακας 3. Προβλεπόμενο συστηματικό σφάλμα μεταξύ DBS (τριχοειδικό ή φλεβικό αίμα) και πλάσματος στα LLOQ και ULOQ

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
	ULOQ	8,00	-0,26
DBS φλεβικού αίματος έναντι πλάσματος	LLOQ	2,66	0,15
	ULOQ	8,00	-0,17

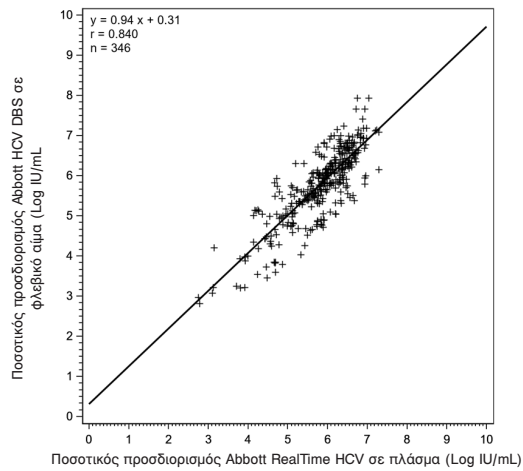
Σχήμα 2. DBS τριχοειδικού αίματος και πλάσματος



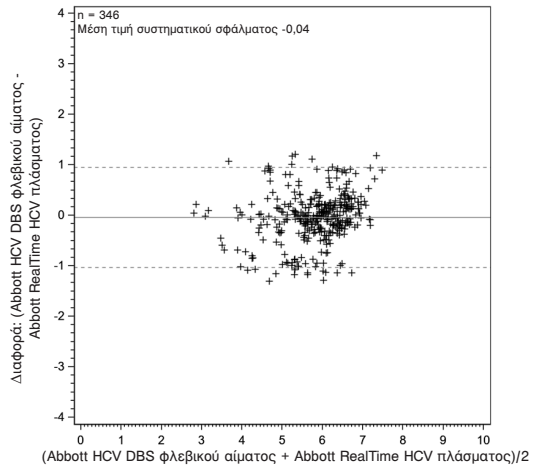
Σχήμα 5. DBS τριχοειδικού αίματος έναντι πλάσματος



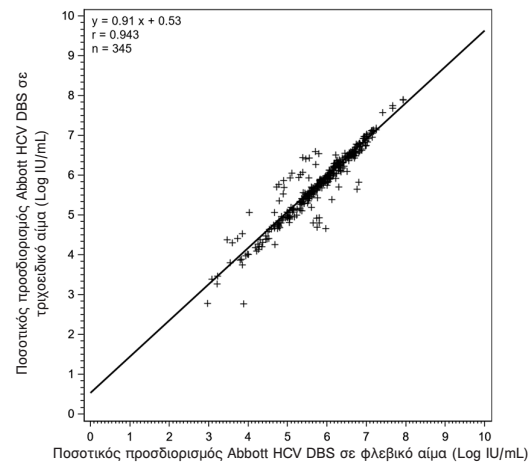
Σχήμα 3. DBS φλεβικού αίματος και πλάσματος



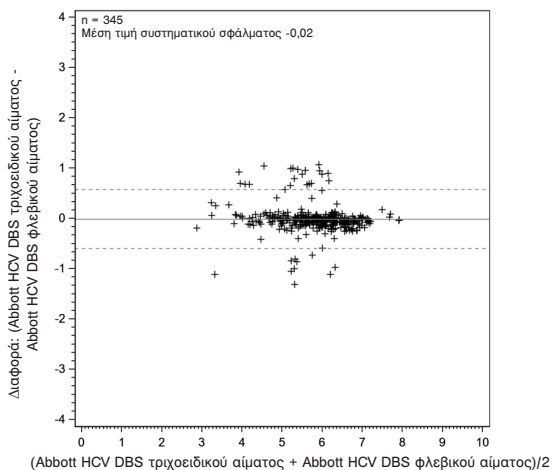
Σχήμα 6. DBS φλεβικού αίματος έναντι πλάσματος



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, et al. Global epidemiology and genotype distribution of the hepatitis C virus infection. *J Hepatol*. 2014; 61(1):S45-S57.
2. World Health Organization Updated Version April 2016: Guidelines for the screening, care and treatment of persons with hepatitis C infection. <http://www.who.int/hepatitis/publications/hepatitis-c-guidelines-2016/en/>.
3. AASLD/IDSA Recommendations for testing, managing and treating hepatitis C, revised April, 2017. www.hcvguidelines.org.
4. European Association of the Study of the Liver. Recommendation on Treatment of Hepatitis C 2018. *J. Hepatology* (2018).
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;39:1363-75.
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. *N Engl J Med* 1998;339(21):1493-9.
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):958-65.
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):975-82.
9. Hadziyannis SJ, Sette H Jr., Morgan TR, et al. Peginterferon-[alpha]2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose. *Ann Intern Med* 2004;140(5):346-55.
10. Orlent H, Deltenre P, Francque S, et al. Update of the Belgian Association for the Study of Liver Guidelines for the Treatment of Chronic Hepatitis C Genotype 1 with Protease Inhibitors. *Acta Gastro- Enterologica Belgica* 2012;LXXV:245-259.
11. Halfon P, Bourliere M, Penaranda G, Khiri H, and OuzinD. Real-time PCR assays for hepatitis C virus (HCV) RNA quantitation are adequate for clinical management of patients with chronic HCV infection. *J. Clin Microbiology* 2006;44(7): 2507-2511.
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):1611-8.
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):41-5.
14. WHO guidelines on hepatitis B and C testing. Geneva: World Health Organization; 2017.
15. Saldanha J, Heath A., 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 Sanguinis* 2005 Apr; 88 (3):202-204.

ΤΕΧΝΙΚΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ

Για τεχνική υποστήριξη, καλέστε το Τμήμα Τεχνικής Εξυπηρέτησης στο τηλέφωνο 1-800-553-7042 (στις ΗΠΑ) ή στο +49-6122-580 (εκτός των ΗΠΑ), ή επισκεφθείτε τον ιστότοπο της Abbott Molecular στη διεύθυνση www.molecular.abbott/portal.

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 Abbott. Με την επιφύλαξη παντός δικαιώματος.

www.abbottmolecular.com

51-608440/R1

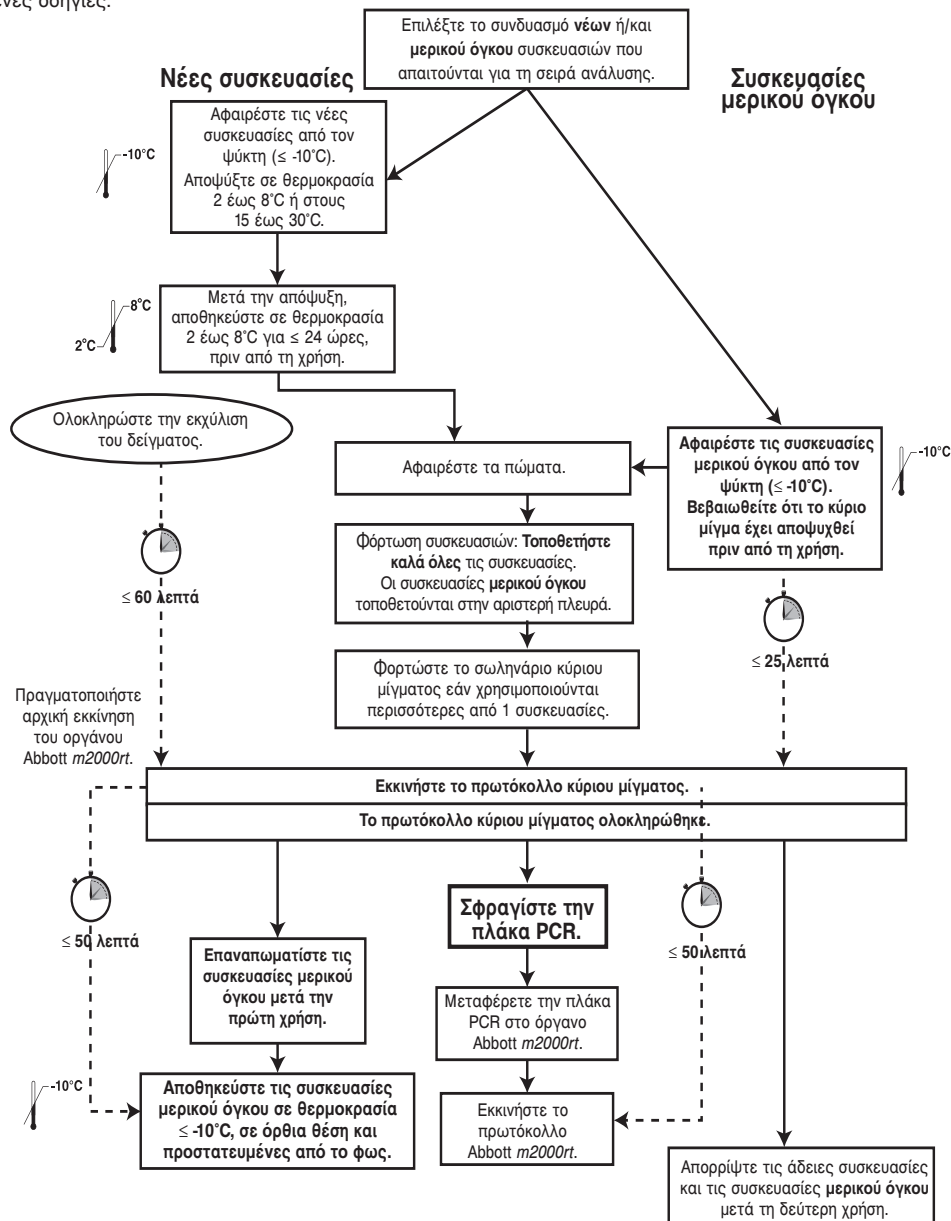
Ιούλιος 2020

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1. ΕΠΙΣΚΟΠΗΣΗ ΤΗΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ ΕΚΤΕΤΑΜΕΝΗΣ ΧΡΗΣΗΣ ΤΟΥ ABBOTT REALTIME HCv AMPLIFICATION REAGENT

Η λειτουργία εκτεταμένης χρήσης του αντιδραστήριου ενίσχυσης επιτρέπει τη χρήση συσκευασίας αντιδραστηρίων ενίσχυσης και εσωτερικού προτύπου ελέγχου (IC) συνολικά 2 φορές. Οι συσκευασίες αντιδραστηρίων ενίσχυσης που δεν έχουν ακόμη χρησιμοποιηθεί για την προετοιμασία του Master Mix αναφέρονται ως **νέες** συσκευασίες αντιδραστηρίων ενίσχυσης. Οι συσκευασίες αντιδραστηρίων ενίσχυσης που έχουν χρησιμοποιηθεί μία φορά και περιέχουν παρασκευασμένο Master Mix θα αναφέρονται ως συσκευασίες αντιδραστηρίων ενίσχυσης **μερικού όγκου**. Για περισσότερες λεπτομέρειες, ανατρέξτε στις οδηγίες που παρέχονται στο παρόν εγχειρίδιο.

Συνθήκες αποθήκευσης (Συσκευασία αντιδραστηρίων ενίσχυσης και φιαλίδια εσωτερικού προτύπου ελέγχου)		
Τύπος συσκευασίας	Θερμοκρασία αποθήκευσης	Χρόνος αποθήκευσης
Νέες συσκευασίες	-10°C ή χαμηλότερη	Έως την ημερομηνία που αναγράφεται στην ετικέτα
Νέες συσκευασίες IC	-10°C ή χαμηλότερη	Έως την ημερομηνία που αναγράφεται στην ετικέτα
Συσκευασίες μερικού όγκου	-10°C ή χαμηλότερη (προστατευμένες από το φως)	Έως και 14 ημέρες μετά την αρχική χρήση
Συσκευασίες IC μερικού όγκου	-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 δοκιμασίας για συγκεκριμένες οδηγίες.



- Οι συσκευασίες αντιδραστηρίων ενίσχυσης που είναι κατάλληλες για εκτεταμένη χρήση πρέπει να φέρουν έναν διψήφιο σειριακό αριθμό πάνω από το γραμμωτό κώδικα.
- Οι συσκευασίες αντιδραστηρίων ενίσχυσης **μερικού όγκου** μπορούν να χρησιμοποιηθούν για δεύτερη φορά μόνο στο ίδιο όργανο με την αρχική χρήση. Η χρήση τους σε διαφορετικό όργανο θα οδηγήσει σε σφάλμα επεξεργασίας, το οποίο ενδέχεται να καθυστερήσει τη σειρά ανάλυσης.
- Μπορούν να χρησιμοποιηθούν μαζί **μερικού όγκου** και **νέες** συσκευασίες αντιδραστηρίων ενίσχυσης. Όλες οι συσκευασίες αντιδραστηρίων ενίσχυσης που χρησιμοποιούνται στο όργανο για μια σειρά αναλύσεων πρέπει να έχουν τον ίδιο αριθμό παρτίδας.

Abbott RealTime HCV

Doplněk k suché krevní kapce (DBS – dried blood spot)

CS**REF** 04J86-010

51-608440/R1

GTIN**REF**

04J86-010

IVD

51-608440/R1

Legenda k použitým symbolům

GTIN

Číslo GTIN

REF

Referenční číslo

IVD

Diagnostický zdravotnický prostředek in vitro



Maximální povolená doba



Horní teplotní limit



Teplotní omezení

EC REP

Autorizovaný zástupce v Evropském společenství



Výrobce

MEZINÁRODNÍ SLUŽBY ZÁKAZNÍKŮM: KONTAKTUJTE SVÉHO ZÁSTUPCE SPOLEČNOSTI ABBOTT.

Před použitím si pozorně přečtěte příbalový leták. Pokyny na příbalovém letáku musí být respektovány. Spolehlivost výsledků testu nemůže být zaručena, pokud nebyly pokyny na příbalovém letáku přesně dodrženy.

Tento návod k použití (NKP) doplňuje informace uvedené na příbalovém letáku testu Abbott RealTime HCV assay (Kat. č. 4J86), konkrétně pro typ vzorku suché krevní kapky (DBS).

UPOZORNĚNÍ PRO UŽIVATELE

Dojde-li k závažné události týkající se tohoto zařízení, musí být událost nahlášena výrobci a příslušnému orgánu členského státu, ve kterém sídlí uživatel anebo pacient. Informace o hlášení výrobci naleznete v kontaktních informacích uvedených v části o technické podpoře v těchto pokynech.

NÁZEV

Abbott RealTime HCV

URČENO K POUŽITÍ PRO DBS

Test Abbott RealTime HCV je in vitro test reverzních transkripčních polymerázových řetězových reakcí (RT-PCR) pro kvantifikaci virové RNA hepatitidy C (HCV RNA) v plné krvi zaznamenanou na testovacích kartičkách suché krevní kapky (DBS) (tj. získané venepunkcí nebo kapilární krví) u jedinců infikovaných HCV. Test Abbott RealTime HCV je určen k použití jako pomůcka při léčbě pacientů infikovaných HCV podstupujících antivirovou léčbu. Test Abbott RealTime HCV není určen ke screeningu krve, plazmy, séra nebo dárců tkání pro HCV, ani k použití jako diagnostický test k potvrzení přítomnosti HCV infekce.

ZAMÝŠLENÝ UŽIVATEL

Zamýšlenými uživateli testu Abbott RealTime HCV jsou profesionálové v oblasti laboratoře a zdravotní péče.

SOUHRN A VYSVĚTLENÍ TESTU

Virus hepatitidy C (HCV) je jednou z hlavních příčin onemocnění jater. Odhaduje se, že přibližně 1,1 % populace je chronicky infikováno hepatitidou C¹ a přibližně 700 000 lidí zemře každý rok na jaterní onemocnění související s hepatitidou C.² HCV je pozitivní-řetězový RNA virus a přenáší se primárně intravenózním užíváním drog a krevními produkty. U přibližně 55 až 85 % jedinců infikovaných HCV se rozvine chronická hepatitida, u kterých se až 30 % chronicky infikovaných jedinců vyvíjí cirhóza.¹ U pacientů s cirhózou je incidence hepatocelulárního karcinomu 2 až 4 % za rok.¹

Bylo prokázáno, že kvantitativní měření hladiny HCV RNA v periferní krvi je základním parametrem při léčbě různých anti-HCV terapií.⁶⁻¹³ S příchodem přímo působících antivirových režimů se léčba infekce HCV dramaticky zdokonalila. Cílem léčby anti-HCV je dosáhnout setrvalé virologické odpovědi (SVR), která je prezentována jako pokračující absence detekovatelné HCV RNA.²⁻⁵ Měření virové zátěže HCV bylo použito k individualizaci trvání léčby a léčby řízené odpovědí nebo k určení a předvídání setrvalé nebo nesetrvalé virologické odpovědi antivirové terapie.²⁻⁵

Většina celosvětové zátěže HCV se nachází v zemích s nízkými a středními příjmy (LMIC).¹⁴ Identifikace pacientů s aktivní HCV infekcí je v těchto oblastech omezených na zdroje velmi omezená. Plnou krev odebranou jako sušenou krevní kapku (DBS) lze použít jako alternativu séra nebo plazmy pro vyšetření HCV RNA. 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 obsahují doporučení pro použití DBS ve virologických testech HCV v oblastech omezených na zdroje.¹⁴

Test Abbott RealTime HCV pro DBS používá technologii reverzní transkripční polymerázové řetězové reakce (RT-PCR) v kombinaci s homogenní fluorescenční detekcí v reálném čase pro kvantifikaci HCV RNA v DBS. Výběr konzervované oblasti genomu HCV umožňuje detekci genotypů 1 až 6. Test je standardizován podle 2. mezinárodního standardu WHO pro virus hepatitidy C RNA (NIBSC Kód 96/798)¹⁵ a výsledky jsou hlášeny v mezinárodních jednotkách/ml (IU/ml) nebo v jeho logaritmickém ekvivalentu 10.

BIOLOGICKÉ ZÁSADY POSTUPU

Test Abbott RealTime HCV pro DBS vyžaduje 3 sady reakčních činidel:

- Amplifikační sadu Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit
- Kontrolní sadu Abbott RealTime HCV Control Kit
- Kalibrační sadu Abbott RealTime HCV Calibrator Kit

Test Abbott RealTime HCV pro DBS používá RT-PCR k generování amplifikovaného produktu z genomu HCV RNA v lidských vzorcích DBS. Kroky testu Abbott RealTime HCV pro DBS se sestávají z předanalytické léčby DBS, přípravy vzorku, RT-PCR sestavy, amplifikace, detekce a hlášení výsledků. Před zavedením vzorku do systému m2000sp se provádí předanalytická léčba DBS pomocí sady Abbott mSample Preparation System DBS Buffer Kit. Po provedení předanalytické léčby DBS se všechny následující kroky provedou automaticky systémy m2000sp a m2000rt. Další podrobnosti o přípravě vzorku, RT-PCR sestavě, amplifikaci a detekci naleznete v příbalovém letáku testu Abbott RealTime HCVe (Kat. č. 4J86).

ZESILOVACÍ ČINIDLO PRO ROZŠÍŘENÉ POUŽITÍ

Volitelná funkce pro rozšířené použití zesilovacího činidla umožňuje použít sady zesilovacích činidel a IC celkem 2krát. Sady zesilovacích činidel obsahující připravenou hlavní směs mohou být skladovány při teplotě –10 °C nebo nižší, uzavřeny víčkem a chráněny před světlem po dobu až 14 dnů před druhým použitím. Vnitřní kontrola (IC) může být uchovávána při teplotě –10 °C nebo nižší po dobu až 14 dnů před druhým použitím. Druhé použití by nemělo překročit datum spotřeby činidla.

Přehled této funkce je uveden v dodatku 1 tohoto návodu k použití.

V tomto návodu k použití budou sady zesilovacích činidel a IC, které ještě nebyly použity, označovány jako nové sady zesilovacích činidel a IC (tj. počáteční použití). Sady zesilovacích činidel, které byly použity jednou a obsahují připravenou hlavní směs, budou označovány jako parciální sady zesilovacích činidel. Ampulky s IC, které byly použity jednou, budou označovány jako parciální ampulky s IC.

PREVENCE KONTAMINACE NUKLEOVÝMI KYSELINAMI

Viz příbalový leták testu Abbott RealTime HCV (Kat. č. 4J86).

REAKČNÍ ČINIDLA

Viz příbalový leták testu Abbott RealTime HCV (Kat. č. 4J86).

VAROVÁNÍ A UPOZORNĚNÍ

IVD

Pro diagnostické použití **In Vitro**

Test Abbott RealTime HCV pro DBS není určen pro screening krve, plazmy, séra nebo tkání u HCV, ani pro použití jako diagnostický test pro potvrzení přítomnosti infekce HCV.

BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

Viz příbalový leták testu Abbott RealTime HCV (Kat. č. 4J86). Test RealTime HCV pro DBS používá pouze nástroje *m2000sp* a *m2000rt*

ZVLÁŠTNÍ OPATŘENÍ

Opatření pro manipulaci se vzorky DBS

Test Abbott RealTime HCV pro DBS je určen pouze pro použití se vzorky plné krve nebo DBS, které byly zpracovány a uloženy tak, jak je popsáno v části **ODBĚR, SKLADOVÁNÍ A PŘEPRAVA VZORKŮ DO MÍSTA VYŠETŘENÍ**.

Viz příbalový leták testu Abbott RealTime HCV (Kat. č. 4J86).

Opatření pro manipulaci specifická pro DBS:

- Zajistěte, aby kartičky DBS byly před uložením do sáčku s desikanty zcela vysušeny. Nevhodné kapky, sušení, skladování a manipulace s DBS mohou vést k nepřesným výsledkům testů.
- Aby nedošlo k přenosu kontaminace, použijte pro každý vzorek DBS novou špičku pipety, když odebíráte kapku z perforované kartičky DBS. Pokud se používá neperforovaná kartička DBS, zajistěte, aby nástroj použitý k vyjmutí kapky byl dekontaminován před a po kontaktu se vzorkem DBS.

Pracovní oblasti

Pro použití Abbott *m2000sp* a Abbott *m2000rt* jsou doporučeny pouze dvě vyhrazené oblasti, oblast přípravy vzorků a oblast zesílení.

Viz příbalový leták testu Abbott RealTime HCV (Kat. č. 4J86).

Kontaminace aerosolem

Viz příbalový leták testu Abbott RealTime HCV (Kat. č. 4J86).

Kontaminace a inhibice

Viz příbalový leták testu Abbott RealTime HCV (Kat. č. 4J86).

Kontaminace z externího zesíleného přípravku obsahujícího dU

Laboratoře, které používají nebo i používaly zesilovací testy HCV, které zahrnují zpracování zesíleného přípravku po PCR, mohou být kontaminovány zesíleným přípravkem obsahujícím dU. Taková kontaminace může způsobit nepřesné výsledky testu Abbott RealTime HCV pro DBS. Bližší informace naleznete v části **Sledování přítomnosti kontaminace v laboratoři** příbalového letáku testu Abbott RealTime HCV (Kat. č. 4J86). Pokud jsou negativní kontroly trvale reaktivní nebo pokud je pravděpodobné, že došlo ke kontaminaci zesíleným přípravkem HCV obsahujícím dU, doporučuje se, aby se laboratoř, v případě její neúspěšné dekontaminace, uchýlila postup kontroly kontaminace uracil-N-glykosylázou (UNG).

POKYNY PRO SKLADOVÁNÍ

Zesilovací sada Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit (Kat. č. 4J86-90)

-  **Nové a parciální** sady zesilovacích činidel Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Packs a vnitřní kontrola (IC) ampulky musí být skladovány při teplotě – 10 °C nebo nižší, pokud nejsou používány. Je třeba dbát na oddělení zesilovací sady reakčních činidel Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Pack, která se používá, od přímého kontaktu se vzorky, kalibrátory a kontrolami.
- Parciální** zesilovací sady reakčních činidel a IC musí být po prvním použití skladovány při teplotě – 10 °C nebo nižší, uzavřeny víčkem, ve svislé poloze a chráněny před světlem. Jsou-li takto skladovány, mohou být **parciální** zesilovací sady reakčních činidel s připravenou hlavní směsí použity podruhé během 14 dnů od prvního použití. IC lze také použít podruhé do 14 dnů od rozmrazení, pokud je skladován s uzávěrem o teplotě –10 °C nebo nižší. Po 2 použitích je třeba zesilovací sady s reakčním činidlem a IC zlikvidovat. Druhé použití by nemělo překročit datum spotřeby činidla.

Kontrolní sada Abbott RealTime HCV Control Kit (Kat. č. 4J86-80)

-  **Negativní a pozitivní kontroly** Abbott RealTime HCV Negative and Positive Controls musí být skladovány při teplotě – 10 °C nebo nižší.

Kalibrační sada Abbott RealTime HCV Calibrator Kit (Kat. č. 4J86-70)

-  **Kalibrátory** Abbott RealTime HCV Calibrator A a Calibrator B musí být skladovány při teplotě – 10 °C nebo nižší.

PŘEPRAVNÍ PODMÍNKY

Viz příbalový leták testu Abbott RealTime HCV (Kat. č. 4J86).

INDIKACE NESTABILITY NEBO ZHORŠOVÁNÍ STAVU ČINIDEL

Viz příbalový leták testu Abbott RealTime HCV (Kat. č. 4J86).

POSTUP PRO PŘÍSTROJE

Před provedením testu musí být z Abbott RealTime HCV *m2000* ROW System Combined Application CD-ROM (seznam 1L69-040 nebo vyšší) v systémech Abbott *m2000sp* a Abbott *m2000rt* nainstalován soubor aplikací Abbott RealTime HCV pro DBS. Podrobné informace o instalaci souborů aplikací naleznete v provozních příručkách Abbott *m2000sp* a Abbott *m2000rt*, v části provozní pokyny.

ODBĚR, SKLADOVÁNÍ A PŘEPRAVA VZORKŮ NA MÍSTO TESTOVÁNÍ

Odběr a skladování vzorků

- K přípravě DBS použijte EDTA plnou krev nebo píchnutí do prstu. Plnou krev EDTA je třeba během skladování a přepravy udržovat při kontrolovaných teplotních podmínkách (2 °C až 8 °C po dobu max. 48 hodin nebo při pokojové teplotě nepřesahující 30 °C po dobu max. 24 hodin).
- Odebranou plnou krev EDTA ve zkumavce je nutno před aplikací na kartičky důkladně promíchat jemným převrácením zkumavky. Aplikujte krev, vytvořte kapky o velikosti 12 milimetrů, na papírové kartičky Ahlstrom-Munktel TFN nebo Whatman 903 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.
- Kartičku vysušte na vzduchu při pokojové teplotě po dobu minimálně 3 hodin. Každou kartičku vložte do uzavíratelného sáčku se sáčky s vysoušedlem (alespoň 2 až 3 balení s vysoušedlem).
- Kartičky DBS se vzorky lze před zpracováním testu skladovat za podmínek uvedených v tabulce níže.

Skladování kartiček DBS se vzorky		
Stav	Maximální doba skladování	
2 °C až 30 °C při přirozené vlhkosti	18 týdnů	
≤37 °C při přirozené vlhkosti	12 týdnů	
≤45 °C při přirozené vlhkosti	8 týdnů	
≤38 °C při vysoké vlhkosti (≤ 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 odesílejte podle doporučené skladovací teploty a doby uvedené v části **Odběr a skladování vzorků** výše. U vnitrostátní a mezinárodní přepravy by měly být vzorky baleny a označeny v souladu s platnými státními, federálními a mezinárodními předpisy týkajícími se přepravy klinických, diagnostických nebo biologických vzorků.

POSTUP TESTU ABBOTT REALTIME HCV PRO DBS

Potřebný materiál, který není součástí dodávky

- Zesilovací sada reakčních činidel Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit (Kat. č. 4J86-90)
- Kalibrační sada Abbott RealTime HCV Calibrator Kit (Kat. č. 4J86-70)
- Kontrolní sada Abbott RealTime HCV Control Kit (Kat. č. 4J86-80)

Pro oblast přípravy Abbott *m2000sp* Instrument Sample Preparation Area

- Sada Abbott *mSample* Preparation System DBS Buffer Kit (Kat. č. 09N02-001)
- Nástroj Abbott *m2000sp* instrument (Kat. č. 9K14-01, 9K14-02)
- Systém Abbott *mSample* Preparation System (4 × 24 Preps) (Kat. č. 04J70-24)

- Kalibrované přesné pipety schopné dodat 20 až 1000 µl (při použití UNG mohou být vyžadovány kalibrované přesné pipety s kapacitou < 20 µl).
- Špičky k pipetám s bariérou proti aerosolu pro pipety 20 až 1000 µl (při použití UNG požadovány mohou být požadovány bariérové špičky pro aerosoly schopné dodat < 20 µl.)
- Vířivá míchačka
- Master Mix Tube (Kat. č. 04J71-80)
- Abbott 96-Deep-Well Plate (Kat. č. 04J71-30)
- 5 ml Reaction Vessels (Kat. č. 04J71-20)
- 200 ml reagent vessels (Kat. č. 04J71-60)
- Abbott 96-Well Optical Reaction Plate (Kat. č. 04J71-70)
- Abbott Optical Adhesive Covers (Kat. č. 04J71-75)
- Abbott Adhesive Cover Applicators (Kat. č. 9K32-01)
- Abbott Splash-Free Support Base (Kat. č. 9K31-01)
- Abbott RealTime HCV m2000 ROW System Combined Application CD-ROM (Kat. č. 1L69-040 nebo vyšší)
- Sada m2000 System 13mm DBS-PoS Set (Kat. č. 09N03-001)
- 1,4 ml Micro Vial 15 mm Caps (Kat. č. 3N20-01) volitelné
- Uracil N-Glycosylase (UNG)^a (Kat. č. 6L87-02)

^aV případě potřeby, dle části v tomto návodu k použití **Kontaminace z externího zesíleného přípravku obsahujícího dU.**

Pro Abbott m2000rt Instrument Amplification Area

- Nástroj Abbott m2000rt instrument (Kat.č. 9K15-01)
- Abbott RealTime HCV m2000 ROW System Combined Application CD-ROM (Kat. č. 1L69-040 nebo vyšší)
- Kalibrační sada Abbott m2000rt Optical Calibration Kit (Kat. č. 04J71-93)

Další materiály

- Biologicky bezpečný kabinet schválený pro práci s infekčními materiály
- Uzavíratelný sáček pro kartičku DBS
- Sada s pohlcovačem vlhkosti pro kartičku DBS
- Papírová kartička Ahlstrom-Munktel TFN a/nebo Whatman 903
- Uzavíratelný plastový sáček pro likvidaci reakční desky s 96 jamkami
- Voda bez RNázy (Eppendorf nebo ekvivalentní)^b
- Mikrocentrifugační zkumavky o objemu 1,7 ml pro molekulární biologii (Dot Scientific, Inc. nebo ekvivalentní)^b
- Aplikátory s bavlněnou špičkou (Puritan nebo ekvivalentní)^b

^b**Poznámka:** Tyto 3 položky se používají v postupu pro monitorování přítomnosti kontaminace v laboratoři. Viz část **POSTUPY KONTROLY KVALITY** v příbalovém letáku k testu Abbott RealTime HCV (Kat.č. 4J86).

Bezpečnostní opatření postupu

- Před zpracováním vzorků si pečlivě přečtete pokyny v tomto návodu k použití.
- Zesilovací činidla a vnitřní kontrola mohou být použity až 2krát, jak je popsáno v tomto návodu k použití. Kalibrátory Abbott RealTime HCV Calibrators, ampulky s negativní kontrolou, s nízkou pozitivní kontrolou a s vysokou pozitivní kontrolou jsou určeny pouze k jednorázovému použití a po použití musí být zlikvidovány.
- Při pipetování vzorků nebo IC používejte špičky pipet s bariérou proti aerosolu nebo jednorázové pipety pouze jednou. Aby se při pipetování zabránilo kontaminaci válce pipety, je třeba dbát na to, aby se válec pipety nedotýkal vnitřku zkumavky na vzorky nebo nádoby. Doporučuje se použít prodloužené špičky pipet s bariérou proti aerosolu.
- Postupy sledování přítomnosti zesilovacích přípravků jsou uvedeny v části **POSTUPY KONTROLY KVALITY**.
- Aby se snížilo riziko kontaminace nukleovými kyselinami, očistěte a dezinfikujte rozlité vzorky včetně použití tuberkulinového dezinfekčního prostředku, jako je 1,0 % chlornan sodný nebo jiný vhodný dezinfekční prostředek.
- Kalibrátory a kontroly Abbott RealTime HCV Calibrators and Controls musí být připraveny spolu se vzorky, které mají být testovány. Použití Abbott RealTime HCV Controls and Calibrators je nedílnou součástí provádění testu Abbott RealTime HCV. Viz část **POSTUPY KONTROLY KVALITY**.
- Protokol Abbott m2000sp Master Mix Addition musí být zahájen do 1 hodiny po dokončení přípravy vzorku.
- Pokud je protokol Abbott m2000sp Master Mix Addition přerušeno, pak zesilovací činidla, která byla použita podruhé, zlikvidujte. Nové sady reakčních činidel, které se používají poprvé, lze uschovat a uložit pro pozdější použití, jak je popsáno v této příručce.

- Protokol m2000rt musí být zahájen do 50 minut od zahájení protokolu Master Mix Addition. Pokud není provoz přístroje Abbott m2000rt zahájen do 50 minut nebo je přerušeno nebo je od něj upuštěno, zapečťte Abbott 96-Well Optical Reaction Plate do uzavíratelného plastového sáčku a zlikvidujte podle návodu k obsluze Abbott m2000rt spolu s rukavicemi použitými k manipulaci s deskou.

DŮLEŽITÉ: Zesilovací reakční činidla, která budou použita podruhé, musí být skladována při teplotě – 10 °C nebo nižší do 50 minut od zahájení protokolu pro přidání hlavní směsi.

PROTOKOL TESTU: VZORKY DBS S POUŽITÍM ABBOTT m2000sp A ABBOTT m2000rt INSTRUMENTS

Podrobný popis, jak provést protokol Abbott m2000sp instrument a Abbott m2000rt instrument viz provozní příručka část pokyny k použití Abbott m2000sp a Abbott m2000rt. Protokol DBS vyžaduje software Abbott m2000sp verze 6.0 nebo vyšší. Postupujte podle provozní příručky Abbott m2000sp (Kat. č. 09K20 verze 6 nebo vyšší).

V každém cyklu lze zpracovat celkem 96 vzorků. V každém cyklu je zahrnuta negativní kontrola, nízká pozitivní kontrola a vysoká pozitivní kontrola, a proto je možné zpracovat maximálně 93 vzorků DBS na cyklus, pokud nejsou kalibrátory zahrnuty. Procesní kalibrátory a kontroly přímo jako kapalné vzorky; kroky 1 až 5 jsou pouze pro DBS. Nezpracovávejte vzorky plazmy nebo séra v žádném cyklu, kde se používá protokol DBS. Pro každý vzorek DBS by se měla pro celý postup zpracování vzorku použít jedna Abbott Master Mix Tube. Zajistěte, aby vzorky DBS byly během zpracování označeny.

1. Naplňte hlavní směšovací zkumavku Abbott Master Mix Tube 1,3 mililitry pufracího roztoku mDBS z Abbott mSample Preparation system DBS Buffer Kit (Kat. č. 09N02-001).
- POZNÁMKA: V tomto kroku nepoužívejte pufrací roztok mLysis Buffer ani žádná jiná činidla**
2. Podržte perforovanou papírovou kartičku DBS nad Abbott Master Mix Tube.
3. Vytlačte kruh DBS z kartičky pomocí čisté špičky pipety, 1 kruh DBS na jednu Master Mix Tube. Každá DBS by měla mít průměr přibližně 12 mm.

POZNÁMKA: PRO KAŽDÝ VZOREK DBS POUŽIJTE NOVOU ŠPIČKU PIPETY, ABY SE ZABRÁNILO KŘÍŽOVÉ KONTAMINACI.

Alternativně z neperforovaného papíru DBS vyřízněte 1 celou DBS (o průměru přibližně 12 mm) pro každý vzorek a přeneste jej do Master Mix Tube.

POZNÁMKA: Vyhněte se přímému kontaktu řezného povrchu se vzorky DBS. Dekontaminujte nástroj použitý k vyříznutí DBS mezi vzorky, je-li to nutné, podle správné laboratorní praxe.

4. Poklepáním na zkumavku nebo zatlačením DBS do pufru pomocí špičky pipety zajistěte, aby byl kruh DBS zcela ponořen v pufru mDBS Buffer.
- POZNÁMKA: Pokud se k zatlačení DBS do pufru používáte pipetovací špičku, zajistěte, aby nedošlo ke ztrátě objemu pufru DBS z důvodu zachycení kapaliny na špičce anebo absorpcí pufru filtrem špičky.**
5. Ručně protřepejte nebo zaviřte zkumavky se vzorky. Vzorky nevklaďte do vířivé míchačky. Inkubujte po dobu 30 minut (± 2 minuty) při pokojové teplotě.

6. Mezitím rozmrazte kontrolní vzorky a IC při teplotě 15 °C až 30 °C nebo při teplotě 2 °C až 8 °C. Kalibrátory rozmrazujte při teplotě 15 °C až 30 °C nebo při teplotě 2 °C až 8 °C pouze v případě, že provádíte kalibrační cyklus.

POZNÁMKA: Po rozmrazení lze kontrolní testy, IC a kalibrátory skladovat při 2 °C až 8 °C po dobu až 24 hodin před použitím.

7. Před použitím protřepejte každý testovací kalibrátor a každou kontrolu 3krát po dobu 2 až 3 sekund ve vířivé míchačce. Ujistěte se, že obsah každé ampulky je na dně, poklepáním ampulkou o pracovní stůl, aby se tekutina dostala na dno ampulky. Zajistěte, aby se nevytvářely bubliny nebo pěna; pokud jsou přítomny, odstraňte je pomocí sterilní špičky pipety a pro každou ampulku použijte novou špičku.
8. Zesilovací činidla rozmrazte při teplotě 15 °C až 30 °C nebo při teplotě 2 °C až 8 °C a skladujte při teplotě 2 °C až 8 °C, dokud nejsou zapotřebí pro zesílení hlavní směsi.
9. Vyberte nové a/nebo parciální sady zesilovacích činidel, které se používají v cyklu. Viz provozní příručka Abbott m2000sp (Kat. č. 09K20 verze 6 nebo vyšší), část provozní pokyny, kde jsou uvedeny pokyny týkající se správy zásob sad zesilovacích činidel. Sady zesilovacích činidel musí mít stejné číslo šarže. Rozmrazte nová zesilovací činidla při teplotě 15 °C až 30 °C nebo při teplotě 2 °C až 8 °C a skladujte je při teplotě 2 °C až 8 °C, dokud nejsou potřeba pro zesílení hlavní směsi.

POZNÁMKA: Po rozmrazení lze nová zesilovací činidla skladovat při teplotě 2 °C až 8 °C po dobu až 24 hodin, pokud nejsou okamžitě použita. Sady parciálních zesilovacích činidel, která se používají podruhé, by se před použitím NEMĚLA skladovat při teplotě 2 °C až 8 °C. Měly by být uchovávány při teplotě – 10 °C nebo nižší, dokud je není nutné přidat do hlavní směsi. Po vyjmutí z mrazicího boxu by kumulativní vystavení pokojové teplotě nemělo přesáhnout 25 minut, včetně případů, kdy jsou sady odstraněny ze skladu, ale nepoužívají se. Pokud je překročena doba 25 minut, parciální sady zesilovacích činidel zlikvidujte.

V následující tabulce je uveden počet potřebných činidel pro přípravu vzorků a ampulek IC na základě počtu reakcí.

Činidla pro přípravu vzorků a požadavky na interní kontrolu				
Reakční činidla	1 až 24 reakcí	25 až 48 reakcí	49 až 72 reakcí	73 až 96 reakcí
mMicroparticles	1 ampulka	2 ampulky	2 ampulky	2 ampulky
mLysis	1 ampulka	2 ampulky	3 ampulky	4 ampulky
mWash 1	1 ampulka	2 ampulky	3 ampulky	4 ampulky
mWash 2	1 ampulka	2 ampulky	3 ampulky	4 ampulky
mElution Buffer	1 ampulka	2 ampulky	3 ampulky	4 ampulky
IC ^a	1 nová ampulka nebo 1 parciální ampulka	1 nová ampulka nebo 2 parciální ampulky	2 nové ampulky nebo 3 parciální ampulky	2 nové ampulky nebo 4 parciální ampulky

^a Lze použít kombinaci nových a parciálních ampulek IC.

- Lahvičky pro přípravu vzorku Abbott mSample Preparation opatrně převraťte, aby se zajistil homogenní roztok. Pokud po otevření zjistíte přítomnost krystalů v některé z lahviček s činidlem, nechte činidlo při pokojové teplotě vyvěřit, dokud krystaly nezmizí. Činidla nepoužívejte, dokud se krystaly nerozpustí.
- Před použitím každý IC 3 protřepejte ve vířivé míchačce po dobu 2 až 3 sekund.
- Použijte kalibrovanou přesnou pipetu **URČENOU PRO POUŽITÍ POUZE PRO INTERNÍ KONTROLU** a přidejte 500 µl IC do každé lahvičky pufru mLysis Buffer. Promíchejte tak, že nádobu 5 až 10 krát opatrně převrátíte, aby se minimalizovala pěna. Parciální ampulky IC lze znovu uzavřít a uložit při teplotě – 10 °C nebo nižší pro druhé použití.
- Umístěte nízké a vysoké pozitivní kontroly, negativní kontrolu a kalibrátory, je-li to možné, do stojanů na vzorky Abbott m2000sp.
- Po dokončení inkubace ručně protřepejte nebo promíchejte zkumavky na vzorky DBS a poté je vložte do stojanů na vzorky Abbottm2000sp.
POZNÁMKA: Ujistěte se, že stojany na vzorky Abbott m2000sp byly kalibrovány speciálně pro postup Abbott RealTime HCV pro DBS.
- Pečlivě naplňte stojany na vzorky, aby nedošlo k rozstříku. Při použití musí být čárové kódy na štítcích zkumavek pro skenování umístěny vpravo. Ujistěte se, že je každá zkumavka bezpečně umístěna ve stojanu na vzorky tak, aby spodní část zkumavky dosáhla na vnitřní spodní část stojanu.
- Do Abbottm2000spvyskládejte naplněné stojany na vzorky v následujících pozicích stojanu na vzorky, přičemž první stojan je na pracovní stanici nejdále vpravo a další stojan se postupně nachází nalevo od prvního stojanu.
- Umístěte 5 ml reakční nádoby do nosiče subsystému Abbott m2000sp 1 ml.
- Vložte reakční činidla Abbott mSample Preparation System a Abbott 96 Deep-Well Plate do pracovní stanice m2000sp, jak je popsáno v provozní příručce Abbott 2000sp, v části provozní pokyny.
- Na obrazovce Protocol vyberte soubor aplikace HCV RNA DBS. Spust'te protokol pro extrakci vzorku podle popisu v provozní příručce Abbott m2000, část provozní pokyny.

20. Zadejte kalibrátor (je-li to zapotřebí, pokud nebyla kalibrační křivka uložena v Abbott m2000rt) a hodnoty specifické pro kontrolní šarži v extrakci vzorku: Nastavení pracovní stanice, pole kalibrátoru a kontroly. Hodnoty specifické pro danou šarži jsou specifikovány v každé Abbott RealTime HCV Calibrator and Control Kit Card.

21. Protokol Abbott m2000sp Master Mix Addition (krok 28) musí být zahájen do 1 hodiny po dokončení přípravy vzorku.

POZNÁMKA: Před manipulací se zesilovacími činidly vyměňte rukavice

22. Po dokončení přípravy vzorku vložte zesilovací činidla a zkumavku s hlavní směsí (je-li třeba) do pracovní stanice Abbott m2000sp. V následující tabulce je uveden počet potřebných sad zesilovacích činidel na základě počtu reakcí. Pokud se používá pouze 1 sada zesilovacích činidel, hlavní směšovací zkumavka není zapotřebí.

Požadavky na sady zesilovacích činidel Amplification Reagent Pack ^a			
1 až 24 reakcí	25 až 48 reakcí	49 až 72 reakcí	73 až 96 reakcí
1 je-li nová; až 4 s parciálními sadami	2 jsou-li nové; až 4 s parciálními sadami	3 jsou-li nové; až 4 s parciálními sadami	4 nové nebo parciální sady

^a viz provozní příručka Abbott m2000sp (Kat. č. 09K20 verze 6 nebo vyšší), kde jsou uvedeny pokyny pro správu zásob, jak určit maximální počet reakcí, které lze testovat s vybranými parciálními sadami.

- Parciální sady zesilovacích činidel lze použít pouze na stejném přístroji Abbott m2000sp, který se používá pro počáteční přípravu sady činidel. Při druhém použití sady zesilovacích činidel na jiném přístroji dojde k chybě, která může cyklus zpozdít.
- Parciální a nové sady zesilovacích činidel mohou být používány společně.

DŮLEŽITÉ: Parciální sady zesilovacích činidel by měly být skladovány při teplotě – 10 °C nebo nižší až bezprostředně do druhého použití. Před umístěním parciální(ch) sad/y do pracovní stanice Abbott m2000sp zkontrolujte, zda je hlavní směs rozmrazena. Po vyjmutí z – 10 °C nebo chladnějšího skladu musí být parciální sady zesilovacích činidel podruhé použity do 25 minut nebo zlikvidovány. To platí pro kumulativní expozici při pokojové teplotě, včetně případů, kdy jsou sady vyjmuty ze skladu, ale nepoužívají se.

23. Před otevřením zesilovacích činidel se ujistěte, že se obsah nových sad činidel nachází na dně ampule tak, že ampulí ve svislé poloze poklepejte 5 až 10 krát o lavičku.

- Při druhém použití parciální sadou zesilovacích činidel neklepejte. Poklepání může vést ke ztrátě objemu hlavní směsi ve víčku.

24. Sejměte víčka. Pokud bude nová sada zesilovacích činidel uložena pro druhé použití, bude třeba ampule znovu uzavřít. Pokud plánujete opětovné použití původních víček ampulí s činidly, původní víčka uschovejte. Pokud plánujete použít nová víčka k uzavření ampulí s činidly, mohou být původní víčka zlikvidována.

Pokud se ke kontrole kontaminace používá uracil N-glykosyláza (UNG), postupujte podle níže uvedených pokynů.

25. Použijte PIPETU VYHRAZENOU POUZE PRO POUŽITÍ S ČINIDLY pro přidání specifikovaného objemu 1 µl UNG (Kat. č. 6L87-02) do ampule s činidly v pozici 3 nových a parciálních sad zesilovacích činidel. Ručně promíchejte jemným pipetováním nahoru a dolů co se týče všech parciálních sad. Nové sady nemíchejte.

- Pomocí níže uvedené tabulky určete objem přípravku UNG, který se přidá do ampule s činidlem v pozici 3 nových a parciálních sad zesilovacích činidel. Ampule s činidlem v pozici 3 nové sady činidel obsahuje termostabilní enzym rTth polymerázy. Ampule s činidlem v pozici 3 parciální sady obsahuje hlavní směs.

Objem přípravku UNG, který se přidá do ampule s činidly v pozici 3 každé sady zesilovacích činidel	
Zbývající testy v sadě	Přidejte tento 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 přípravku UNG přidaného do ampule s činidlem v pozici 3 závisí na počtu testů, které zbývají v sadě činidel, a ne na počtu vzorků, které se mají spustit. Pokyny týkající se správy inventáře sady zesilovacích činidel a určení počtu zbývajících testů v sadě činidel naleznete v provozní příručce Abbott *m2000sp*.

- Do pracovní stanice Abbott *m2000sp* se vlevo od nových sad zesilovacích činidel položte parciální zesilovací sady.
- Zkontrolujte, zda jsou sady zesilovacích činidel pevně usazeny na přístroji.
- Vyberte příslušnou desku s hlubokými jamkami, která odpovídá příslušné extrakci přípravy vzorku. Spusťte protokol Abbott *m2000sp* Master Mix. Postupujte podle pokynů uvedených v provozní příručce Abbott *m2000sp*, v části provozní pokyny.

POZNÁMKA: Obsluha by neměla ručně vyplňovat prázdné/ nevyplněné jamky Abbott 96-Well Optical Reaction Plate.

- Po dokončení extrakce vzorku Abbott *m2000sp* automaticky vyplní všechny prázdné jamky Abbott 96-Well Optical Reaction Plate puřrem *mElution*, pokud je v průběhu cyklu zpracováno více než 48 vzorků. Plnění desky se neprovádí u sérií obsahujících 48 vzorků nebo méně.
- Pokud k tomu přístroj vyzve, nosič činidla 2 zůstane na místě, který obsahuje minimálně nádobu s činidlem pro puřr *mElution Buffer* (nosič činidla 2, umístění 6). Pokud byla tato nádobu s činidlem odstraněna, umístěte novou nádobu s činidlem se štítkem *mElution Buffer* do nosiče činidel 2, umístění 6. Systémová kapalina se přidá do nádoby s činidlem a použije se k plnění prázdných jamek. Po dokončení tohoto procesu bude systém pokračovat s přidáním hlavní směsi.

POZNÁMKA: Návod k použití systému automatického plnění desek naleznete v příručce Abbott *m2000sp* (Kat. č. 09K20 verze 6 nebo vyšší), část 5, Provozní pokyny Režim uzavření extrakce vzorku.

- Protokol Abbott *m2000rt* (krok 33) musí být zahájen do 50 minut od zahájení protokolu Master Mix Addition (krok 28).

POZNÁMKA: Pokud je série z jakéhokoli důvodu přerušena po kroku 28 a pokud bude protokol Abbott *m2000sp* Master Mix Addition Protocol (krok 28) opakován, je nutné použít novou desku Abbott 96-Well Optical Reaction Plate.

- Přepněte na inicializaci přístroje Abbott *m2000rt* v oblasti zesílení.

POZNÁMKA: Abbott *m2000rt* potřebuje 15 minut k zahřátí.

POZNÁMKA: Před návratem do oblasti přípravy vzorků sejměte rukavice.

- Poté, co přístroj Abbott *m2000sp* doplnil vzorky a hlavní směs, utěsněte Abbott 96-Well Optical Reaction Plate podle provozní příručky přístroje Abbott *m2000sp*, části provozní pokyny.
- Utěsněnou optickou reakční desku umístěte do základny Abbott Splash-Free Support Base pro přenos do přístroje Abbott *m2000rt*.
Pokud používáte uracil N-glykosylázu (UNG), postupujte podle následujících pokynů:
- Utěsněnou optickou reakční desku přeneste do základny Abbott Splash-Free Support Base a nechte inkubovat při pokojové teplotě (od 15 do 30 °C) po dobu 10 minut. Po inkubaci při pokojové teplotě přeneste Abbott 96-Well Optical Reaction Plate na základnu Abbott Splash-Free Support Base do přístroje Abbott *m2000rt*.
- Umístěte Abbott 96-Well Optical Reaction Plate do přístroje Abbott *m2000rt*. Na obrazovce Protocol vyberte soubor aplikace HCV RNA DBS. Spusťte protokol dle pokynů provozní příručky Abbott *m2000rt*, část provozní pokyny.

POZNÁMKA: Doporučuje se přenos pořadí testů pomocí disku CD-ROM nebo síťového připojení s funkcemi exportu a importu softwaru *m2000sp* a *m2000rt*. Pokud vytváříte pořadí testu Abbott *m2000rt* ručně, zadejte ID vzorků do odpovídajících umístění zásobníku PCR podle mřížky „Wells for Selected Plate“ (Jamky pro vybranou desku), která se nachází na podrobné obrazovce „PCR Plate Results“ (výsledky PCR desky) na zařízení Abbott *m2000sp*. Viz část 5 provozní příručky Abbott *m2000sp*.

- Má-li být použita parciální sada zesilovacích činidel podruhé, uzavřete 3 ampule s činidly uloženými víčky nebo novými víčky (Kat. č. 3N20-01) a činidla ihned uložte při teplotě – 10 °C nebo nižší, chráněné před světlem a ve svislé poloze. Všechny sady zesilovacích činidel, které jsou vyčerpány nebo byly použity dvakrát, zlikvidujte.

DŮLEŽITÉ: Zesilovací reakční činidla, která budou použita podruhé, musí být skladována při teplotě – 10 °C nebo nižší do 50 minut od zahájení protokolu pro přidání hlavní směsi.

POSTUPY NÁSLEDNÉHO ZPRACOVÁNÍ

- Vyjměte Abbott 96 Deep-Well Plate z pracovní stanice a zlikvidujte ji podle provozní příručky Abbott *m2000sp*.
- Umístěte Abbott 96-Well Optical Reaction Plate do uzavíratelného plastového sáčku a zlikvidujte ji podle provozní příručky Abbott *m2000rt* spolu s rukavicemi použitými k manipulaci s deskou.
- Před dalším použitím vyčistěte Abbott Splash-Free Support Base podle provozní příručky Abbott *m2000rt*.

POSTUPY KONTROLY KVALITY

Abbott *m2000rt* Optical Calibration

Viz příbalový leták testu Abbott RealTime HCV (Kat. č. 4J86).

Kalibrace testu

Viz příbalový leták testu Abbott RealTime HCV (Kat. č. 4J86).

Pro testování DBS s použitím *m2000sp* a *m2000rt*: Jakmile je kalibrace Abbott RealTime HCV přijata a uložena, lze ji používat po dobu 6 měsíců. Během této doby mohou být všechny následující vzorky testovány bez další kalibrace, pokud:

- Je použita sada Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit s novým číslem šarže.
- Je použit systém Abbott *mSample* Preparation System (4 x 24 Preps) s novým číslem šarže.
- Je nainstalován nový aplikační soubor Abbott RealTime HCV RNA DBS

Detekce inhibice

Viz příbalový leták testu Abbott RealTime HCV (Kat. č. 4J86).

Negativní a pozitivní kontroly

Viz příbalový leták testu Abbott RealTime HCV (Kat. č. 4J86).

Sledování přítomnosti kontaminace v laboratoři

Viz příbalový leták testu Abbott RealTime HCV (Kat. č. 4J86).

VÝSLEDKY PRO VZORKY DBS

Vykázaný výsledek koncentrace vzorku DBS z protokolové série *m2000rt* DBS představuje koncentraci viru HCV v plazmě vzorku plné krve, ze kterého se vzorek DBS odebírá. Přístroj Abbott *m2000rt* automaticky hlásí výsledky na pracovní stanici Abbott *m2000rt*. Výsledky testu lze nahlásit v mezinárodních jednotkách IU/ml nebo v log IU/ml.

Interpretace výsledků

Výsledek	Interpretace
Nedetekováno	Cíl nebyl detekován
< 2,66 log IU/ml ^a	Detekován
2,66 až 8,00 log IU/ml	
> 8,00 log IU/ml	> ULQ ^b

^a 462 IU/ml

^b ULQ = horní limit kvantifikace

OMEZENÍ POSTUPU

- PRO DIAGNOSTICKÉ POUŽITÍ IN VITRO**
- Optimální provedení tohoto testu vyžaduje vhodný odběr, skladování a přepravu vzorků do testovacího místa (viz část **ODBĚR, SKLADOVÁNÍ A PŘEPRAVA VZORKŮ** tohoto příbalového letáku).
- Vzorky plné krve odebrané ve zkumavkách EDTA lze použít k vytvoření DBS, které jsou testovány testem Abbott RealTime HCV pro DBS. Použití jiných antikoagulancií nebylo ověřeno testem Abbott RealTime HCV pro DBS.
- Použití testu Abbott RealTime HCV pro DBS je omezeno na personál, který byl vyškolen v postupech přípravy a předběžného zpracování DBS, testu molekulární diagnostiky a systému Abbott *m2000*.
- Přístroje a testovací postupy snižují riziko kontaminace zesilovacím prostředkem. Kontaminace nukleovými kyselinami z kalibrátorů, pozitivních kontrol nebo vzorků však musí být kontrolována správnou laboratorní praxí a pečlivým dodržováním postupů uvedených v tomto příbalovém letáku.
- Stejně jako u jakéhokoli diagnostického testu by výsledky testu Abbott RealTime HCV pro DBS měly být interpretovány spolu s dalšími klinickými a laboratorními nálezy. Nelze předpokládat, že vzorek s výsledkem „Nedetekováno“ je negativní pro HCV RNA.
- Nevhodný odběr, sušení, skladování a manipulace s kartičkami DBS mohou vést k nepřesným výsledkům testu.
- Lze použít kartičky Ahlstrom-Munktel TFN a Whatman 903 DBS. Použití jiných kartiček nebylo u testu Abbott RealTime HCV ověřeno.

SPECIFICKÉ FUNKČNÍ CHARAKTERISTIKY VZORKŮ DBS

Limit detekce (LD)

LD testu Abbott RealTime HCV je 462 IU/ml se vzorkem typu DBS. LD byl stanoven testováním vzorků DBS připravených se sériemi ředění mezinárodními standardy WHO pro virus hepatitidy C RNA zředěného v HCV negativní plné krvi. Testování každé koncentrace HCV RNA bylo provedeno s 4 šaržemi zesilovacích činidel po dobu 3 dnů. Výsledky, reprezentativní pro analytickou citlivost testu Abbott RealTime HCV pro DBS, jsou shrnuty v **Tabulce 1**.

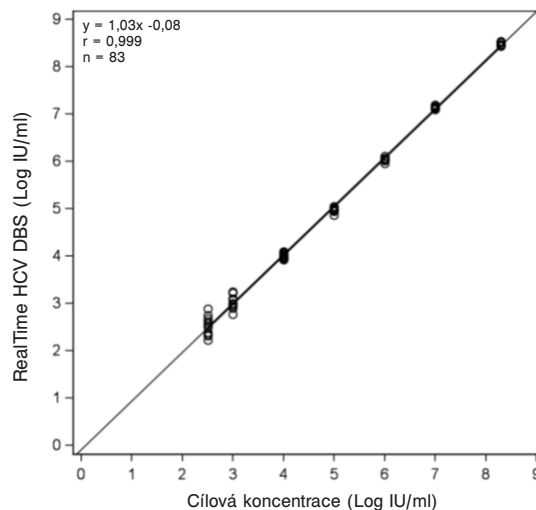
Tabulka 1. Abbott RealTime HCV for DBS Limit detekce (LD)			
HCV RNA (IU/ml)	Počet testovaných	Počet nalezených	Zjištěno procento
500	84	83	99
400	84	80	95
350	84	75	89
300	84	73	87
150	84	54	64
50	84	26	31

Probitová analýza údajů zjistila, že koncentrace HCV RNA zjištěné ze sušené krevní kapky s 95 % pravděpodobností byla 462 IU/ml (95% CI 381 až 593 IU/ml).

Lineární rozsah

Horní limit kvantifikace (ULQ) testu Abbott RealTime HCV je 100 milionů IU/ml a dolní limit kvantifikace odpovídá LD (462 IU/ml) pro tvrzení DBS. Panel DBS se 7 členy byl připraven s HCV obalená RNA naředěným na koncentrace v rozmezí od 200 milionů IU/ml do 316 IU/ml v HCV negativní plné krvi. Výsledky, reprezentativní pro linearitu testu Abbott RealTime HCV pro DBS, jsou uvedeny na **Obrázku 1**.

Obrázek č. 1. Test Abbott RealTime HCV pro linearitu DBS



Je prokázáno, že test 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 testu Abbott RealTime HCV pro DBS je vyšší nebo rovna 99,5 %. Specifita byla stanovena analýzou 119 séro negativních vzorků HCV ve 2 šaržích zesilovacích činidel. Celková specifita byla 100 % (119/119).

Přesnost

Přesnost byla hodnocena testováním panelu DBS s 6 členy, který byl zaměřen na pokrytí rozmezí koncentrací HCV RNA od 316 IU/ml do 200 milionů IU/ml. Členové panelu s koncentracemi nižšími než 5 log IU/ml (100,000 IU/ml) byli připraveni s HCV pozitivním klinickým vzorkem zředěným v HCV negativní plné krvi, zatímco členové panelu s koncentracemi vyššími než 5 log IU/ml (100,000 IU/ml) byli připraveni s HCV obalenou RNA zředěným v HCV negativní plné krvi. Každý člen panelu byl testován v 5 replikacích jednou denně po dobu 5 dnů, na 3 párech *m2000sp/rt* se 3 šaržemi zesilovacích činidel. V rámci cyklu byly stanoveny standardní odchylky (SD) mezi jednotlivými testy (v rámci jednoho testu a mezi jednotlivými testy). Test Abbott RealTime HCV pro DBS byl navržen tak, aby bylo dosaženo standardní odchylky (SD) mezi jednotlivými testy 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 přesnost testu Abbott RealTime HCV pro DBS, jsou shrnuty v **Tabulce 2**.

Tabulka 2. Test Abbott RealTime HCV Assay pro přesnost DBS

Člen panelu	N	Průměrná koncentrace (IU/ml)	Průměrná koncentrace (log IU/ml)	Komponenta SD ^{a,e} v rámci cyklu	Komponenta SD ^a mezi cykly	Mezi test SD ^{a,b}	Mezi-šarže/komponenta přístroje SD ^a	Celkem ^{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

^aStandardní odchylky (SD) jsou v log IU/ml.

^b Mezi-test obsahuje komponenty v rámci cyklu a mezi cykly.

^c Celkem zahrnuje komponenty v rámci cyklu, mezi cykly a mezi šaržemi/přístroji.

^d Průměrná koncentrace členu panelu 1 je nižší než LD. Odhady přesnosti jsou založeny na replikátech, které jsou kvantifikovány.

^e SD v rámci cyklu jsou také známy jako opakovatelnost. Celková SD je také známa jako reprodukovatelnost.

Opakovatelnost a reprodukovatelnost pro člena panelu 1 (téměř LLOQ) byly 0,26 log IU/ml a 0,27 log IU/ml v tomto pořadí a pro člena panelu 2 (téměř LLOQ) 0,23 log IU/ml a 0,25 log IU/ml v tomto pořadí. Opakovatelnost a reprodukovatelnost pro člena panelu 5 (téměř ULOQ) byly 0,12 log IU/ml a 0,14 log IU/ml v tomto pořadí a pro člena panelu 6 (téměř ULOQ) 0,04 log IU/ml a 0,07 log IU/ml v tomto pořadí.

Korelace

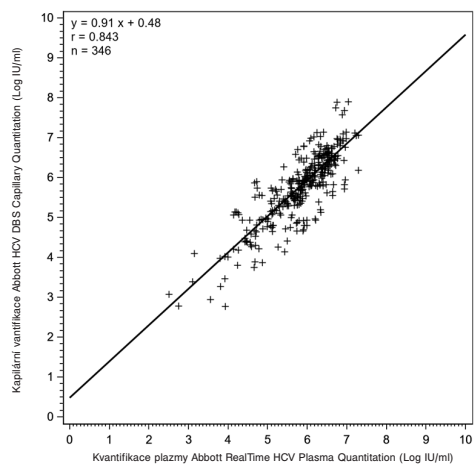
Kvantifikace HCV RNA byla porovnána mezi testem Abbott RealTime HCV pomocí sušených krevních kapek a srovnávacím testem s označením CE, testováním Abbott RealTime HCV pomocí lidské plazmy. Do analýzy byly zahrnuty vzorky plazmy a DBS z celkem 346 subjektů (odebraných a testovaných v Gruzii, Kamerunu a Řecku). DBS připravené z žilní krve i DBS připravené z kapilární krve (píchnutí do prstu) byly testovány testem Abbott RealTime HCV pro DBS. Kvantitativní výsledky vzorků, které spadaly do dynamických rozsahů testů, byly analyzovány metodou lineární regrese nejmenších čtverců a metodou odchylek Bland-Altman (kapilární DBS versus plasma N=346, žilní DBS versus plasma N=346 a kapilární DBS versus žilní DBS N=345). Pro korelaci mezi kapilární DBS a plazmou byl korelační koeficient 0,843, sklon 0,91 (95 % CI 0,85 až 0,97) a průsečík 0,48 log IU/ml (95 % CI 0,12 až 0,84) (**Obrázek 2**). Pro korelaci mezi žilní DBS a plazmou byl korelační koeficient 0,840, sklon 0,94 (95 % CI 0,88 až 1,00) a průsečík byl 0,31 log IU/ml (95 % CI -0,07 až 0,69) (**Obrázek 3**). Pro korelaci mezi kapilární DBS a žilní DBS byl korelační koeficient 0,943, sklon 0,91 (95 % CI 0,87 až 0,94) a průsečík 0,53 log IU/ml (95 % CI 0,33 až 0,72) (**Obrázek 4**). Kromě toho jsou na **Obrázku 5**, **Obrázku 6** a **Obrázku 7** znázorněny pole Bland-Altmana pro stejná srovnání. Průměrný rozdíl odchylky mezi kapilární DBS a plazmou byl -0,05 log IU/ml. Průměrný rozdíl odchylky mezi žilní DBS a plazmou byl -0,04 log IU/ml. Průměrný rozdíl odchylky mezi kapilární a žilní DBS byl -0,02 log IU/ml.

Předpokládaná odchylka mezi kapilární DBS a plazmou byla zhodnocena na cílových úrovních LLOQ a ULOQ. Dále byla vyhodnocena předpokládaná odchylka mezi žilní DBS a plazmou na cílových úrovních LLOQ a ULOQ. Viz **Tabulka 3**, kde je uveden souhrn předpokládaných odchylek.

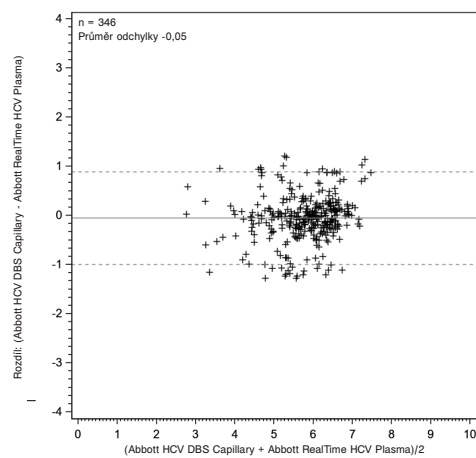
Tabulka 3. Předpokládaná odchylka mezi DBS (kapilární nebo žilní) a plazmou u LLOQ a ULOQ

Porovnání	Úroveň	Cílová úroveň virového zatížení (log IU/ml)	Předpokládaná odchylka (log IU/ml)
Kapilární DBS vs plazma	LLOQ	2,66	0,24
	ULOQ	8,00	-0,26
Žilní DBS vs plazma	LLOQ	2,66	0,15
	ULOQ	8,00	-0,17

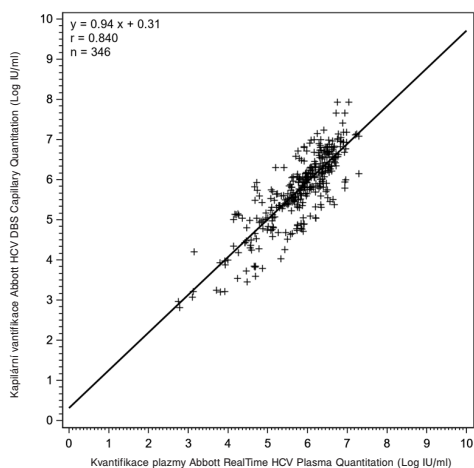
Obrázek 2. Kapilární DBS a plazma



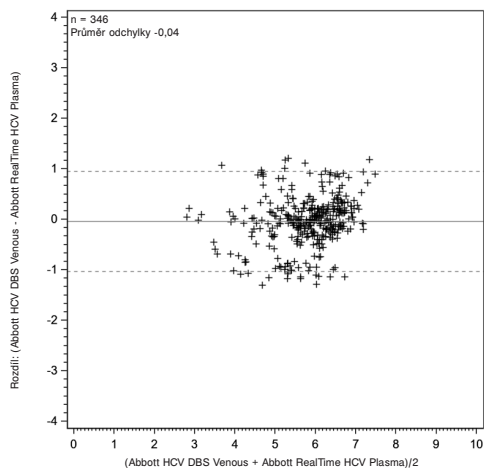
Obrázek 5. Kapilární DBS vs plazma



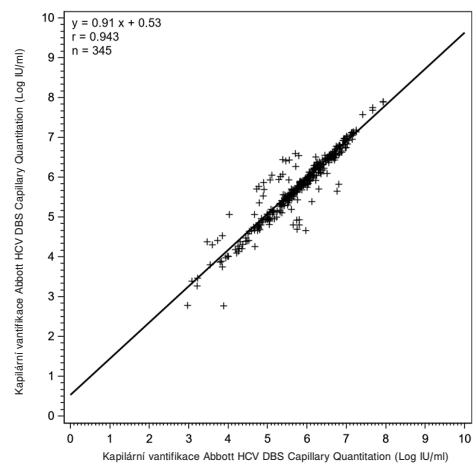
Obrázek 3. Žilní DBS a plazma



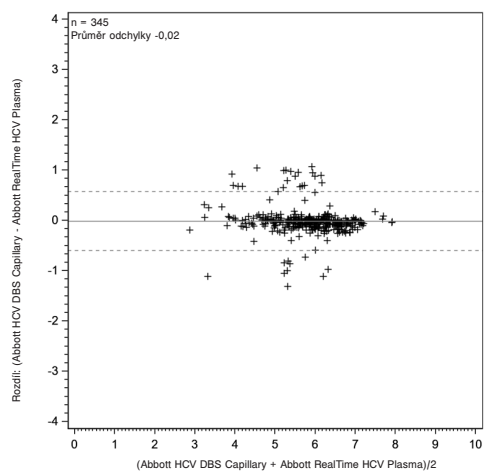
Obrázek 6. Žilní DBS vs plazma



Obrázek 4. Kapilární DBS a žilní DBS



Obrázek 7. Kapilární DBS vs žilní DBS



BIBLIOGRAFIE

1. Gower E, Estes C, Blach S, et al. Global epidemiology and genotype distribution of the hepatitis C virus infection. *J Hepatol*. 2014; 61(1):S45-S57.
2. Světová zdravotnická organizace WHO – aktualizovaná verze z dubna 2016: Guidelines for the screening, care and treatment of persons with hepatitis C infection. <http://www.who.int/hepatitis/publications/hepatitis-c-guidelines-2016/en/>.
3. AASLID/IDSA Doporučení pro testování, péči a léčbu hepatitidy C., revidováno v dubnu, 2017. www.hcvguidelines.org.
4. European Association of the Study of the Liver. Recommendation on Treatment of Hepatitis C 2018. *J. Hepatology* (2018).
5. Miller MH, Agarwal K, Austin A, et al. Zobrazený článek: 2014 UK consensus guidelines - hepatitis C management and direct-acting anti-viral therapy. *Aliment Pharmacol Ther*. 2014;39:1363-75.
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. *N Engl J Med* 1998;339(21):1493-9.
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):958-65.
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):975-82.
9. Hadziyannis SJ, Sette H Jr., Morgan TR, et al. Peginterferon- [alpha]2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose. *Ann Intern Med* 2004;140(5):346-55.
10. Orlent H, Deltenre P, Francque S, et al. Update of the Belgian Association for the Study of Liver Guidelines for the Treatment of Chronic Hepatitis C Genotype 1 with Protease Inhibitors. *Acta Gastro- Enterologica Belgica* 2012;LXXV:245-259.
11. Halfon P, Bourliere M, Penaranda G, Khiri H, and Ouzin 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 Microbiology* 2006;44(7): 2507-2511.
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):1611-8.
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):41-5.
14. WHO guidelines on hepatitis B and C testing. Geneva: World Health Organization; 2017.
15. Saldanha J, Heath A., 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 Sanguinis* 2005 Apr; 88 (3):202-204.

TECHNICKÁ PODPORA

Technickou pomoc získáte na telefonním čísle Abbott Molecular Technical Services na čísle 1-800-553-7042 (v USA) nebo na telefonním čísle +49-6122-580 (mimo USA) nebo na webových stránkách Abbott Molecular na adrese www.molecular.abbott/prtal.

Abbott RealTime HCV je do Evropské unie dovážen společností Abbott Diagnostics GmbH, která se nachází na adrese 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 Abbott. Všechna práva vyhrazena.

www.abbottmolecular.com

51-608440/R1

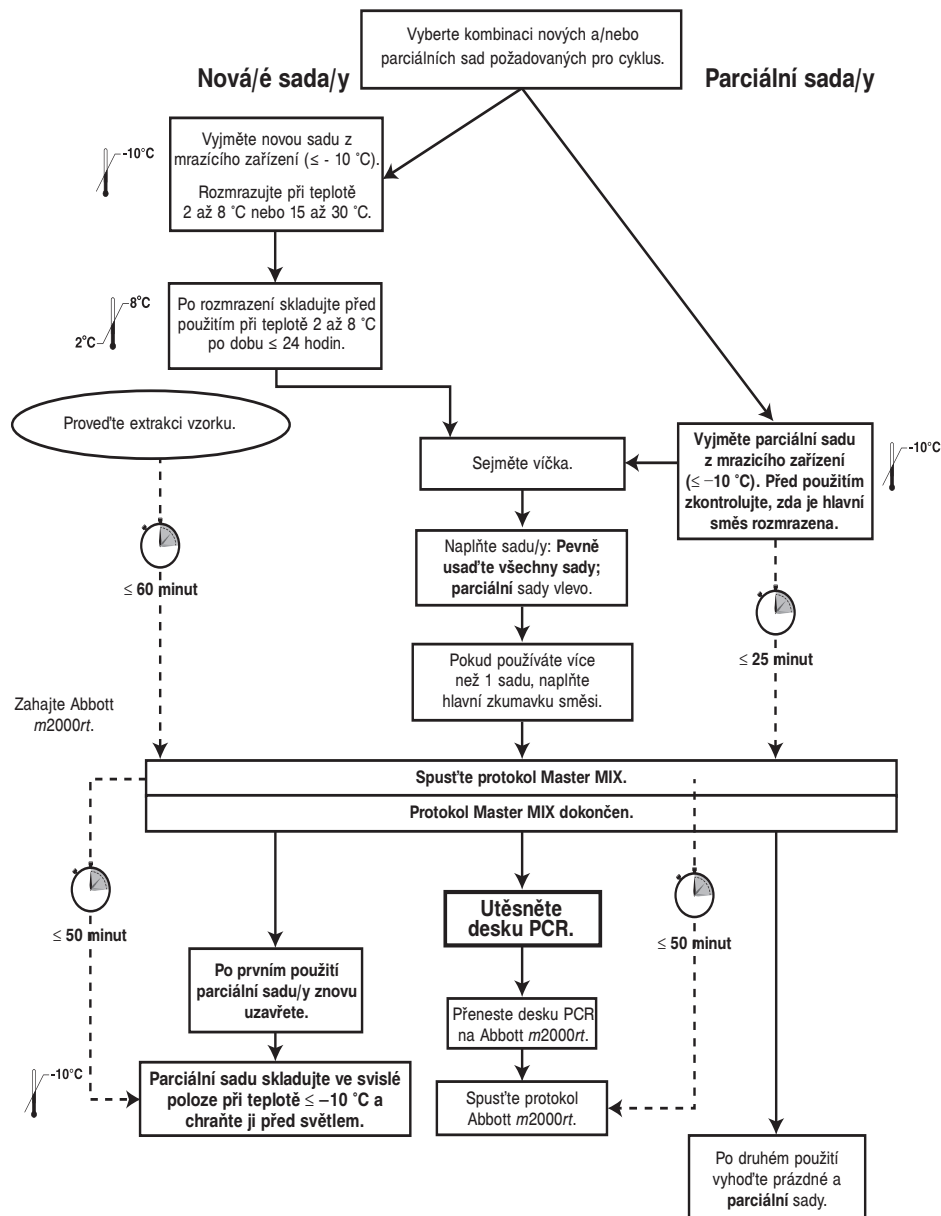
Červenec 2020

DODATEK 1 PŘEHLED ROZŠÍŘENÉ FUNKCE ZESILOVACÍCH ČINIDEL REALTIME HCV AMPLIFICATION REAGENT

Funkce pro rozšířené použití zesilovacího činidla umožňuje použít sadu zesilovacích reakčních činidel a vnitřní kontrolu (IC) celkem 2krát. Sady zesilovacích reakčních činidel, které ještě nebyly použity k přípravě hlavní směsi, se označují jako **nové** sady zesilovacích činidel. Sady zesilovacích reakčních činidel, které byly použity jednou a obsahují připravenou hlavní směs, se označují jako **parciální** sady zesilovacích činidel. Další podrobnosti naleznete v pokynech uvedených v této příručce.

Skladovací podmínky (Sada zesilovacího reakčního činidla Amplification Reagent Pack a ampule vnitřní kontroly)		
Typ balení	Skladovací teplota	Doba skladování
Nové sady	-10 °C nebo nižší	Do data uvedeného na štítku
Nový IC	-10 °C nebo nižší	Do data uvedeného na štítku
Parciální sada	-10 °C nebo nižší (chráněno proti světlu)	Až 14 dní po prvním použití
Parciální IC	-10 °C nebo nižší	Až 14 dní po prvním použití

- Pokud při postup kontroly znečištění používáte UNG, vyhledejte specifické pokyny v části Protokol testu, krok 25 a 32.



- Sady zesilovacích činidel vhodné pro rozšířené použití musí mít nad čárovým kódem sériové číslo o 6 číslicích.
- Parciální** sady zesilovacích činidel lze použít podruhé pouze na stejném přístroji jako při prvním použití. Jejich použití na jiném přístroji způsobí chybu zpracování, která může cyklus zpoždit.
- Parciální a nové** sady zesilovacích činidel lze použít dohromady. Všechny sady zesilovacích činidel používané na přístroji cyklu musí mít stejné číslo šarže.

Abbott RealTime HCV

Zestaw uzupełniający do analizy suchej kropli krwi (DBS)

pl

REF 04J86-010

51-608440/R1

GTIN

REF

04J86-010

IVD

51-608440/R1

Objaśnienia użytych symboli

GTIN

Globalny numer jednostki handlowej

REF

Numer referencyjny

IVD

Wyrób medyczny do diagnostyki in vitro



Maksymalny dozwolony czas użycia



Górna granica temperatury



Ograniczenie temperatury

EC REP

Autoryzowany przedstawiciel w krajach Wspólnoty Europejskiej



Wytwórca

MIĘDZYNARODOWY DZIAŁ OBSŁUGI KLIENTA: PROSZĘ SKONTAKTOWAĆ SIĘ TELEFONICZNIE Z PRZEDSTAWIECIELEM ABBOTT.

Przed użyciem należy dokładnie zapoznać się z treścią ulotki dołączonej do opakowania. Należy ściśle przestrzegać instrukcji znajdujących się w ulotce dołączonej do opakowania. W przypadku odstępstw od procedury opisanej w ulotce dołączonej do opakowania nie można zagwarantować wiarygodności wyników testu.

Niniejsza Instrukcja użytkownika stanowi uzupełnienie ulotki dołączonej do opakowania testu Abbott RealTime HCV (nr kat. 4J86) i dotyczy próbek typu sucha kropla krwi (dried blood spot, DBS).

UWAGA DLA UŻYTKOWNIKA

Jeżeli w związku z tym wyrobem wystąpi poważny incydent, należy go zgłosić wytwórcy i właściwemu organowi państwa członkowskiego, w którym użytkownik lub pacjent ma siedzibę. W celu zgłoszenia wytwórcy należy zapoznać się z informacjami kontaktowymi podanymi w części dotyczącej pomocy technicznej w niniejszej instrukcji.

NAZWA

Abbott RealTime HCV

PRZEZNACZONY DO STOSOWANIA W PRZYPADKU PRÓBEK TYPU 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 (HCV RNA) w krwi pełnej naniesionej na karty testowe w postaci suchej kropli krwi (DBS; tj. uzyskanej w ramach wkłucia dożylnego albo krwi włóścikowej) od osób zakażonych wirusem HCV. Test Abbott RealTime HCV jest przeznaczony do stosowania pomocniczo w leczeniu pacjentów z HCV poddawanych leczeniu przeciwwirusowemu. Test Abbott RealTime HCV nie jest przeznaczony do stosowania jako badanie przesiewowe wykonywane z krwi, osocza czy surowicy ani do badania dawców tkanek w kierunku HCV; nie należy go również stosować jako testu diagnostycznego potwierdzającego zakażenie HCV.

UŻYTKOWNIK DOCELOWY

Użytkownikami docelowymi testu Abbott RealTime HCV są pracownicy laboratoriów i personel medyczny.

STRESZCZENIE I WYJAŚNIENIA DOTYCZĄCE TESTU

Wirus zapalenia wątroby typu C (HCV) jest jednym z głównych czynników etiologicznych schorzeń wątroby. Szacunkowo około 1,1%

populacji cierpi na przywłokłe zapalenie wątroby typu C¹ a rocznie około 700 000 osób umiera z powodu zaburzeń czynności wątroby spowodowanych przez zakażenie wirusem zapalenia wątroby typu C.² Genom wirusa HCV stanowi jednoniciowe RNA o dodatniej polarności, a sam wirus jest przenoszony głównie przez dożylne stosowanie środków odurzających oraz przez preparaty krwiopochodne. U około 55 do 85% osób zakażonych HCV dochodzi do przewlekłego zapalenia wątroby, z czego u do 30% osób z zakażeniem przewlekłym dochodzi do marskości wątroby.¹ U pacjentów z marskością wątroby ryzyko pojawienia się raka wątroby wynosi 2-4% 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 znaczne 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 Oznaczenie miana wirusa HCV wykorzystywano 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 o ograniczonych zasobach 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 z próbek surowicy albo osocza analiz w kierunku RNA HCV. DBS stanowi możliwą do realizacji opcję, która eliminuje wiele ograniczeń logistycznych i technicznych związanych z pobieraniem, przetwarzaniem, przechowywaniem i wysyłką występujących w przypadku próbek surowicy czy też osocza. Wytyczne Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) dotyczące testów pod kątem wirusowego zapalenia wątroby typu C obejmują zalecenia dotyczące wykorzystania DBS w testach wirusologicznych na obszarach o ograniczonych zasobach.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 (Second WHO International Standard for Hepatitis C Virus RNA; kod NIBSC 96/798)¹⁵, zaś wyniki są prezentowane w jednostkach międzynarodowych na mililitr (IU/ml) albo odpowiadających im logarytmach dziesiętnych (log 10).

BIOLOGICZNE PODSTAWY METODOLOGII OZNACZENIA

Test Abbott RealTime HCV do analizy DBS wymaga użycia trzech zestawów odczynników:

- Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit (zestaw do amplifikacji)
- Abbott RealTime HCV Control Kit (zestaw kontroli)
- Abbott RealTime HCV Calibrator Kit (zestaw kalibratorów)

Test Abbott RealTime HCV do analizy DBS wykorzystuje metodę RT-PCR do amplifikacji produktu z genomu RNA HCV występującego w pobranych od ludzi próbkach DBS. Poszczególne etapy testu Abbott RealTime HCV obejmują przedanalizyczną preparatykę DBS, przygotowanie próbek, przygotowanie reakcji RT-PCR, amplifikację, detekcję oraz prezentację danych. Etap przedanalizycznej preparatyki DBS obejmuje czynności wykonywane przed umieszczeniem próbek w aparacie Abbott m2000sp; w trakcie tego etapu próbki przygotowywane są przy wykorzystaniu zestawu buforów Abbott mSample Preparation System DBS Buffer Kit. Po zakończeniu przedanalizycznej preparatyki próbki DBS wszystkie kolejne etapy wykonywane są automatycznie w aparacie Abbott m2000sp oraz Abbott m2000rt.

Aby uzyskać więcej informacji na temat preparatyki próbek, przygotowania reakcji RT-PCR, amplifikacji i detekcji należy zapoznać się z ulotką dołączoną do opakowania testu Abbott RealTime HCV (nr kat. 4J86).

WIELOKROTNE WYKORZYSTANIE ODCZYNNIKÓW DO AMPLIFIKACJI

Opcjonalnie możliwe jest wydłużenie czasu użycia odczynników do amplifikacji, co umożliwi użycie zestawu odczynników do amplifikacji i kontroli wewnętrznej (IC) dwa razy. Zestawy odczynników do amplifikacji zawierające gotową mieszaninę reakcyjną (master mix) mogą być przechowywane do ponownego użycia przez maksymalnie 14 dni w temperaturze -10°C albo niższej, w zamkniętym opakowaniu chroniącym przed światłem. Kontrola wewnętrzna (IC) może być przechowywana do ponownego użycia w zamkniętym opakowaniu w temperaturze -10°C albo niższej przez maksymalnie 14 dni. Ponowne wykorzystanie powinno nastąpić przed upływem daty ważności odczynników.

Informacje ogólne na temat tej funkcji znajdują się w Załączniku 1 do tej instrukcji użytkownika.

W treści niniejszej instrukcji użytkownika pojęcia zestaw odczynników do amplifikacji oraz kontrola wewnętrzna (IC) oznaczają nieużywane odczynniki i odnoszą się do nowych opakowań odczynników do amplifikacji i kontroli wewnętrznej (IC; tj. oznaczają pierwsze użycie). Zestawy odczynników do amplifikacji, które zostały już wcześniej użyte i zawierają gotową mieszaninę reakcyjną (master mix) będą określane jako niepełne opakowania odczynników. Fiolki zawierające kontrolę wewnętrzną (IC), które zostały już raz użyte będą określane jako niepełne fiolki IC.

ZAPOBIEGANIE ZANIECZYSZCZENIU KWASMI NUKLEINOWYMI

Należy zapoznać się z ulotką dołączoną do opakowania testu Abbott RealTime HCV (nr kat. 4J86).

ODCZYNNIKI

Należy zapoznać się z ulotką dołączoną do opakowania testu Abbott RealTime HCV (nr kat. 4J86).

OSTRZEŻENIA I ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

IVD

Do stosowania w diagnostyce *in vitro*

Test Abbott RealTime HCV do analizy DBS nie jest przeznaczony do stosowania jako badanie przesiewowe wykonywane z krwi, osocza czy surowicy ani do badania dawców tkanek w kierunku HCV; nie należy go również stosować jako testu diagnostycznego potwierdzającego zakażenie HCV.

ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

Należy zapoznać się z ulotką dołączoną do opakowania testu Abbott RealTime HCV (nr kat. 4J86). Abbott RealTime HCV do analizy DBS nadaje się wyłącznie do zastosowania przy użyciu aparatów 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 przetwarzanych i przechowywanych w sposób opisany w rozdziale **POBIERANIE, PRZECHOWYWANIE I TRANSPORT PRÓBEK DO LABORATORIUM**.

Należy zapoznać się z ulotką dołączoną do opakowania testu Abbott RealTime HCV (nr kat. 4J86).

Środki ostrożności przy pracy z próbkami DBS:

- Przed umieszczeniem karty z DBS w torebce z pochłaniaczem wilgoci karty testowe, na których umieszczono próbkę DBS, muszą wyschnąć całkowicie. Nieprawidłowe nałożenie kropli krwi, jej wysuszenie, przechowywanie albo przetwarzanie DBS może prowadzić do uzyskania niedokładnych wyników testu.
- Aby uniknąć zanieczyszczenia w trakcie przenoszenia próbek, w trakcie wyłaczania kropli z perforowanej karty testowej zawierającej próbki DBS należy przy każdej próbce DBS używać nowej końcówki pipety. W przypadku korzystania z nieperforowanych kart testowych z DBS narzędzie użyte do wycięcia kropli musi zostać odczałkowane 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.

Należy zapoznać się z ulotką dołączoną do opakowania testu Abbott RealTime HCV (nr kat. 4J86).

Zanieczyszczenie w wyniku powstawania aerozoli

Należy zapoznać się z ulotką dołączoną do opakowania testu Abbott RealTime HCV (nr kat. 4J86).

Zanieczyszczenie a inhibicja

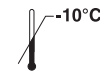
Należy zapoznać się z ulotką dołączoną do opakowania testu Abbott RealTime HCV (nr kat. 4J86).

Zanieczyszczenie zewnętrznym produktem amplifikacji zawierającym dU

W laboratoriach, które wykonują albo w przeszłości wykonywały testy obejmujące amplifikację HCV oraz dalszą obróbkę zamplikowanego produktu po PCR może występować zanieczyszczenie produktem amplifikacji zawierającym dU. Tego rodzaju zanieczyszczenie może skutkować uzyskaniem niedokładnych wyników testu Abbott RealTime HCV do analizy DBS. Należy zapoznać się z rozdziałem **Monitorowanie laboratorium pod kątem występowania zanieczyszczeń** w ulotce dołączonej do opakowania 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 odczajania laboratorium zastosowano procedurę kontroli zanieczyszczeń poprzez dodanie uracylo-N-glikozylazy (UNG).

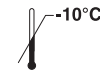
INSTRUKCJE DOTYCZĄCE PRZECHOWYWANIA

Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit (zestaw do amplifikacji; nr kat. 4J86-90)



- Nieużywane **nowe i niepełne** opakowania odczynników do amplifikacji z zestawu Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Pack oraz fiolki zawierające kontrolę wewnętrzną (IC) powinny być przechowywane w temperaturze -10°C albo niższej. Należy zachować ostrożność, aby nie dopuścić do bezpośredniego kontaktu zestawów odczynników do amplifikacji Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Pack będących w użyciu z badanymi próbkami, kalibratorami i kontrolami.
- Po pierwszym użyciu **niepełne** opakowania odczynników do amplifikacji i kontrola wewnętrzna (IC) muszą być przechowywane w temperaturze -10°C albo niższej, w zamkniętych opakowaniach, w pozycji pionowej wieczeniem do góry oraz być zabezpieczone przed dostępem światła. **Niepełne** opakowania odczynników do amplifikacji zawierające przygotowaną mieszaninę reakcyjną (master mix), które przechowywane są w opisany sposób, mogą zostać ponownie użyte w okresie maksymalnie 14 dni od dnia pierwszego użycia. Kontrola wewnętrzna (IC) może również zostać ponownie użyta w okresie do 14 dni po rozmrożeniu, jeżeli była przechowywana w zamkniętym opakowaniu w temperaturze -10°C albo niższej. Po drugim użyciu niepełne opakowania odczynników do amplifikacji oraz fiolki z kontrolą wewnętrzną (IC) powinny zostać zutylizowane. Ponowne wykorzystanie powinno nastąpić przed upływem daty ważności odczynników.

Abbott RealTime HCV Control Kit (zestaw kontroli; nr kat. 4J86-80)



- Fiolki zawierające kontrolę dodatnią/ujemną Abbott RealTime HCV Negative and Positive Controls muszą być przechowywane w temperaturze -10°C albo niższej.

Abbott RealTime HCV Calibrator (zestaw kalibratorów, nr kat. 4J86-70)



- Fiolki zawierające kalibrator A/kalibrator B – Abbott RealTime HCV Calibrator A/Calibrator B muszą być przechowywane w temperaturze -10°C albo niższej.

WARUNKI PODCZAS WYSYŁKI

Należy zapoznać się z ulotką dołączoną do opakowania testu Abbott RealTime HCV (nr kat. 4J86).

CECHY WSKAZUJĄCE NA NIESTABILNOŚĆ ALBO ROZKŁAD ODCZYNNIKÓW

Należy zapoznać się z ulotką dołączoną do opakowania testu Abbott RealTime HCV (nr kat. 4J86).

PROCEDURA DOTYCZĄCA APARATU

Przed rozpoczęciem wykonywania testu w aparatach Abbott m2000sp oraz Abbott m2000rt należy zainstalować pliki z protokołami badania Abbott RealTime HCV for DBS z płyty Abbott RealTime HCV m2000 ROW System Combined Application CD-ROM (nr kat. 1L69-040 albo wyższy). Szczegółowe informacje dotyczące instalacji plików z protokołami badań znajdują się w Instrukcji obsługi aparatów Abbott m2000sp oraz Abbott m2000rt w rozdziale „Procedury operacyjne”.

POBIERANIE, PRZECZYSZCZANIE I TRANSPORT PRÓBEK DO LABORATORIUM

Pobieranie i przechowywanie próbek

- Próbkę 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 (od 2°C do 8°C przez maksymalnie 48 godzin albo w temperaturze otoczenia nieprzekraczającej 30°C przez maksymalnie 24 godziny).
- Przed nakropieniem krew pełną z EDTA pobraną do probówki należy dokładnie wymieszać poprzez delikatne odwracanie probówki. Nakropić krew w postaci okręgów o średnicy 12 milimetrów na kartę testową wykonaną z bibuły typu Ahlstrom-Munktell 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 przynajmniej trzy godziny. Każdą kartę umieścić w zamkniętej torebce zawierającej pochłaniacz wilgoci (co najmniej 2 do 3 opakowań pochłaniacza wilgoci).
- Przed przeprowadzeniem badania karty z próbkami DBS mogą być przechowywane w warunkach określonych w tabeli poniżej.

Karta zawierająca próbki DBS

Warunek	Maksymalny czas przechowywania
w temperaturze od 2°C do 30°C przy naturalnej wilgotności	18 tygodni
≤37°C przy naturalnej wilgotności	12 tygodni
≤45°C przy naturalnej wilgotności	8 tygodni
≤38°C przy wysokiej wilgotności (≤85%)	4 tygodnie
w temperaturze od -25°C do -15°C przy naturalnej wilgotności	18 tygodni
w temperaturze -70°C albo niższej przy naturalnej wilgotności	18 tygodni

Transport próbek

Próbki należy transportować w zalecanych warunkach przechowywania dotyczących temperatury i czasu przechowywania wskazanych w rozdziale **Pobieranie i przechowywanie próbek** znajdującym się 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 i biologicznych.

PROCEDURA TESTU ABBOTT REALTIME HCV DO ANALIZY DBS

Materiały wymagane, ale niedostarczane

- Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit (zestaw do amplifikacji; nr kat. 4J86-90)
- Abbott RealTime HCV Calibrator (zestaw kalibratorów, nr kat. 4J86-70)
- Abbott RealTime HCV Control Kit (zestaw kontroli; nr kat. 4J86-80)

Do aparatu Abbott m2000sp Obszar przygotowania próbek

- Abbott mSample Preparation System DBS Buffer Kit (zestaw buforów do przygotowania próbek DBS, nr kat. 09N02-001)
- Aparat Abbott m2000sp (nr kat. 9K14-01, 9K14-02)
- 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 konieczne jeżeli wykorzystywana jest UNG).
- Końcówki z filtrem aeroszowym do pipet precyzyjnych o poj. 20 µL do 1000 µL (końcówki z filtrem aeroszowym do pipet precyzyjnych o poj. <20 µL mogą być konieczne jeżeli wykorzystywana jest UNG).
- Wytrząsarka typu wortex
- Master Mix Tube (nr kat. 04J71-80)
- 96-dołkowa płytka reakcyjna Abbott 96-Deep-Well Plate (nr kat. 04J71-30)
- Naczynka reakcyjne 5 mL (nr kat. 04J71-20)
- Naczynka odczynnikowe 200 mL (nr kat. 04J71-60)
- 96-dołkowa optyczna płytka reakcyjna Abbott 96-Well Optical Reaction Plate (nr kat. 04J71-70)
- Samoprzylepna optyczna folia zabezpieczająca Abbott Optical Adhesive Covers (nr kat. 04J71-75)

- Aplikatory do samoprzylepnej folii zabezpieczającej (nr kat. 9K32-01)
- Stawy na probówki do PCR Abbott Splash-Free Support Base (nr kat. 9K31-01)
- Płyta CD Abbott RealTime HCV m2000 ROW System Combined Application CD-ROM (nr kat. 1L69-040 albo wyższy)
- Zestaw m2000 System 13 mm DBS-PoST (nr kat. 09N03-001)
- Wieczka 1,4 mL Micro Vial 15 mm Caps (nr kat. 3N20-01) opcjonalnie
- Uracylo-N-glikozylaza (UNG)^a (nr kat. 6L87-02)

^a Jeżeli zajdzie taka potrzeba, zgodnie z informacjami znajdującymi się w rozdziale **Zanieczyszczenie zewnętrznym produktem amplifikacji zawierającym dU** niniejszej instrukcji użytkowania.

Do aparatu Abbott m2000rt Obszar amplifikacji

- Aparat Abbott m2000rt (nr kat. 9K15-01)
- Płyta CD Abbott RealTime HCV m2000 ROW System Combined Application CD-ROM (nr kat. 1L69-040 albo wyższy)
- Abbott m2000rt Optical Calibration Kit (zestaw kalibracyjny, nr kat. 04J71-93)

Inne materiały

- Łoża laminarna atestowana do pracy z materiałem zakaźnym
- Szczelnie zamykane woreczki na karty z DBS
- Pochłaniacz wilgoci do kart z próbkami DBS
- Karty testowe z bibuły filtracyjnej typu Ahlstrom-Munktell TFN lub Whatman 903
- Szczelnie zamykane torebki plastikowe do utylizacji 96-dołkowych płytek reakcyjnych
- Woda niezawierająca RNaz (Eppendorf albo odpowiednik)^b
- Probówki mikrowirówkowe o poj. 1,7 mL, do biologii molekularnej. (Dot Scientific, Inc. albo odpowiednik)^b
- Wymazówki z wacikiem (Puritan albo odpowiednik)^b

^b **Uwaga:** Trzy wymienione elementy stosowane są w trakcie procedury Monitorowania laboratorium pod kątem występowania zanieczyszczeń. Należy zapoznać się z rozdziałem **PROCEDURY KONTROLI JAKOŚCI** w ulotce dołączonej do opakowania testu Abbott RealTime HCV (nr kat. 4J86).

Proceduralne środki ostrożności

- Przed przystąpieniem do przetwarzania próbek należy zapoznać się ze wskazówkami opisanymi w niniejszej instrukcji użytkowania.
- Zgodnie z instrukcją użytkowania, odczynniki do amplifikacji oraz kontrola wewnętrzna mogą zostać użyte maksymalnie dwa razy. Fiolki z kalibratorami, kontrolą wewnętrzną (IC), kontrolą ujemną oraz kontrolą dodatnią o niskim i wysokim stężeniu Abbott RealTime HCV przeznaczone są wyłącznie do jednorazowego użytku i po użyciu należy je zutylizować.
- Podczas pipetowania próbek albo kontroli wewnętrznej (IC) należy zawsze używać nowych, zawierających filtr aeroszowy, jednorazowych końcówek do pipet albo pipet jednorazowego użytku. Aby zapobiec zanieczyszczeniu korpusu pipety, w trakcie pipetowania należy unikać dotykania wnętrza probówki albo pojemnika z próbką korpusem pipety. Zaleca się używanie wydłużonych końcówek z filtrami aeroszowymi.
- Procedura monitorowania pod kątem produktu amplifikacji znajduje się w rozdziale **PROCEDURY KONTROLI JAKOŚCI**.
- W celu ograniczenia ryzyka zanieczyszczenia kwasami nukleinowymi miejsca, w których doszło do rozlania próbki, należy wyczyścić i zdezynfekować przy użyciu prątkobójczego środka dezynfekcyjnego, takiego jak 1,0% podchlorynu sodu albo inny właściwy środek dezynfekujący.
- Kalibratory i kontrole testu Abbott RealTime HCV należy przygotowywać równolegle z analizowanymi próbkami. Stosowanie kontroli i kalibratorów testu Abbott RealTime HCV stanowi nieodłączną część oznaczenia przy użyciu testu Abbott RealTime HCV. Należy zapoznać się z rozdziałem **PROCEDURY KONTROLI JAKOŚCI**.
- Protokół dodawania mieszaniny reakcyjnej Abbott m2000sp Master Mix Addition należy rozpocząć w ciągu godziny od zakończenia przygotowywania próbek.
- Jeżeli protokół dodawania mieszaniny reakcyjnej Abbott m2000sp Master Mix Addition zostanie przerwany, należy zutylizować 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 ponownego wykorzystania.

- Protokół *m2000rt* należy rozpocząć w czasie 50 minut od momentu rozpoczęcia protokołu Master Mix Addition. Jeżeli protokół aparatu Abbott *m2000rt* nie został rozpoczęty w czasie 50 minut albo został przerwany bądź anulowany, 96-dółkową płytkę optyczną Abbott 96-Well Optical Reaction Plate należy umieścić w szczelnej plastikowej torebce i zutylizować zgodnie wytycznymi w Instrukcji użytkownika aparatu Abbott *m2000rt*, pamiętając, że w trakcie pracy z płytką należy używać rękawiczek.

WAŻNE: Odczynniki do amplifikacji, które mają zostać wykorzystane po raz drugi muszą zostać umieszczone do przechowywania w temperaturze –10°C albo niższej w okresie do 50 minut do momentu rozpoczęcia protokołu dodawania mieszaniny reakcyjnej.

PROTOKÓŁ BADANIA: ANALIZA PRÓBEK DBS PRZY POMOCY APARATÓW ABBOTT *m2000sp* I ABBOTT *m2000rt*

Szczegółowy opis przeprowadzania protokołów analitycznych na aparacie Abbott *m2000sp* oraz Abbott *m2000rt* znajduje się w Instrukcji obsługi aparatu Abbott *m2000sp* i Abbott *m2000rt* w rozdziale Procedury operacyjne. Protokół analizy próbek DBS wymaga oprogramowania aparatu Abbott *m2000sp* w wersji 6.0 albo wyższej. Należy postępować zgodnie z Instrukcją obsługi aparatu Abbott *m2000sp* (nr kat. 09K20 wersja 6 albo wyższa).

W każdej serii można przebadать łącznie 96 próbek. W każdej serii musi znaleźć się kontrola ujemna, kontrola dodatnia o niskim i o wysokim stężeniu, dlatego też w ramach jednego oznaczenia możliwa jest analiza maksymalnie 93 próbek DBS, jeżeli w oznaczeniu nie uwzględniono kalibratorów. Kalibratory i kontrole należy przetwarzać bezpośrednio jako płynne próbki; etapy od 1 do 5 dotyczą wyłącznie próbek DBS. Nie należy badać próbek osocza ani surowicy w tej samej serii, w której wykorzystywany jest protokół badania próbek DBS. Dla każdej próbki DBS należy użyć oddzielnej fiolki z mieszaniną reakcyjną Abbott Master Mix Tube w ramach całej procedury przetwarzania próbki. Przez cały czas przetwarzania próbki muszą być oznakowane.

1. Do próbki na mieszaninę reakcyjną Abbott Master Mix dodać 1,3 mL buforu do DBS znajdującego się w zestawie Abbott *mSample Preparation system DBS Buffer Kit* (nr kat. 09N02-001).

UWAGA: Na tym etapie nie należy używać buforu do lizy *mLysis Buffer* ani żadnego innego odczynnika

2. Przytrzymać perforowaną kartę z DSB nad próbka zawierającą mieszaninę reakcyjną Abbott Master Mix.
3. Wycisnąć próbkę DBS z karty przy użyciu czystej końcówki pipety, umieszczając w każdej próbce z mieszaniną reakcyjną master mix po jednej próbce DBS. Każda próbka DBS powinna mieć około 12 mm średnicy.

UWAGA: ABY UNIKNĄĆ ZANIECZYCZENIA KRZYŻOWEGO DO KAŻDEJ Z PRÓBEK DBS NALEŻY UŻYWAĆ NOWEJ KOŃCÓWKI PIPETY.

W przypadku bibuły bez perforacji należy wyciąć całą próbkę DBS (o średnicy około 12 mm) w przypadku każdej z próbek i umieścić ją w próbce zawierającej mieszaninę reakcyjną master mix.

UWAGA: Przy wycinaniu próbek DBS należy unikać bezpośredniego kontaktu powierzchni tnącej z próbka. Jeśli to konieczne, pomiędzy kolejnymi próbki należy zdezynfekować narzędzie użyte do wycinania DBS, stosując zasady dobrej praktyki laboratoryjnej.

4. Okrąg z próbka DSB musi być w pełni zanurzony w buforze *mDBS Buffer*; można to sprawdzić poprzez opukanie próbki albo przy wykorzystaniu końcówki pipety, zanurzając przy jej pomocy próbkę DBS w buforze.

UWAGA: Jeżeli do zanurzenia próbki DBS w buforze użyto końcówki pipety, objętość buforu nie może się zmniejszyć na skutek osadzania się płynu na ściankach końcówki lub absorpcji buforu przez filtr znajdujący się na końcówce.

5. Probówki z próbka wstrząsnąć ręcznie albo wymieszać obracając. Probek nie należy mieszać przy użyciu wytrząsarki typu wortex. Inkubować przez 30 minut (± 2 minuty) w temperaturze otoczenia.
6. W tym czasie rozmrozić kontrole i kontrolę wewnętrzną (IC) w temperaturze od 15°C do 30°C albo od 2°C do 8°C. Kalibratory rozmrozić w temperaturze od 15°C do 30°C albo od 2°C do 8°C tylko w przypadku gdy przeprowadzana jest kalibracja aparatu.

UWAGA: Po rozmrożeniu kontrole, IC oraz kalibratory mogą być przechowywane w temperaturze od 2°C do 8°C przez maksymalnie 24 godziny przed ich użyciem.

7. Każdą fiolkę zawierającą kalibrator oraz każdą fiolkę zawierającą kontrolę wymieszać na wytrząsarce typu wortex 3 razy przez 2 do 3 sekund przed użyciem. Zawartość każdej fiolki musi znajdować się na dnie; można to zapewnić, stukając fiolkami o blat w celu zebrania płynu na dnie. W fiolce nie mogą się wytworzyć pęcherzyki ani piana, a jeśli tak się stało, należy usunąć je przy pomocy końcówki pipety, używając nowej końcówki przy każdej z fiolek.
8. Odczynniki do amplifikacji rozmrozić w temperaturze od 15°C do 30°C albo od 2°C do 8°C i przechowywać w temperaturze od 2°C do 8°C do momentu rozpoczęcia procedury przygotowywania mieszaniny reakcyjnej (master mix) do amplifikacji.
9. Wybrać **nowe** lub **niepełne** opakowania odczynników do amplifikacji do wykorzystania w ramach danej serii. Postępować zgodnie z rozdziałem Procedury operacyjne w Instrukcji obsługi aparatu Abbott *m2000sp* (nr kat. 09K20 wersja 6 albo wyższa), gdzie znajdują się informacje dotyczące zarządzania zapasami opakowań zawierających odczynniki do amplifikacji. Opakowania odczynników do amplifikacji muszą mieć te same numery serii. **Nowe** odczynniki do amplifikacji rozmrozić w temperaturze od 15°C do 30°C albo od 2°C do 8°C i przechowywać w temperaturze od 2°C do 8°C do momentu rozpoczęcia procedury przygotowywania mieszaniny reakcyjnej (master mix) do amplifikacji.

UWAGA: Po rozmrożeniu nowe odczynniki do amplifikacji mogą być przechowywane w temperaturze od 2°C do 8°C przez maksymalnie 24 godziny, jeżeli nie zostaną wykorzystane natychmiast. Niepełne opakowania odczynników do amplifikacji, które są używane po raz drugi, NIE POWINNY być przechowywane w temperaturze od 2°C do 8°C przed użyciem. Do momentu, w którym należy dodać je do mieszaniny reakcyjnej (master mix), powinny być przechowywane w temperaturze –10°C albo niższej. Po wyjęciu z zamrażarki łączny czas przechowywania w temperaturze pokojowej nie powinien przekroczyć 25 minut, również w przypadkach, w których 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 liczbę potrzebnych fiolek odczynników do przygotowania próbek oraz kontroli wewnętrznej na podstawie 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
<i>mmikrocząstki</i>	1 butelka	2 butelki	2 butelki	2 butelki
<i>mliza</i>	1 butelka	2 butelki	3 butelki	4 butelki
<i>mpłukanie 1</i>	1 butelka	2 butelki	3 butelki	4 butelki
<i>mpłukanie 2</i>	1 butelka	2 butelki	3 butelki	4 butelki
<i>mbuffer</i>	1 butelka	2 butelki	3 butelki	4 butelki
wymywający				
Kontrola wewnętrzna ^a	1 nowa fiolka albo 1 niepełna fiolka	1 nowa fiolka albo 2 niepełne fioleki	2 nowe fioleki albo 3 niepełne fioleki	2 nowe fioleki albo 4 niepełne fioleki

^a Można jednocześnie wykorzystać nowe i niepełne fioleki kontroli wewnętrznej.

10. Delikatnie odwrócić buteleczki do przygotowywania próbek z zestawu Abbott *mSample Preparation*, aby uzyskać homogeny roztwór. W przypadku stwierdzenia obecności kryształów w którejkolwiek butelce z odczynnikiem po jej otwarciu należy pozostawić odczynnik do zrównoważenia w temperaturze pokojowej do momentu zniknięcia kryształów. Nie używać odczynników do czasu rozpuszczenia kryształów.
11. Przed użyciem zwortexować każdą IC trzy razy przez 2–3 sekundy.
12. Za pomocą skalibrowanej pipety precyzyjnej **PRZEZNACZONEJ WYŁĄCZNIE DO KONTROLI WEWNĘTRZNYCH** dodać 500 μ L IC do każdej butelki buforu *mLysis Buffer*. Wymieszać, delikatnie odwracając pojemnik 5–10 razy, aby zminimalizować powstawanie piany. Niepełne fioleki IC można zamknąć ponownie i przechowywać w temperaturze –10°C albo niższej do kolejnego użycia.
13. Umieścić kontrole dodatnie o niskim i wysokim stężeniu, kontrolę ujemną oraz, w stosownych przypadkach, kalibratory w statywach na próbki Abbott *m2000sp*.

14. Po zakończeniu inkubacji wstrząsnąć ręcznie albo zamieszać próbówki z próbkami DBS, a następnie umieścić je w statywach na próbki aparatu Abbott m2000sp.
- UWAGA: należy upewnić się, że statywy na próbki aparatu m2000sp zostały specjalnie skalibrowane do celów procedury Abbott RealTime HCV do analizy DBS.**
15. Delikatnie załadować statywy na próbki, aby uniknąć rozpryskiwania. W razie używania kodów kreskowych na etykietach próbek muszą one być skierowane w prawo na potrzeby skanowania. Należy upewnić się, że każda próbówka jest stabilnie umieszczona w statywie na próbki w taki sposób, że dno próbówki dotyka wewnętrznego dna statywu.
16. Umieścić napełnione statywy na próbki w aparacie Abbott m2000sp w kolejnych pozycjach statywów na próbki 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 naczynia reakcyjne 5 mL w nośniku podsystemu 1 mL aparatu Abbott m2000sp.
18. Umieścić odczynniki z zestawu Abbott mSample Preparation System i płytkę 96-dołkową głęboką Abbott 96 Deep-Well Plate na blacie roboczym aparatu Abbott m2000sp zgodnie z opisem w rozdziale „Procedury operacyjne” w Instrukcji obsługi Abbott m2000sp.
19. Na ekranie „Protocol” wybrać plik HCV RNA DBS. Rozpocząć protokół ekstrakcji próbki zgodnie z opisem w rozdziale „Procedury operacyjne” w Instrukcji obsługi Abbott m2000sp.
20. Wprowadzić wartości dla danej serii kalibratorów (wymagane, jeżeli nie zapisano krzywej kalibracyjnej w aparacie Abbott m2000rt) i kontroli w polach „Sample Extraction: Worktable Setup”, „Calibrator” i „Control”. Wartości dla danej serii podano w każdej Karcie zestawu (Kit Card) kalibratorów i kontroli Abbott RealTime HCV.
21. Protokół dodania mieszaniny reakcyjnej Abbott m2000sp Master Mix Addition (krok 28) należy rozpocząć w ciągu godziny od zakończenia przygotowywania próbek.

UWAGA: przed przystąpieniem do pracy z odczynnikami do amplifikacji należy zmienić rękawice.

22. Po zakończeniu przygotowywania próbek umieścić odczynniki do amplifikacji i próbówkę z mieszaniną master mix (w razie potrzeby) na blacie roboczym aparatu Abbott m2000sp. W poniższej tabeli przedstawiono liczbę potrzebnych opakowań odczynników do amplifikacji w zależności od liczby reakcji. W przypadku używania tylko jednego opakowania odczynników do amplifikacji nie jest wymagana próbówka z mieszaniną master mix.

Wymagane opakowania odczynników do amplifikacji^a

od 1 do 24 reakcji	od 25 do 48 reakcji	od 49 do 72 reakcji	od 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 zawartymi w Instrukcji obsługi aparatu Abbott m2000sp (nr kat. 09K20, wersja 6 albo wyższa).

- Niepełnych opakowań odczynników do amplifikacji można używać wyłącznie w tym samym aparacie Abbott m2000sp, którego używano do początkowego przygotowania opakowania odczynnika. Użycie opakowania odczynnika do amplifikacji po raz drugi w innym aparacie spowoduje błąd, co może opóźnić przeprowadzenie serii.
- Można używać jednocześnie niepełnych i nowych opakowań odczynników do amplifikacji.

WAŻNE: niepełne opakowania odczynników do amplifikacji należy przechowywać w temperaturze -10°C albo niższej do momentu bezpośrednio przed kolejnym użyciem. Przed umieszczeniem niepełnych opakowań na blacie roboczym aparatu Abbott m2000sp należy upewnić się, że mieszanina master mix została rozmrożona. Niepełne opakowania odczynników do amplifikacji używane po raz drugi należy zużyć w ciągu 25 minut od wyjścia z miejsca przechowywania w temperaturze -10°C albo niższej albo zutylizować. Dotyczy to łącznego czasu ekspozycji na działanie temperatury pokojowej, w tym czasu, w którym opakowania znajdują się poza miejscem 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 5–10 razy.
 - Nie stukać niepełnymi opakowaniami odczynników do amplifikacji używanymi po raz drugi. Stukanie może spowodować utratę objętości mieszaniny master mix w wieczku.
24. Zdjąć wieczka. Jeżeli nowe opakowanie odczynnika do amplifikacji będzie przechowywane do ponownego użycia, konieczne będzie ponowne zamknięcie fiolek do celów przechowywania. Jeżeli planowane jest ponowne użycie oryginalnych wieczek do ponownego zamknięcia fiolek z odczynnikami, należy zachować oryginalne wieczka. Jeżeli planowane jest użycie nowych wieczek do ponownego zamknięcia fiolek z odczynnikami, oryginalne wieczka można zutylizować.
- W przypadku stosowania uracylo-N-glikozylazy (UNG) do celów kontroli zanieczyszczenia należy postępować zgodnie z poniższymi instrukcjami.**
25. Za pomocą PIPETY PRZEZNACZONEJ WYŁĄCZNIE DO ODCZYNNIKÓW dodać określoną objętość UNG o stężeniu 1 j./µL (nr kat. 6L87-02) do fiołki z odczynnikami w pozycji 3 nowego i niepełnego opakowania odczynników do amplifikacji. Wymieszać wszystkie niepełne opakowania ręcznie przez delikatne pipetowanie. Nie mieszać nowych opakowań.
 - Określić objętość UNG, jaką należy dodać do fiołki z odczynnikami w pozycji 3 nowego i niepełnego opakowania odczynników do amplifikacji przy użyciu poniższej tabeli. Fiolka z odczynnikami w pozycji 3 nowego opakowania odczynników zawiera termostabilną polimerazę rTth. Fiolka z odczynnikami w pozycji 3 niepełnego opakowania odczynników zawiera mieszaninę master mix.

Objętość UNG, jaką należy dodać do fiołki z odczynnikami w pozycji 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 odczynnikami w pozycji 3 jest zależna od liczby testów pozostałych w opakowaniu odczynnika, a nie od liczby analizowanych próbek. Instrukcje dotyczące zarządzania zapasami opakowań odczynników do amplifikacji i sposobu określania liczby testów pozostałych w opakowaniu odczynników znajdują się w Instrukcji obsługi aparatu Abbott m2000sp.

26. Niepełne opakowania odczynników do amplifikacji umieszcza się na blacie roboczym aparatu Abbott *m2000sp* na lewo od owych opakowań odczynników do amplifikacji.
27. Opakowania odczynników do amplifikacji muszą być prawidłowo umieszczone w aparacie.
28. Wybrać właściwą płytkę głębokodółkową odpowiadającą płytce poddawanej ekstrakcji w zleceniu badania. 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 96-dółkowej optycznej płytki reakcyjnej Abbott.

- Po zakończeniu izolacji aparat Abbott *m2000sp* automatycznie napełnia puste zagłębienia 96-dółkowej optycznej płytki reakcyjnej Abbott buforem wymywającym *mElution* buffer w przypadku, gdy w serii obróbce poddawanych jest więcej niż 48 próbek. Płytkę nie jest napełniana w przypadku serii obejmujących 48 albo mniej próbek.
- W przypadku wyświetlenia odpowiedniego komunikatu aparatu statyw na odczynnik nr 2 powinien pozostać na miejscu i zawierać co najmniej jedno naczynko odczynnikowe Reagent Vessel na bufor wymywający *mElution* Buffer (statyw na odczynnik nr 2, położenie nr 6). Jeśli to naczynko odczynnikowe Reagent Vessel zostanie wyjęte, należy wstawić nowe naczynko odczynnikowe Reagent Vessel opatrzone etykietą buforu wymywającego *mElution* Buffer do statywu na odczynnik 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 przejdzie do wykonywania procedury dodawania mieszaniny reakcyjnej (master mix).

UWAGA: Instrukcje aparatu dotyczące opcji automatycznego napełniania płytki podano w Instrukcji obsługi Abbott *m2000sp* (nr kat. 09K20 wersja 6 albo wyższy), rozdział 5 Procedury operacyjne, Ekstrakcja próbki – tryb zamknięty.

- Protokół Abbott *m2000rt* (krok 33.) należy rozpocząć w ciągu 50 minut od rozpoczęcia protokołu dodawania mieszaniny reakcyjnej (Master Mix Addition) (krok 28.).

UWAGA: W przypadku przerwania pracy z jakiegokolwiek powodu po wykonaniu kroku 28. należy zastosować nową 96-dółkową optyczną płytkę reakcyjną Abbott, jeśli protokół dodawania mieszaniny reakcyjnej (Master Mix Addition) w aparacie Abbott *m2000sp* (krok 28.) będzie powtarzany.

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 96-dółkową optyczną płytkę reakcyjną Abbott po zakończeniu przez aparat Abbott *m2000sp* procedury dodawania próbek oraz mieszaniny reakcyjnej (master mix) zgodnie z rozdziałem Procedury operacyjne w Instrukcji obsługi Abbott *m2000sp*.
31. Umieścić zabezpieczoną folią optyczną płytkę reakcyjną w statywie na próbki Abbott Splash-Free Support Base, aby przenieść ją do aparatu Abbott *m2000rt*.
W przypadku stosowania uracylo-N-glikozylazy (UNG) należy postępować zgodnie z poniższymi instrukcjami:
32. Przenieść zabezpieczoną folią optyczną płytkę na statyw na próbki Abbott Splash-Free Support Base i inkubować w temperaturze pokojowej (od 15°C do 30°C) przez 10 minut. Po inkubacji w temperaturze pokojowej przenieść 96-dółkową optyczną płytkę reakcyjną Abbott na statywie na próbki Abbott Splash-Free Support Base do aparatu Abbott *m2000rt*.
33. Umieścić 96-dółkową optyczną płytkę reakcyjną Abbott w aparacie Abbott *m2000rt*. Z ekranu „Protocol” wybrać plik aplikacji HCV RNA DBS. Zainicjalizować protokół zgodnie z rozdziałem Procedury operacyjne w Instrukcji obsługi Abbott *m2000rt*.

UWAGA: Zaleca się przeniesienie zlecenia badań na płycie CD-ROM albo za pośrednictwem połączenia sieciowego z funkcjami eksportu i importu oprogramowania *m2000sp* oraz *m2000rt*. W przypadku ręcznego tworzenia zlecenia badań w aparacie Abbott *m2000rt* należy wpisać numery identyfikacyjne (ID) próbek znajdujących się w określonym położeniu na tacce z płytką PCR w rubryce „Wells for Selected Plate” na wyświetlanym w aparacie Abbott *m2000sp* ekranie z wynikami dla płytki PCR „PCR Plate Results”. Patrz rozdział 5 Instrukcji obsługi Abbott *m2000sp*.

34. Jeżeli przygotowane niepełne opakowania odczynników mają zostać użyte ponownie, należy zamknąć trzy fiolki odczynników stosowanymi wcześniej wieczkami albo nowymi wieczkami (nr kat. 3N20-01) i niezwłocznie umieścić odczynniki w temperaturze –10°C albo niższej, w pozycji pionowej wieczkiem do góry oraz zabezpieczone przed światłem. 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 zostać umieszczone do przechowywania w temperaturze –10°C albo niższej w okresie do 50 minut do momentu rozpoczęcia protokołu dodawania mieszaniny reakcyjnej.

PROCEDURY PO ZAKOŃCZENIU PRZETWARZANIA

1. Zdjąć głębokodółkową płytkę Abbott z 96 zagłębieniami ze stołu roboczego i zutylizować zgodnie z Instrukcją obsługi Abbott *m2000sp*.
2. Umieścić 96-dółkową optyczną płytkę reakcyjną Abbott i rękawiczki używane podczas pracy z płytką w szczelnie zamykanym woreczku plastikowym i zutylizować zgodnie z Instrukcją obsługi Abbott *m2000rt*.
3. Przed następnym użyciem wyczyścić statyw na próbki Abbott Splash-Free Support Base zgodnie z Instrukcją obsługi Abbott *m2000rt*.

PROCEDURY KONTROLI JAKOŚCI

Kalibracja optyczna aparatu Abbott *m2000rt*

Należy zapoznać się z ulotką dołączoną do opakowania testu Abbott RealTime HCV (nr kat. 4J86).

Kalibracja oznaczenia

Należy zapoznać się z ulotką dołączoną do opakowania testu Abbott RealTime HCV (nr kat. 4J86).

W przypadku badania DBS aparatem *m2000sp* oraz *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 serii,
- zastosowane zostaną odczynniki Abbott *mSample Preparation* System (4 × 24 Preps) o nowym numerze serii,
- zastosowany zostanie plik z protokołem badania Abbott RealTime HCV RNA DBS.

Wykrywanie inhibicji

Należy zapoznać się z ulotką dołączoną do opakowania testu Abbott RealTime HCV (nr kat. 4J86).

Kontrole ujemne i dodatnie

Należy zapoznać się z ulotką dołączoną do opakowania testu Abbott RealTime HCV (nr kat. 4J86).

Monitorowanie laboratorium pod kątem występowania zanieczyszczeń

Należy zapoznać się z ulotką dołączoną do opakowania testu Abbott RealTime HCV (nr kat. 4J86).

WYNIKI BADANIA PRÓBEK DBS

Wynik oznaczenia stężenia próbki DBS podany po wykonaniu badania z wykorzystaniem protokołu DBS *m2000rt* odzwierciedla stężenie wirusa HCV w osoczu z 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 albo log IU/ml.

Interpretacja wyników

Wynik	Interpretacja
Nie wykryto	Nie wykryto badanego elementu
<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 = górna granica oznaczalności (upper limit of quantitation)

OGRANICZENIA PROCEDURY BADANIA

DO STOSOWANIA W DIAGNOSTYCE IN VITRO

- W celu uzyskania optymalnej wydajności tego testu konieczne jest właściwe pobieranie, przechowywanie oraz transport próbek do laboratorium (patrz rozdział **POBIERANIE, PRZECZYSZCZANIE I TRANSPORT PRÓBEK DO LABORATORIUM** w niniejszej ulotce dołączonej do opakowania).

- Próbkę krwi pełnej pobrane do próbek z EDTA mogą być stosowane do przygotowania próbek DBS badanych następnie 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 aparatu Abbott m2000.
- Przestrzeganie procedur dotyczących użytkowania aparatów oraz przeprowadzania testów zmniejszają ryzyko zanieczyszczenia 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 ulotce dołączonej do opakowania.
- Podobnie jak w przypadku innych testów diagnostycznych wyniki uzyskane w teście Abbott RealTime HCV 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 nieprawidłowych 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 PRÓBEK DO BADANIA DBS

Granica wykrywalności (Limit of Detection, LOD)

Wartość LOD badania przeprowadzanego z wykorzystaniem 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 czterech partii odczynników do amplifikacji w ciągu trzech dni. Wyniki, stanowiące reprezentatywne dane dotyczące parametru czułości analitycznej testu Abbott RealTime HCV do analizy DBS, podano w Tabeli 1.

Tabela 1. Granica wykrywalności (Limit of Detection, LOD) Abbott RealTime HCV do analizy DBS

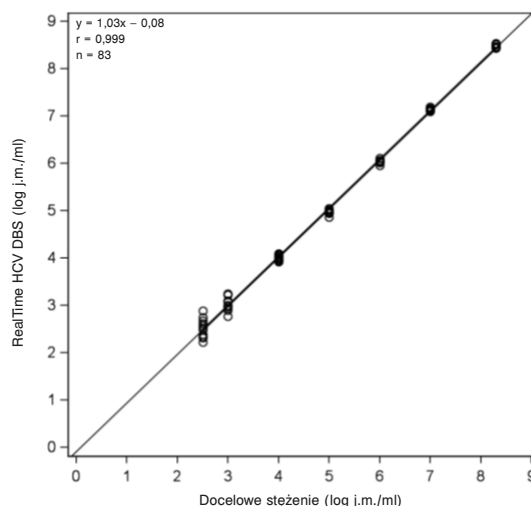
HCV RNA (IU/ml)	Liczba badanych próbek	Liczba detekcji	Odsetek detekcji
500	84	83	99
400	84	80	95
350	84	75	89
300	84	73	87
150	84	54	64
50	84	26	31

Analiza probitowa danych wykazała, że stężenie RNA HCV wykryte w badaniu z suchej plamy 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 danych dotyczących próbek DBS. Zbadano obejmujący siedem próbek panel przygotowany poprzez rozcieńczenie Armored RNA HCV do stężenia od 200 milionów IU/ml do 316 IU/ml w HCV-ujemnej krwi pełnej. Wyniki, stanowiące reprezentatywne dane dotyczące liniowości testu Abbott RealTime HCV, pokazano na Rysunku 1.

Rysunek 1. Liniowość z użyciem aparatu Abbott RealTime HCV do analizy DBS



Test Abbott RealTime HCV 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 testu Abbott RealTime HCV do analizy DBS względem badanego elementu wynosi przynajmniej 99,5%. Swoistość została ustalona na podstawie analizy 119 próbek HCV-seroujemnych z wykorzystaniem dwóch partii odczynników do amplifikacji. Całkowita swoistość wyniosła 100% (119/119).

Dokładność

Dokładność oceniono poprzez zbadanie 6-elementowego panelu DBS o docelowym zakresie stężeń HCV RNA od 316 IU/ml do 200 milionów IU/ml. Próbkę z 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 z panelu o stężeniach wyższych niż 5 log IU/ml (100 000 IU/ml) zostały przygotowane poprzez rozcieńczenie HCV armored RNA w HCV-ujemnej krwi pełnej. Każda próbka z panelu była badana w pięciu replikacjach przeprowadzanych raz na dobę przez pięć dni na trzech parach analizatorów m2000sp/rt z trzema partiami odczynników do amplifikacji. Wyznaczono odchylenia standardowe w obrębie serii, pomiędzy seriami i pomiędzy oznaczeniami (w serii i pomiędzy seriami). Test Abbott RealTime HCV opracowano w taki sposób, aby odchylenie standardowe (SD) pomiędzy oznaczeniami wynosiło nie więcej niż 0,25 log IU/ml RNA HCV w przypadku próbek o stężeniach HCV wynoszących od 10 000 do 100 milionów IU/ml. Wyniki, stanowiące reprezentatywne dane dotyczące dokładności testu Abbott RealTime HCV do analizy DBS, przedstawiono w Tabeli 2.

Tabela 2. Dokładność z użyciem aparatu Abbott RealTime HCV do analizy DBS

Próbka z panelu	N	Średnie stężenie (IU/ml)	Średnie stężenie (log IU/ml)	Składowa SD – w obrębie serii ^{a,e}	Składowa SD – pomiędzy seriami ^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 serii i pomiędzy seriami.

^c Łączna wartość obejmuje składowe w obrębie serii, pomiędzy seriami i pomiędzy partiami/aparatami.

^d Średnie stężenie pierwszej próbki z panelu jest poniżej LOD. Dane szacunkowe dotyczące dokładności są oparte na kwantyfikowanych replikacjach.

^e Odchylenie standardowe w obrębie serii określa się również jako powtarzalność. Całkowite odchylenie standardowe określa się również jako odtwarzalność.

Powtarzalność i odtwarzalność dla pierwszej próbki z panelu (zbliżona do dolnej granicy oznaczalności) wynosiły odpowiednio 0,26 log IU/ml oraz 0,27 IU/ml, zaś dla drugiej próbki z panelu (zbliżona do dolnej granicy oznaczalności) wynosiły odpowiednio 0,23 log IU/ml oraz 0,25 log IU/ml. Powtarzalność i odtwarzalność dla piątek próbki z panelu (zbliżona do górnej granicy oznaczalności) wynosiły odpowiednio 0,12 log IU/ml oraz 0,14 IU/ml, zaś dla szóstej próbki z panelu (zbliżona do górnej granicy oznaczalności) wynosiły odpowiednio 0,04 log IU/ml oraz 0,07 log IU/ml.

Korelacja

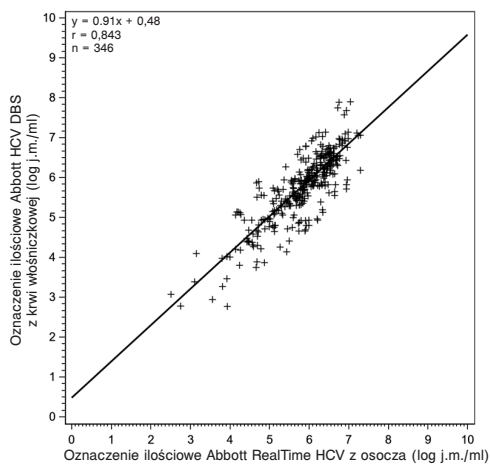
Porównano test Abbott RealTime HCV z użyciem suchej kropli krwi i test porównawczy z oznaczeniem CE, Abbott RealTime HCV z zastosowaniem ludzkiego osocza pod kątem ich zdolności do ilościowego oznaczania HCV RNA. W analizie uwzględniono próbki osocza i DBS pobrane od 346 uczestników (pobrane i przebadane 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 włośniczkowej (nakłucie palca). Wyniki ilościowe z próbek, które mieściły się z dynamicznych zakresach oznaczeń, zostały przeanalizowane metodą regresji liniowej najmniejszych kwadratów i metodą błędu systematycznego Blanda-Altmana (DBS z krwi włośniczkowej w porównaniu z osoczem N=346, DBS z krwi żyłnej w porównaniu z osoczem N=346 i DBS z krwi włośniczkowej w porównaniu z DBS z krwi żyłnej N=345). W przypadku korelacji między DBS z krwi włośniczkowej a osoczem współczynnik korelacji wynosił 0,843, nachylenie wynosiło 0,91 (95% przedział ufności: 0,85 do 0,97), a przesunięcie wynosiło 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 wynosił 0,840, nachylenie wynosiło 0,94 (95% przedział ufności: 0,88 do 1,00), a przesunięcie wynosiło 0,31 log IU/ml (95% przedział ufności: -0,07 do 0,69) (**Rysunek 3**). W przypadku korelacji między DBS z krwi włośniczkowej a DBS z krwi żyłnej współczynnik korelacji wynosił 0,943, nachylenie wynosiło 0,91 (95% przedział ufności: 0,87 do 0,94), a przesunięcie wynosiło 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 odchylenia między DBS z krwi włośniczkowej a osoczem wynosiła -0,05 log IU/ml. Średnia różnica odchylenia między DBS z krwi żyłnej a osoczem wynosiła -0,04 log IU/ml. Średnia różnica odchylenia między DBS z krwi włośniczkowej a DBS z krwi żyłnej wynosiła -0,02 log IU/ml.

Przewidywane odchylenie między DBS z krwi włośniczkowej a osoczem zostało ocenione na docelowym poziomie dolnej granicy oznaczalności i górnej granicy oznaczalności. Ponadto przewidywane odchylenie między DBS z krwi żyłnej a osoczem zostało ocenione na poziomie dolnej granicy oznaczalności i górnej granicy oznaczalności. Zestawienie przewidywanych odchyleń można znaleźć w **Tabeli 3**.

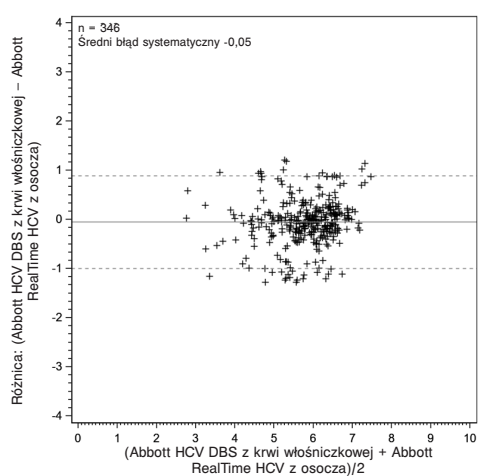
Tabela 3. Przewidywane odchylenie między DBS (z krwi włośniczkowej albo żyłnej) a osoczem na dolnej granicy oznaczalności i górnej granicy oznaczalności

Porównanie	Poziom	Docelowy poziom miana wirusa (log IU/ml)	Przewidywany błąd systematyczny (log IU/ml)
DBS z krwi włośniczkowej 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

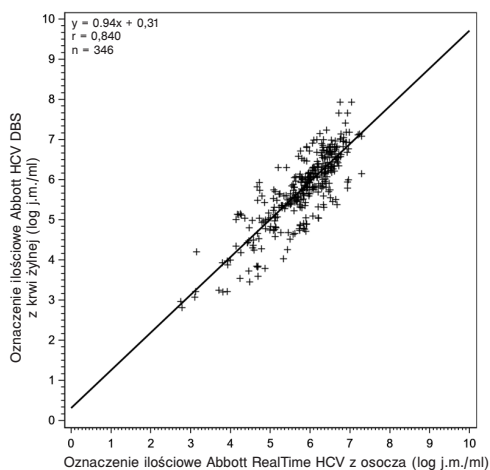
Rysunek 2. DBS z krwi włosniczkowej i osocze



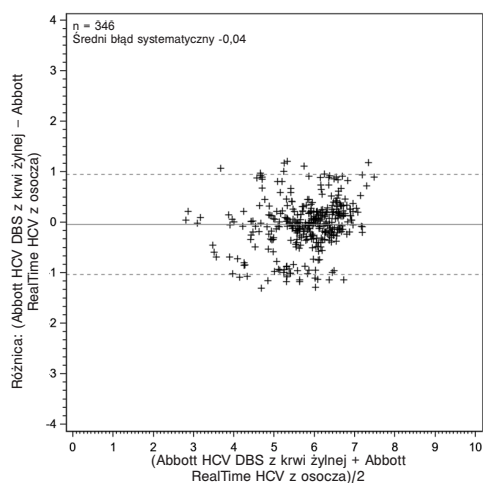
Rysunek 5. DBS z krwi włosniczkowej w porównaniu z osoczem



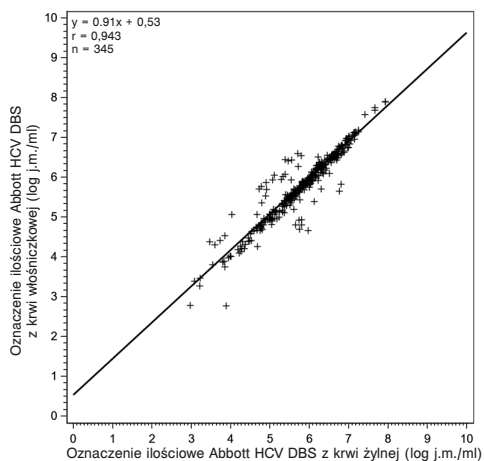
Rysunek 3. DBS z krwi żyłnej i osocze



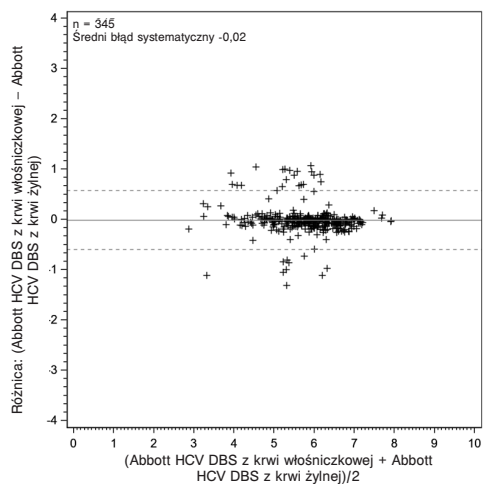
Rysunek 6. DBS z krwi żyłnej w porównaniu z osoczem



Rysunek 4. DBS z krwi włosniczkowej i DBS z krwi żyłnej



Rysunek 7. DBS z krwi włosniczkowej w porównaniu z DBS z krwi żyłnej



BIBLIOGRAFIA

1. Gower E, Estes C, Blach S, i wsp. Global epidemiology and genotype distribution of the hepatitis C virus infection. *J Hepatol*. 2014; 61(1):S45-S57.
2. World Health Organization Updated Version April 2016: Guidelines for the screening, care and treatment of persons with hepatitis C infection. <http://www.who.int/hepatitis/publications/hepatitis-c-guidelines-2016/en/>.
3. AASLD/IDSA Recommendations for testing, managing and treating hepatitis C, wersja z kwietnia 201 r. www.hcvguidelines.org.
4. European Association of the Study of the Liver. Recommendation on Treatment of Hepatitis C 2018. *J. Hepatology* (2018).
5. Miller MH, Agarwal K, Austin A, i wsp. Review article: 2014 UK consensus guidelines - hepatitis C management and direct-acting anti-viral therapy. *Aliment Pharmacol Ther*. 2014;39:1363-75.
6. Davis GL, Esteban-Mur R, Rustgi V, i wsp. Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin for the treatment of relapse of chronic hepatitis C. *N Engl J Med* 1998;339(21):1493-9.
7. Manns MP, McHutchison JG, Gordon SC, i wsp. 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):958-65.
8. Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR, i wsp. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 2002;347(13):975-82.
9. Hadziyannis SJ, Sette H Jr., Morgan TR, i wsp. Peginterferon-[alpha]2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose. *Ann Intern Med* 2004;140(5):346-55.
10. Orlent H, Deltenre P, Francque S, i wsp. Update of the Belgian Association for the Study of Liver Guidelines for the Treatment of Chronic Hepatitis C Genotype 1 with Protease Inhibitors. *Acta Gastro-Enterologica Belgica* 2012;LXXV:245-259.
11. Halfon P, Bourliere M, Penaranda G, Khiri H, and Ouzin 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 Microbiology* 2006;44(7): 2507-2511.
12. Kowdley KV, Nelson DR, Lalezari JP, i wsp. 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):1611-8.
13. Yoshida EM, Sulkowski MS, Gane EJ, i wsp. Concordance of sustained virological response 4, 12, and 24 weeks post-treatment with sofosbuvir-containing regimens for hepatitis C virus. *Hepatology* 2015 61(1):41-5.
14. WHO guidelines on hepatitis B and C testing. Geneva: World Health Organization; 2017.
15. Saldanha J, Heath A., i wsp. World Health Organization collaborative study to establish a replacement WHO international standard for hepatitis C virus RNA nucleic acid amplification technology assays. *Vox Sanguinis* 2005 Apr; 88 (3):202-204.

POMOC TECHNICZNA

W przypadku problemów technicznych prosimy o kontakt z przedstawicielem Abbott Molecular pod numerem telefonu 1-800-553-7042 (w USA) albo +49-6122-580 (poza USA) lub o odwiedzenie strony internetowej Abbott Molecular pod adresem www.molecular.abbott/portal.

Aparat Abbott RealTime HCV jest importowany do Unii Europejskiej przez Abbott Diagnostics GmbH z siedzibą pod adresem 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 Abbott. Wszelkie prawa zastrzeżone.

www.abbottmolecular.com

51-608440/R1

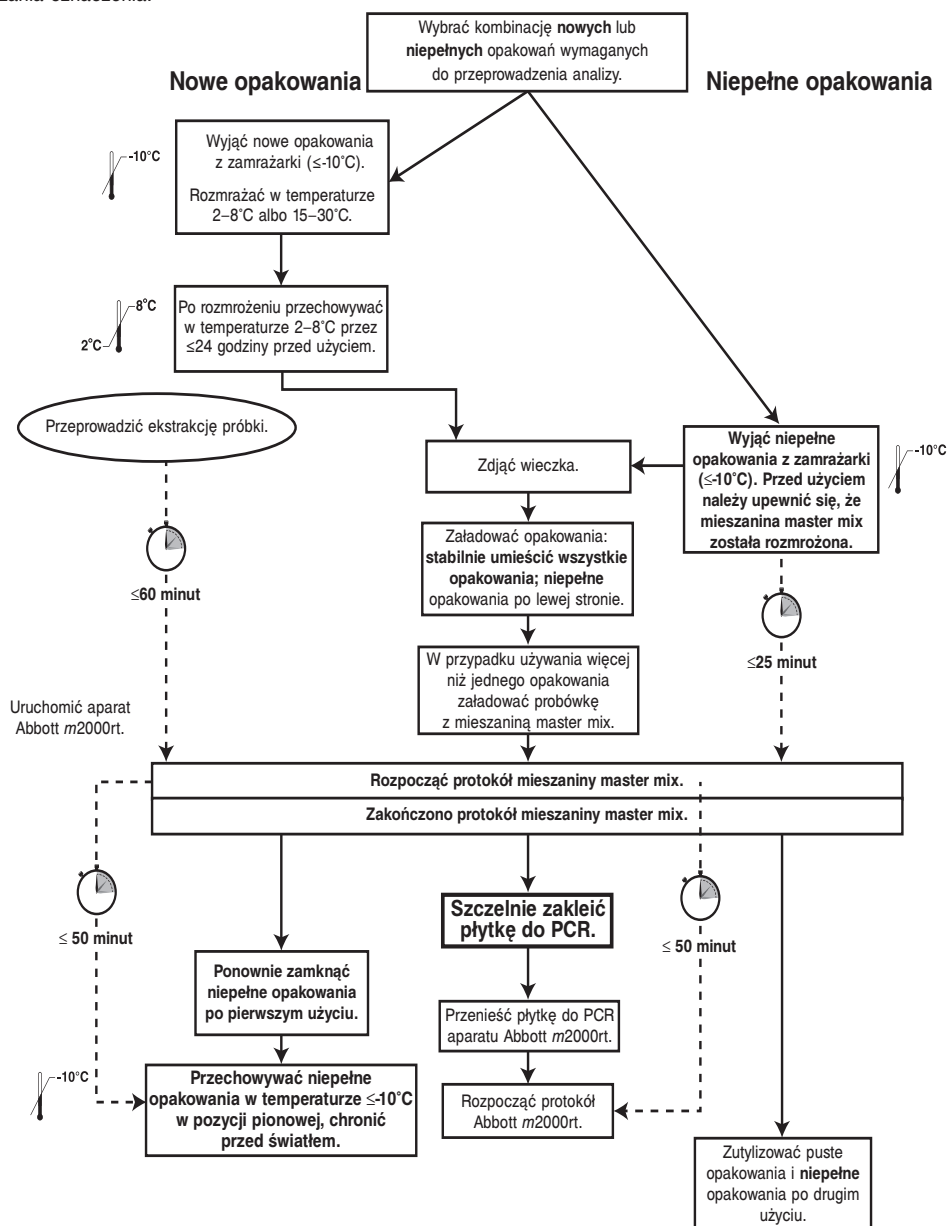
Lipiec 2020 r.

ZAŁĄCZNIK 1. INFORMACJE OGÓLNE NA TEMAT MOŻLIWOŚCI WYDŁUŻENIA UŻYCIA ODCZYNNIKA DO AMPLIFIKACJI ABBOTT REALTIME HCV

Możliwe jest wydłużenie czasu użycia odczynnika do amplifikacji, co umożliwia użycie zestawu odczynników do amplifikacji i kontroli wewnętrznej (IC) dwa razy. Opakowania odczynników do amplifikacji, które nie zostały jeszcze użyte do przygotowania mieszaniny reakcyjnej (master mix) są określane jako **nowe** opakowania odczynników. Opakowania odczynników do amplifikacji, które zostały już wcześniej użyte i zawierają gotową mieszaninę reakcyjną (master mix) są określane jako **niepełne** opakowania odczynników. Dodatkowe szczegółowe informacje można znaleźć w tej instrukcji.

Warunki przechowywania (opakowanie odczynnika do amplifikacji i fiolki kontroli wewnętrznej)		
Rodzaj opakowania	Temperatura przechowywania	Czas przechowywania
Nowe opakowania	-10°C albo niższa	Do daty podanej na etykiecie
Nowa kontrola wewnętrzna (IC)	-10°C albo niższa	Do daty podanej na etykiecie
Niepełne opakowania	-10°C albo niższa (ochrona przed światłem)	Do 14 dni po pierwszym użyciu
Niepełna kontrola wewnętrzna (IC)	-10°C albo niższa	Do 14 dni po pierwszym użyciu

- W przypadku stosowania UNG na potrzeby procedury kontroli zanieczyszczeń szczegółowe instrukcje zamieszczono w kroku 25 i 32 Protokołu przeprowadzania oznaczenia.



- Opakowania odczynników do amplifikacji nadające się do ponownego użycia muszą mieć sześciocyfrowy numer seryjny nad kodem kreskowym.
- Niepełne** opakowania odczynników do amplifikacji mogą zostać użyte ponownie w tym samym aparacie, w którym zostały użyte po raz pierwszy. Użycie ich w innym aparacie spowoduje błąd przetwarzania, co może opóźnić analizę.
- Można używać jednocześnie **niepełnych** i **nowych** opakowań odczynników do amplifikacji. Wszystkie opakowania odczynników do amplifikacji użyte w tym samym aparacie w danej analizie muszą mieć te same numery serii.

Abbott RealTime HCV

Kurumuş Kan Damlası (DBS) için Ek

tr

REF 04J86-010
51-608440/R1

GTIN
REF
IVD

04J86-010

51-608440/R1

Kullanılan Sembollerin Anlamları	
GTIN	Küresel Ticari Ürün Numarası
REF	Referans Numarası
IVD	İn Vitro Tanı Amaçlı Tıbbi Cihaz
	İzin Verilen Maksimum Süre
	Sıcaklığın Üst Sınırı
	Sıcaklık Sınırlaması
EC REP	Avrupa Topluluğu Yetkili Temsilcisi
	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 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 ve sağlık uzmanlarıdır.

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'yi 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 m2000sp sistemine yüklenmeden önce Abbott mSample Preparation System DBS Buffer Kit kullanılarak gerçekleştirilir. Analiz öncesi DBS işleminin ardından sonraki tüm adımlar m2000sp ve 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), kapağı 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 Tanısal 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 RealTime HCV analizi yalnızca m2000sp ve 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 Amplification Reagent Packs ve Internal Control (IC) flakonları kullanılmadığında -10°C veya altında saklanmalıdır. Kullanımda olan Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Pack'in; 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 çözülükten 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 1L69-040 veya üzeri) DBS için Abbott RealTime HCV uygulama dosyası yüklenmelidir. Uygulama dosyasının kurulumu hakkında ayrıntılı bilgi için Abbott m2000sp ve Abbott m2000rt İşletim Kılavuzları, Çalıştırma Talimatları bölümüne bakın.

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-Munkell TFN kağıt kart veya Whatman 903'teki 12 milimetrelilik (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. 9K14-01, 9K14-02)
- 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. 1L69-040 veya üzeri)
- m2000 System 13 mm DBS-PoST Set (Liste No. 09N03-001)
- 1,4 mL Micro Vial 15 mm Caps (Liste No. 3N20-01) 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 Instrument Amplification Area için

- Abbott m2000rt cihazı (Liste No. 9K15-01)
- Abbott RealTime HCV m2000 ROW System Combined Application CD-ROM (Liste No. 1L69-040 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. Bkz. Abbott RealTime HCV analizi (Liste No. 4J86) prospektüsündeki KALİTE KONTROL PROSEDÜRLERİ** bölümü.

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 kullanılarak temizleyin ve dezenfekte edin.
- Abbott RealTime HCV Calibrators ve Controls, test edilecek numunelerle birlikte hazırlanmalıdır. Abbott RealTime HCV Controls ve Calibrators'ın kullanımı, 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.

- 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 Operations Manual'a 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 Operations Manual'a (Liste 09K20 sürüm 6 veya üzeri) uyun.

Her çalışmada toplam 96 numune işlenebilir. Her çalışmaya 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 kullanıldığı hiçbir çalışmada plazma veya serum numunelerini işlemeyin. Her DBS numunesi için numade 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 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 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 çözünüz. Kalibratörleri yalnızca bir kalibrasyon çalışması gerçekleştiriliyorsa 15°C ila 30°C'de veya 2°C ila 8°C'de çözünüz.

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 çözünüz 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 Operations Manual (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 aşılırsa 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 Operations Manual, Çalıştırma Talimatları bölümünde belirtildiği şekilde yükleyin.
 - Protocol (Protokol) ekranından HCV RNA DBS uygulama dosyasını seçin. Numune ekstraksiyonu protokolünü Abbott m2000sp Operations Manual, 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. Lot'a 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.

Amplification Reagent Pack Gereklilikleri ^a			
1 ila 24 Reaksiyon	25 ila 48 Reaksiyon	49 ila 72 Reaksiyon	73 ila 96 Reaksiyon
Yeni ise 1; kısmi 4 paketlerde 4 adede kadar	Yeni ise 2; kısmi 4 paketlerde 4 adede kadar	Yeni ise 3; kısmi 4 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 Operations Manual (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 PIPET** 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 bkz. Abbott m2000sp Operations Manual.

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 Operations Manual, 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 Operations Manual (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 dönmeden önce eldivenlerinizi çıkarın.

30. Abbott m2000sp cihazı, numuneleri ve master mix eklemeyi tamamladıktan sonra Abbott 96-Well Optical Reaction Plate'i, Abbott m2000sp Operations Manual, 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 Operations Manual, 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 Operations Manual, 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 Operations Manual'a uygun olarak atın.
2. Abbott 96-Well Optical Reaction Plate'i kilitlenebilir plastik torbaya koyun ve Abbott m2000rt Operations Manual'a uygun olarak plakayı tutmak için kullanılan eldivenlerle birlikte atın.
3. Abbott Splash-Free Support Base'i bir sonraki kullanımdan önce Abbott m2000rt Operations Manual'a 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.

m2000sp ve 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 durumlarda 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 analizi (Liste No. 4J86) prospektüsü.

Negatif ve Pozitif Kontroller

Bkz. Abbott RealTime HCV analizi (Liste No. 4J86) prospektüsü.

Laboratuvarda Kontamine Olmuş Ürün Varlığını İzleme

Bkz. Abbott RealTime HCV analizi (Liste No. 4J86) prospektüsü.

DBS NUMUNELERİ İÇİN SONUÇLAR

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 TANISAL 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 ürünyle 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.

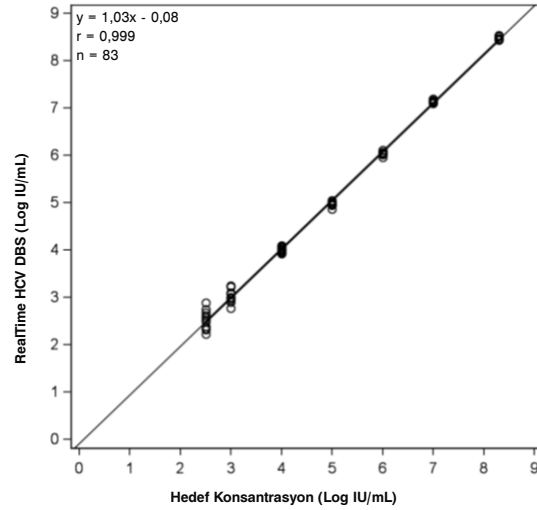
Tablo 1. DBS için Abbott RealTime HCV Saptama Sınırı (LOD)			
HCV RNA (IU/mL)	Test Edilen Sayı	Saptanan Sayı	Saptanan Yüzde
500	84	83	99
400	84	80	95
350	84	75	89
300	84	73	87
150	84	54	64
50	84	26	31

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 ila 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 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 tekrarlara 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

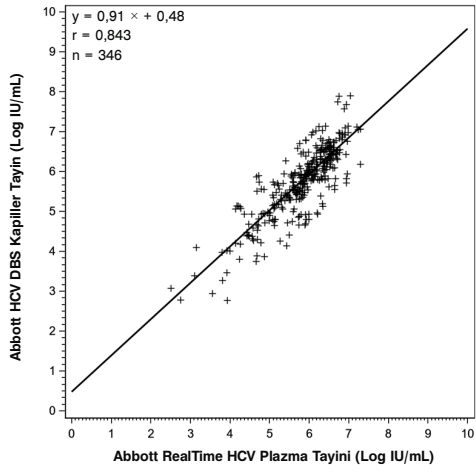
HCV RNA tayini için karşılaştırma, kurumuş kan damlaları kullanılarak yapılan Abbott RealTime HCV analizi ile insan plazması kullanılarak yapılan CE işaretli karşılaştırmalı analiz Abbott RealTime HCV testi arasında yapılmıştır. Analize toplam 346 gönüllüye ait (Gürcistan, Kamerun ve Yunanistan'da numune alınan ve test edilen) plazma ve DBS numuneleri dahil edilmiştir. Venöz kandan hazırlanan DBS ve kapiller kandan (parmakdan 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**.

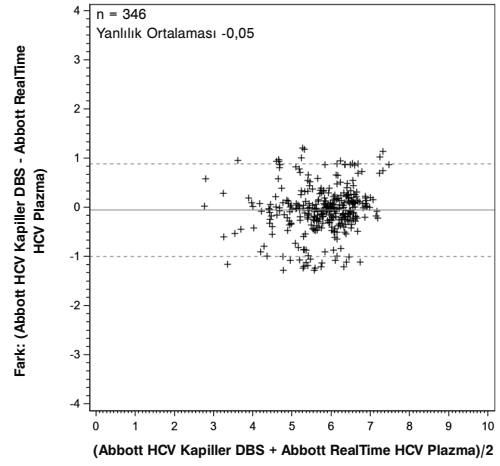
Tablo 3. LLOQ ve ULOQ Seviyesinde DBS (Kapiller veya Venöz) ve Plazma Arasındaki Tahmini Yanlışlık

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

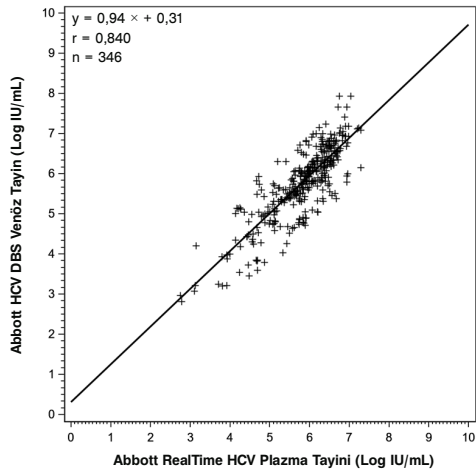
Şekil 2. Kapiller DBS ve Plazma



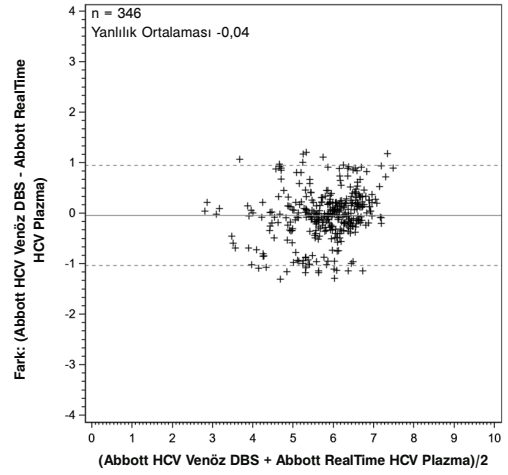
Şekil 5. Plazma'ya Karşı Kapiller DBS



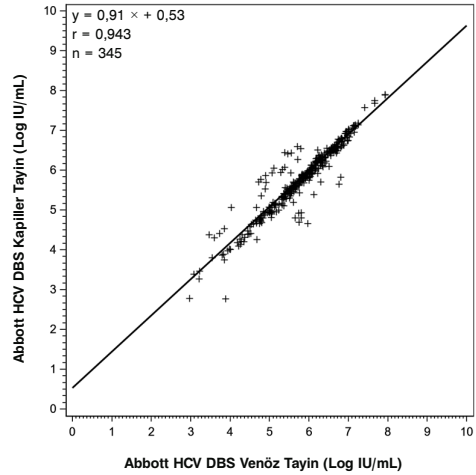
Şekil 3. Venöz DBS ve Plazma



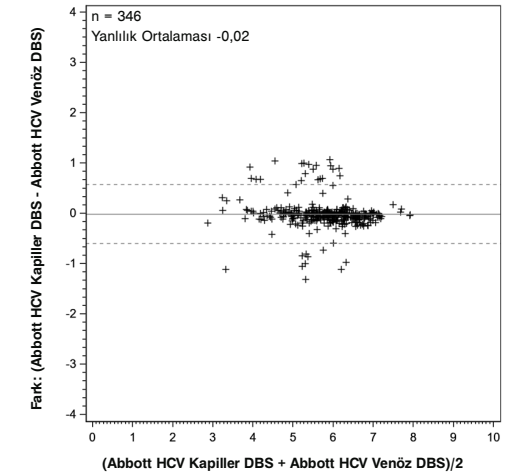
Şekil 6. Plazma'ya Karşı Venöz DBS



Şekil 4. Kapiller DBS ve Venöz DBS



Şekil 7. Venöz DBS'ye Karşı Kapiller DBS



KAYNAKÇA

1. Gower E, Estes C, Blach S, vd. Global epidemiology and genotype distribution of the hepatitis C virus infection. *J Hepatol*. 2014; 61(1):S45-S57.
2. World Health Organization Updated Version April 2016: Guidelines for the screening, care and treatment of persons with hepatitis C infection. <http://www.who.int/hepatitis/publications/hepatitis-c-guidelines-2016/en/>.
3. AASLID/IDSA Recommendations for testing, managing and treating hepatitis C, revised April, 2017. www.hcvguidelines.org.
4. European Association of the Study of the Liver. Recommendation on Treatment of Hepatitis C 2018. *J. Hepatology* (2018).
5. Miller MH, Agarwal K, Austin A, vd. Review article: 2014 UK consensus guidelines - hepatitis C management and direct-acting anti-viral therapy. *Aliment Pharmacol Ther*. 2014;39:1363-75.
6. Davis GL, Esteban-Mur R, Rustgi V, vd. Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin for the treatment of relapse of chronic hepatitis C. *N Engl J Med* 1998;339(21):1493-9.
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):958-65.
8. Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR, vd. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 2002;347(13):975-82.
9. Hadziyannis SJ, Sette H Jr., Morgan TR, vd. Peginterferon-[alpha]2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose. *Ann Intern Med* 2004;140(5):346-55.
10. Orlent H, Deltenre P, Francque S, vd. Update of the Belgian Association for the Study of Liver Guidelines for the Treatment of Chronic Hepatitis C Genotype 1 with Protease Inhibitors. *Acta Gastro-Enterologica Belgica* 2012;LXXV:245-259.
11. Halfon P, Bourliere M, Penaranda G, Khiri H ve OuzinD. Real-time PCR assays for hepatitis C virus (HCV) RNA quantitation are adequate for clinical management of patients with chronic HCV infection. *J. Clin Microbiology* 2006;44(7): 2507-2511.
12. Kowdley KV, Nelson DR, Lalezari JP, vd. 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):1611-8.
13. Yoshida EM, Sulkowski MS, Gane EJ, vd. Concordance of sustained virological response 4, 12, and 24 weeks post-treatment with sofosbuvir-containing regimens for hepatitis C virus. *Hepatology* 2015 61(1):41-5.
14. WHO guidelines on hepatitis B and C testing. Geneva: World Health Organization; 2017.
15. Saldanha J, Heath A., vd. World Health Organization collaborative study to establish a replacement WHO international standard for hepatitis C virus RNA nucleic acid amplification technology assays. *Vox Sanguinis* 2005 Apr; 88 (3):202-204.

TEKNİK YARDIM

Teknik yardım için 1-800-553-7042 (ABD içinde) veya +49-6122-580 (ABD dışında) numaralı telefondan Abbott Molecular Teknik Hizmetler birimini arayın veya www.molecular.abbott/portal adresinden Abbott Molecular web sitesini ziyaret edin.

Abbott RealTime HCV, Max-Planck- Ring 2, 65205 Wiesbaden, Almanya adresinde bulunan Abbott Diagnostics GmbH tarafından Avrupa Birliği'ne ithal edilir



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



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



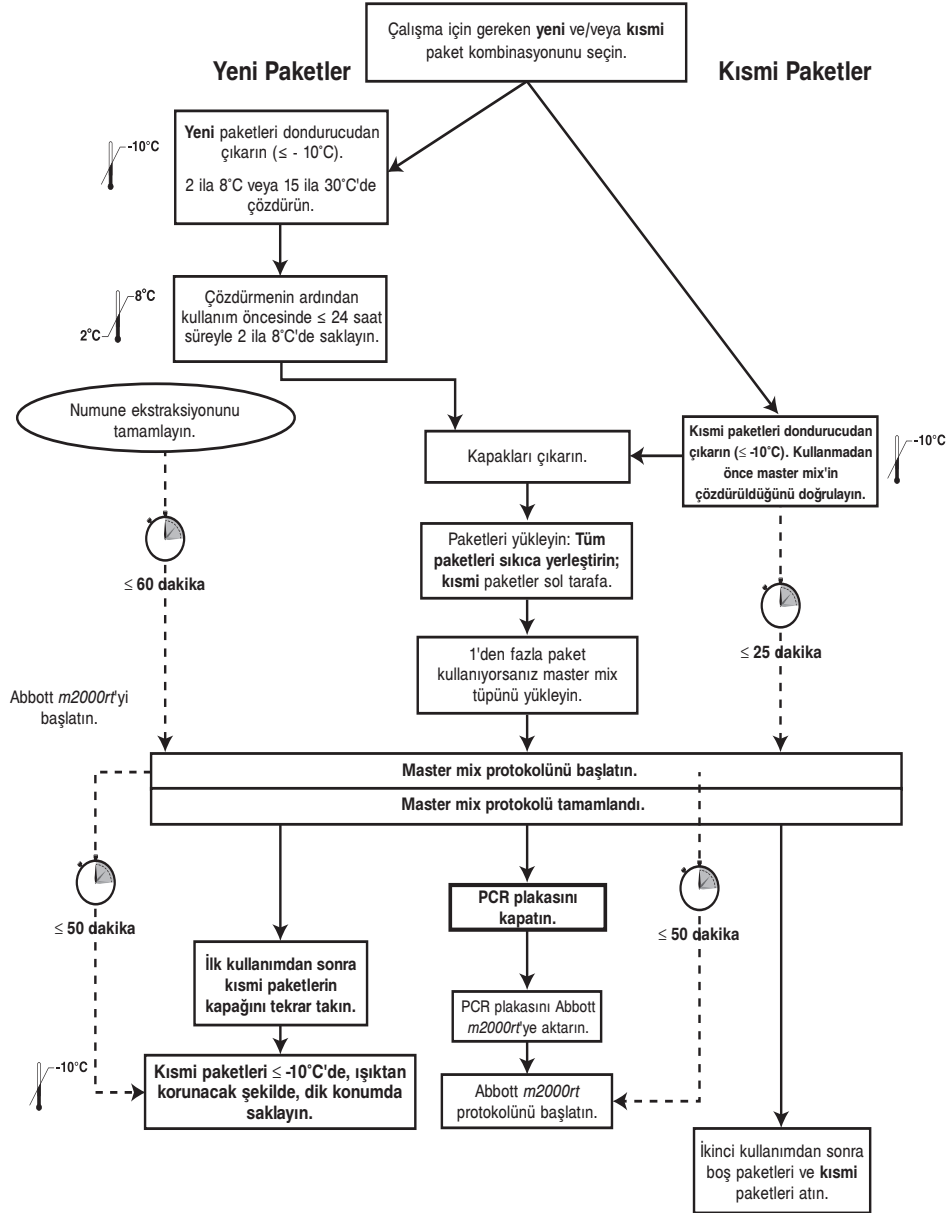
© 2020 Abbott. Tüm Hakları Saklıdır.
www.abbottmolecular.com
51-608440/R1
Temmuz 2020

EK 1. ABBOTT REALTIME HCV AMPLIFICATION REAGENT GENİŞLETİLMİŞ KULLANIM ÖZELLİĞİNE GENEL BAKIŞ

Amplifikasyon reaktifi genişletilmiş kullanım özelliği, bir amplifikasyon reaktif paketinin ve dahili kontrolün (IC) toplam 2 kez kullanılmasını sağlar. Master mix'i hazırlamak için henüz kullanılmamış amplifikasyon reaktif paketleri, **yeni** amplifikasyon reaktif paketleri olarak adlandırılır. Bir kez kullanılmış ve hazırlanmış master mix'i içeren amplifikasyon reaktif paketleri, **kısmi** amplifikasyon reaktif paketleri olarak adlandırılır. Ek detaylar için bu kılavuzda verilen talimatlara bakın.

Saklama Koşulları (Amplification Reagent Pack ve Dahili Kontrol Flakonları)		
Paket Türü	Saklama Sıcaklığı	Saklama Süresi
Yeni Paketler	-10°C veya altında	Etikette belirtilen tarihe kadar
Yeni IC	-10°C veya altında	Etikette belirtilen tarihe kadar
Kısmi Paketler	-10°C veya altında (ışıkta korunacak şekilde)	İlk kullanımdan sonra 14 güne kadar
Kısmi IC	-10°C veya altında	İlk kullanımdan sonra 14 güne kadar

- Kontaminasyon kontrol prosedürü için UNG kullanılıyorsa spesifik talimatlar için Analiz Protokolü, adım 25 ve 32'ye bakın.



- Genişletilmiş kullanıma uygun amplifikasyon reaktif paketlerinde barkodun üzerinde 6 haneli bir seri numarası olmalıdır.
- Kısmi** amplifikasyon reaktif paketleri, ilk kullanımdakiyle aynı cihazda yalnızca ikinci kez kullanılabilir. Bu paketlerin farklı bir cihazda kullanılması, bir işleme hatasına neden olarak çalışmanın gecikmesine yol açabilir.
- Kısmi** ve **yeni** amplifikasyon reaktif paketleri birlikte kullanılabilir. Bir çalışma için cihazda kullanılan tüm amplifikasyon reaktif paketleri aynı lot numarasına sahip olmalıdır.

Abbott RealTime HCV

Kiegészítő szárított vércsepp (Dried Blood Spot, DBS) mintához

hu

GTIN

REF

04J86-010

IVD

51-608440/R1

REF 04J86-010

51-608440/R1

Az alkalmazott szimbólumok magyarázata

	Nemzetközi kereskedelmi tételszám
	Hivatkozási szám
	In vitro diagnosztikai orvostechnikai eszköz
	Maximális megengedett idő
	A hőmérséklet felső határa
	Hőmérsékleti korlátozás
	Meghatalmazott képviselő az Európai Közösségben
	Gyártó

NEMZETKÖZI ÜGYFÉLSZOLGÁLAT: HÍVJA AZ ABBOTT KÉPVISELŐJÉT

Ezt a használati útmutatót használat előtt gondosan el kell olvasni. A használati útmutatóban szereplő utasításokat ennek megfelelően be kell tartani. Az ebben a használati útmutatóban található utasításoktól való eltérés esetén a vizsgálati eredmények megbízhatósága nem garantálható.

Ez a használati útmutató kiegészíti az Abbott RealTime HCV assay (jegyzékszám: 4J86) használati útmutatót, különösen szárított vércsepp (Dried Blood Spot, DBS) mintatípus esetén.

MEGJEGYZÉS A FELHASZNÁLÓNAK

Ha a készülékkel kapcsolatban súlyos baleset történik, a balesetet jelenteni kell a gyártónak, illetve a felhasználó és/vagy a beteg tartózkodási helyének megfelelő illetékes hatóság felé. A gyártónak való jelentéssel kapcsolatban tekintse meg a jelen útmutató műszaki segítségére vonatkozó részében található kapcsolatfelvételi információkat.

NÉV

Abbott RealTime HCV

ALKALMAZÁSI TERÜLET DBS ESETÉN

Az Abbott RealTime HCV vizsgálat egy in vitro reverz transzkripció polimeráz láncreakció (RT-PCR) assay a hepatitis C vírus RNS (HCV RNS) mennyiségének kvantitatív meghatározására, HCV fertőzésben szenvedő egyénekből származó kártyán lévő teljesvércseppekben, szárított vércsepp (DBS) minta formájában (azaz vénaszúrással vagy kapilláris vérből nyert mintával). Az Abbott RealTime HCV assay antivirális terápiában részesülő HCV-fertőzött betegek kezelésének elősegítésére szolgál. Az Abbott RealTime HCV assay nem alkalmas vér, plazma, szérum vagy szöveti donorok HCV-re történő szűrésére, illetve diagnosztikai tesztként való felhasználásra a HCV-fertőzés jelenlétének igazolására.

TERVEZETT FELHASZNÁLÓCSOPORT

Az Abbott RealTime HCV assay laboratóriumok és egészségügyi szakemberek számára készült.

A TESZT ÖSSZEFOGLALÁSA ÉS MAGYARÁZATA

A hepatitis C vírus (HCV) a májbetegség egyik fő oka. A becslések szerint a népesség körülbelül 1,1% -a szenved krónikus hepatitis C fertőzésben¹, és évente körülbelül 700 000 ember hal meg hepatitis C-vel összefüggő májbetegségben.² A HCV egy pozitív szálú RNS-vírus, mely elsősorban intravénás kábítószer-használat és vérkészítmények útján terjed. A HCV-fertőzött egyének kb. 55–85% -ánál alakul ki

krónikus hepatitis, míg a krónikusan fertőzött személyek legfeljebb 30% -ánál alakul ki cirrhosis.¹ A cirrhosisban szenvedő betegeknél a hepatocellularis carcinoma előfordulása évente 2–4%.¹

A perifériás vérben a HCV RNS szintjének kvantitatív mérése alapvető paraméternek bizonyult a különböző HCV elleni terápiák kezelésében.⁶⁻¹³ A direkt hatású vírusellenes kezelési rezsimek megjelenésével a HCV-fertőzés kezelésében drasztikus előrelépés történt. A HCV elleni terápiák célja a tartós virológiai válasz (sustained virological response, SVR) elérése, amely a kimutatható HCV RNS folyamatos hiányként határozható meg.²⁻⁵ A HCV vírusterhelés mérését a kezelés időtartamának és a válasz által irányított terápia individualizálására, illetve az antivirális terápiára adott tartós vagy nem tartós virológiai válasz meghatározására vagy előrejelzésére alkalmazták.²⁻⁵

A globális HCV-teher nagy része az alacsony és közepes jövedelmű országokat (low- and middle-income countries, LMICs) érinti.¹⁴ Az aktív HCV-fertőzésben szenvedő betegek azonosítása nagyon korlátozott ezeken a területeken, ahol kevés erőforrás áll rendelkezésre. A szárított vércsepp (DBS) mintaként vett teljes vér a szérum vagy plazma alternatívjaként használható a HCV RNS vizsgálatához. A DBS kivitelezhető lehetőséget jelent, amely kiküszöböli a szérum vagy plazma gyűjtésével, feldolgozásával, tárolásával és szállításával kapcsolatos számos logisztikai és műszaki korlátot. Az Egészségügyi Világszervezet (World Health Organization, WHO) hepatitis C vizsgálatával kapcsolatos iránymutatásai megfogalmaznak ajánlásokat a DBS HCV virológiai vizsgálatában történő felhasználására vonatkozóan, azokon a területeken, ahol korlátozottak az erőforrások.¹⁴

Az Abbott RealTime HCV assay for DBS reverz transzkripció polimeráz láncreakció (RT-PCR) technológiát alkalmaz, homogén valós idejű fluoreszcens detektálással kombinálva, a HCV RNS DBS mintából történő meghatározásához. A HCV genom konzervált régiójának kiválasztása lehetővé teszi az 1-6. genotípus kimutatását. A vizsgálatot a 2nd WHO International Standard for Hepatitis C Virus RNA (NIBSC kód: 96/798) (Hepatitis C vírus RNS 2. nemzetközi WHO standard)¹⁵ felhasználásával standardizáltuk, az eredményeket pedig nemzetközi egység/mL (NE/mL) mértékegységben vagy annak 10-es alapú logaritmusos megfelelőjében adjuk meg.

AZ ELJÁRÁS BIOLÓGIAI ALAPJAI

Az Abbott RealTime HCV assay for DBS 3 reagens készletet igényel:

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

Az Abbott RealTime HCV assay for DBS RT-PCR alkalmazásával hozza létre az amplifikált terméket az emberi DBS mintákban lévő HCV RNS genomból. Az Abbott RealTime HCV assay for DBS lépései a következők: peranalitikai DBS kezelés, mintaelőkészítés, az RT-PCR összeállítása, amplifikáció, detektálás és az eredmények jelentése. A preanalitikai DBS kezelést az Abbott mSample Preparation System DBS Buffer Kit készlettel végezzük mielőtt a mintát behelyezzük az m2000sp rendszerbe. A preanalitikai DBS kezelést követően minden további lépést az m2000sp és m2000rt rendszerek végeznek el automatikusan. A minta-előkészítéssel az RT-PCR összeállításával, az amplifikációval és a detektálással kapcsolatos további részletekért lásd az Abbott RealTime HCV assay (jegyzékszám: 4J86) használati útmutatóját.

AMPLIFIKÁCIÓS REAGENS MEGHOSSZABBÍTOTT HASZNÁLATA

Az amplifikációs reagens meghosszabbított használata opció lehetővé teszi az amplifikációs reagenscsomagok és az IC összesen 2 alkalommal történő használatát. Az előkészített Master Mixet tartalmazó amplifikációs reagenscsomagok –10 °C-on vagy annál hidegebb hőmérsékleten, lezárva és fénytől védve kell tárolni, a második használat előtt legfeljebb 14 napig. A belső kontroll (internal control, IC) -10 °C-on vagy ennél hidegebb hőmérsékleten tárolandó, a második használat előtt legfeljebb 14 napig. A második felhasználás nem haladhatja meg a reagens lejáratát idejét.

Ennek a funkciónak az áttekintése a jelen használati útmutató 1. mellékletében található.

Ebben a használati útmutatóban a még nem használt amplifikációs reagenscsomagokat és belső kontrollt új amplifikációs reagenscsomagoknak és belső kontrollnak nevezzük (azaz első használat). Az egyszer már használt amplifikációs reagenscsomagokat, amelyek elkészített Master Mixet tartalmaznak, részleges amplifikációs reagenscsomagoknak fogjuk nevezni. Az egyszer már használt belső kontroll üvegeket részleges belső kontroll üvegnek nevezzük.

A NUKLEINSAV-SZENNYEZÉS MEGELŐZÉSE

Lásd az Abbott RealTime HCV assay (jegyzékszám: 4J86) használati útmutatóját.

REAGENSEK

Lásd az Abbott RealTime HCV assay (jegyzékszám: 4J86) használati útmutatóját.

FIGYELMEZTETÉSEK ÉS ÓVINTÉZKEDÉSEK

IVD

In vitro diagnosztikai felhasználásra

Az Abbott RealTime HCV assay for DBS nem alkalmas vér, plazma, szérum vagy szöveti donorok HCV-re történő szűrésére, illetve diagnosztikai tesztként való felhasználásra a HCV-fertőzés jelenlétének igazolására.

BIZTONSÁGI ÓVINTÉZKEDÉSEK

Lásd az Abbott RealTime HCV assay (jegyzékszám: 4J86) használati útmutatóját. A RealTime HCV assay for DBS kizárólag az m2000sp és m2000rt berendezésekkel használható

KÜLÖNLEGES ÓVINTÉZKEDÉSEK

A DBS minták kezelésére vonatkozó óvintézkedések

Az Abbott RealTime HCV assay for DBS kizárólag olyan teljes vér vagy DBS mintákkal használható, amelyeket **A MINTÁK LEVÉTELE, TÁROLÁSA ÉS A VIZSGÁLAT HELYSZÍNÉRE SZÁLLÍTÁSA** c. pontban leírtaknak megfelelően kezeltek és tároltak.

Lásd az Abbott RealTime HCV assay (jegyzékszám: 4J86) használati útmutatóját.

A kezelésre vonatkozó óvintézkedések DBS minták esetén:

- A nedvszívó anyagot tartalmazó tasakban való tárolás előtt ellenőrizze, hogy a DBS kártyák teljesen megszáradtak. A DBS nem megfelelő elkészítése, szárítása, tárolása és kezelése pontatlan vizsgálati eredményekhez vezethet.
- Az átvitt szennyeződés elkerülése érdekében minden egyes DBS-mintához használjon új pipettát, amikor a foltot kialakítja a perforált DBS-kártyán. Nem perforált DBS-kártya használata esetén győződjön meg arról, hogy a folt kialakításához használt eszköz a DBS-mintával való érintkezés előtt és után fertőtlenítté lett.

Munkaterületek

Az Abbott m2000sp és Abbott m2000rt használata esetén mindössze két, erre a célra kialakított terület, a Mintaelőkészítési terület és az Amplifikációs terület javasolt.

Lásd az Abbott RealTime HCV assay (jegyzékszám: 4J86) használati útmutatóját.

Aeroszol okozta szennyeződés

Lásd az Abbott RealTime HCV assay (jegyzékszám: 4J86) használati útmutatóját.

Szennyeződés és inhibíció

Lásd az Abbott RealTime HCV assay (jegyzékszám: 4J86) használati útmutatóját.

Külső dU-tartalmú amplifikációs termék okozta szennyeződés

Azoknál a laboratóriumoknál, amelyek az amplifikált termék PCR utáni feldolgozását magukban foglaló HCV amplifikációs vizsgálatokat használnak vagy használtak, előfordulhat a dU-tartalmú amplifikált termékkel való szennyeződés. Az ilyen szennyezés pontatlan eredményeket okozhat az Abbott RealTime HCV assay for DBS használata során. Lásd **A szennyezés jelenlétének ellenőrzése a laboratóriumban** c. pontot az Abbott RealTime HCV assay (jegyzékszám: 4J86) használati útmutatójában. Ha a negatív kontrollok folyamatosan reagálnak, vagy ha valószínűleg szennyeződés történt dU-tartalmú, HCV-amplifikált termékkel, akkor a laboratóriumnak ajánlatos elvégezni az uracil-N-glikoziláz (UNG) kontamináció-ellenőrzési eljárást, ha a laboratórium dekontaminálása sikertelen.

TÁROLÁSRA VONATKOZÓ UTASÍTÁSOK

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



- Az új és **részleges** Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Packs csomagokat és az Internal Control (IC) üvegeket – 10 °C-on vagy annál alacsonyabb hőmérsékleten kell tárolni, amikor nem használják. Ügyelni kell arra, hogy a használatban lévő Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Pack csomag ne kerüljön közvetlen érintkezésbe mintákkal, kalibrátorokkal és kontrollokkal.
- A **részleges** amplifikációs reagenscsomagokat és az IC üvegeket – 10 °C-on vagy annál alacsonyabb hőmérsékleten, visszahelyezett kupakkal, álló helyzetben és fénytől védve kell tárolni az első használat után. Így tárolva az elkészített Master Mixet tartalmazó **részleges** amplifikációs reagenscsomagok másodszor is felhasználhatók, az első használatától számított 14 napon belül. Az IC üveg is felhasználható második alkalommal a kiolvasztástól számított 14 napon belül, ha visszahelyezett kupakkal – 10 °C-on vagy annál alacsonyabb hőmérsékleten tárolták. Két használat után a részleges amplifikációs reagenscsomagokat és az IC üvegeket ki kell dobni. A második felhasználás nem haladhatja meg a reagens lejáratí idejét.

Abbott RealTime HCV Control Kit (jegyzékszám: 4J86-80)



- Az Abbott RealTime HCV Negative and Positive Controls kontrollokat – 10 °C-on vagy annál alacsonyabb hőmérsékleten kell tárolni.

Abbott RealTime HCV Calibrator Kit (jegyzékszám: 4J86-70)



- Az Abbott RealTime HCV Calibrator A and Calibrator B kalibrátorokat – 10 °C-on vagy annál alacsonyabb hőmérsékleten kell tárolni.

SZÁLLÍTÁSI KÖRÜLMÉNYEK

Lásd az Abbott RealTime HCV assay (jegyzékszám: 4J86) használati útmutatóját.

A REAGENSEK INSTABILITÁSÁNAK VAGY BOMLÁSÁNAK JELEI

Lásd az Abbott RealTime HCV assay (jegyzékszám: 4J86) használati útmutatóját.

A BEREDEZÉSEL KAPCSOLATOS ELJÁRÁS

Az Abbott RealTime HCV for DBS alkalmazásfájl telepíteni kell az Abbott m2000sp és Abbott m2000rt rendszerekre az Abbott RealTime HCV m2000 ROW System Combined Application CD-ROM lemeztől (jegyzékszám: 1L69-040 vagy későbbi verzió) az assay elvégzése előtt. Az alkalmazásfájl telepítésével kapcsolatos információkat lásd az Abbott m2000sp és az Abbott m2000rt rendszer Kezelési kézikönyvének, Kezelési utasítások c. pontjában.

A MINTÁK LEVÉTELE, TÁROLÁSA ÉS A VIZSGÁLAT HELYSZÍNÉRE SZÁLLÍTÁSA

Mintavétel- és tárolás

- A DBS elkészítéséhez használjon ujjbegyszűrésből származó vagy EDTA teljes vért. Az EDTA teljes vért ellenőrzött hőmérsékletű körülmények között kell tárolni a tárolás és a szállítás során (2–8 °C-on legfeljebb 48 órán keresztül, vagy a környezeti hőmérséklet nem haladhatja meg a 30 °C-ot legfeljebb 24 órán keresztül).
- A csőbe levett EDTA teljes vért a foltképzés előtt alaposan össze kell keverni, enyhé megfordítással. Cseppentse a vért fél hüvelyk (12 milliméter) nagyságú körökre egy Ahlstrom-Munktel TFN papír kártyára vagy Whatman 903 kártyára, ügyelve arra, hogy a teljes kör le legyen fedve. A teljes lefedés biztosítása érdekében ajánlatos legalább 70 µL vért (kb. 3-5 vércsepp) felhasználni minden körre.
- Levegőn szárítsa a kártyát környezeti hőmérsékleten legalább 3 órán keresztül. Csomagolja be az egyes kártyákat nedvszívó anyag csomagokat tartalmazó lezárható tasakba (legalább 2-3 nedvszívó anyag csomag).
- A DBS minta kártyák az alábbi táblázatban meghatározott körülmények között tárolhatók az assay eljárás megkezdése előtt.

DBS minta kártya 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 vagy alacsonyabb hőmérséklet, környezeti páratartalom	18 hét

A minta szállítása

A minták szállítását a **Mintatárolás és -szállítás** c. fenti pontban felsorolt javasolt tárolási hőmérsékleten és időtartamokkal kell végezni. A belföldi és a nemzetközi szállítmányok esetében a mintákat a klinikai, diagnosztikai vagy biológiai minták szállítására vonatkozó állami, szövetségi és nemzetközi előírásoknak megfelelően kell csomagolni és címkézni.

Az ABBOTT REALTIME HCV ASSAY ELJÁRÁS DBS MINTÁK ESETÉN

Szükséges, de nem mellékelt anyagok

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

Az Abbott m2000sp berendezéshez Mintaelőkészítési terület

- Abbott mSample Preparation System DBS Buffer Kit (jegyzékszám: 09N02-001)
- Abbott m2000sp berendezés (jegyzékszám: 9K14-01, 9K14-02)
- Abbott mSample Preparation System (4 × 24 előkészítés) (jegyzékszám: 04J70-24)
- Kalibrált precíziós pipetták, amelyek 20–1000 µL kimérésére alkalmasak (UNG használata esetén szükség lehet <20 µL kimérésére alkalmas kalibrált precíziós pipettákra.)
- Aeroszol szűrőbetétes pipettahegyek 20–1000 µL-es pipettákhoz (UNG használata esetén szükség lehet <20 µL kimérésére alkalmas aeroszol szűrőbetétes pipettahegyekre).
- Vortex Mixer
- Master Mix Tube (jegyzékszám: 04J71-80)
- Abbott 96-Deep-Well Plate (jegyzékszám: 04J71-30)
- 5 mL Reaction Vessels (jegyzékszám: 04J71-20)
- 200 mL reagent vessels (jegyzékszám: 04J71-60)
- Abbott 96-Well Optical Reaction Plate (jegyzékszám: 04J71-70)
- Abbott Optical Adhesive Covers (jegyzékszám: 04J71-75)
- Abbott Adhesive Cover Applicators (jegyzékszám: 9K32-01)
- Abbott Splash-Free Support Base (jegyzékszám: 9K31-01)
- Abbott RealTime HCV m2000 ROW System Combined Application CD-ROM (jegyzékszám: 1L69-040 vagy újabb verzió)
- m2000 System 13mm DBS-PoS Set (jegyzékszám: 09N03-001)
- 1,4 mL Micro Vial 15mm Caps (jegyzékszám: 3N20-01) optional
- Uracil N-Glycosylase (UNG)^a (jegyzékszám: 6L87-02)

^a Szükség esetén, a jelen használati útmutató **Külső dU-tartalmú amplifikációs termék okozta szennyeződés** c. pontja alapján.

Az Abbott m2000rt berendezéshez Amplifikációs terület

- Abbott m2000rt berendezés (jegyzékszám: 9K15-01)
- Abbott RealTime HCV m2000 ROW System Combined Application CD-ROM (jegyzékszám: 1L69-040 vagy újabb verzió)
- Abbott m2000rt Optical Calibration Kit (jegyzékszám: 04J71-93)

Egyéb anyagok

- A fertőző anyagokkal történő munkavégzéshez engedélyezett biológiai biztonsági fülke
- Zárható tasak a DBS kártyához
- Nedvszívó anyag csomag a DBS kártyához
- Ahlstrom-Munktel TFN papír kártya és/vagy Whatman 903
- Zárható műanyag tasak eldobható, 96 mérőcellás reakciólemezhez
- RNáz mentes víz (Eppendorf vagy annak megfelelő)^b
- 1,7 mL molekuláris biológiai minőségű mikrocentrifuga csövek (Dot Scientific, Inc. vagy annak megfelelő)^b
- Applikátor pálca (Puritan vagy annak megfelelő)^b

^b **Megjegyzés:** Ez a 3 tételt a szennyezés jelenlétének ellenőrzése a laboratóriumban eljárás során használjuk. Lásd a **MINŐSÉGELLENŐRZÉSI ELJÁRÁSOK** c. pontot az Abbott RealTime HCV assay (jegyzékszám: 4J86) használati útmutatójában.

Az eljárással kapcsolatos óvintézkedések

- A minták feldolgozása előtt figyelmesen olvassa el az ebben a használati útmutatóban található utasításokat.
- Az amplifikációs reagensek és a belső kontroll legfeljebb kétszer használhatóak, az ebben a használati útmutatóban leírtak szerint. Az Abbott RealTime HCV Calibrators, Negative Control, Low Positive Control és High Positive Control üvegek kizárólag egyszeri felhasználásra szolgálnak, és használat után el kell dobni őket.
- A minták vagy az IC pipettázásához kizárólag egyszer használjon aeroszol szűrőbetétes védőpipettát vagy eldobható pipettát használhatók. A pipettahenger pipettázás közbeni szennyeződésének megakadályozása érdekében ügyeljen arra, hogy ne érintse hozzá a pipettahengert a mintacső vagy -tartály belsejéhez. Meghosszabbított aeroszol szűrőbetétes pipettahegy használata javasolt.
- Az amplifikációs termék jelenlétének ellenőrzésére szolgáló eljárásokat a **MINŐSÉGELLENŐRZÉSI ELJÁRÁSOK** c. pont tartalmazza.
- A nukleinsavszennyezés kockázatának csökkentése érdekében tisztítsa meg és fertőtlenítsa a kiömlött minta területét tuberkulocid fertőtlenítőszer, például 1,0% nátrium-hipoklorit vagy más megfelelő fertőtlenítőszer alkalmazásával.
- Az Abbott RealTime HCV Calibrators és Controls termékeket a vizsgálandó mintákkal együtt kell előkészíteni. Az Abbott RealTime HCV Controls és Calibrators alkalmazása elengedhetetlen az Abbott RealTime HCV assay megfelelő teljesítményének biztosításához. Lásd a **MINŐSÉGELLENŐRZÉSI ELJÁRÁSOK** c. pontot.
- Az Abbott m2000sp Master Mix Addition protokollt a minta előkészítése után 1 órán belül el kell indítani.
- Ha az Abbott m2000sp master mix protokoll megszakad, akkor ki kell dobni a másodszorra használt amplifikációs reagenseket. Az első alkalommal használt új reagensek csomagok eltehetők és későbbi felhasználás céljából tárolhatók, a jelen kézikönyvben leírtak szerint.
- A m2000rt protokollt a Master Mix Addition protokoll elindításától számított 50 percen belül el kell indítani. Ha az Abbott m2000rt berendezést 50 percen belül nem indítják el, vagy a futtatást megszakítják vagy törlik, akkor helyezze az Abbott 96-Well Optical Reaction Plate lemezt egy lezárható műanyag zacskóba, és az Abbott m2000rt Kezelési kézikönyv szerint ártalmatlanítsa a lemez kezeléséhez használt kesztyűvel együtt.

FONTOS: A másodszor használt amplifikációs reagenseket –10 °C-on vagy alacsonyabb hidegebb hőmérsékletre kell helyezni, a Master Mix Addition protokoll megkezdésétől számított 50 percen belül.

ASSAY PROTOKOLL: AZ ABBOTT m2000sp ÉS AZ ABBOTT m2000rt BERENDEZÉSEKET ALKALMAZÓ DBS MINTÁK

Az Abbott m2000sp berendezés és az Abbott m2000rt berendezés protokolljának elvégzésére vonatkozó részletes leírást, lásd az Abbott m2000sp és az Abbott m2000rt Kezelési kézikönyvek Kezelési utasítások c. pontjaiban. A DBS protokollhoz az Abbott m2000sp Software Version 6.0 vagy annál újabb szoftververzió szükséges. Kérjük, kövesse az Abbott m2000sp Kezelési kézikönyvében leírtakat (jegyzékszám: 09K20 6. vagy újabb verzió).

Futtatásonként összesen 96 minta dolgozható fel. Minden vizsgálatban szerepel negatív kontroll, alacsony pozitív kontroll és magas pozitív kontroll, így futtatásonként legfeljebb 93 DBS mintát lehet feldolgozni, ha a kalibrátorokat nem tartalmaz. A kalibrátorokat és kontrollokat folyadékmentként dolgozza fel; az 1-5. lépés csak a DBS-re vonatkozik. Ne dolgozzon fel plazma- vagy szérummintákat olyan futtatásban, ahol DBS protokollt használnak. Minden DBS-mintához egyetlen Abbott Master Mix Tube csövet kell használni a teljes mintafeldolgozási eljáráshoz. Győződjön meg arról, hogy a DBS mintákat a feldolgozás során megfelelően felcímkézik.

- Töltse fel az Abbott Master Mix Tube csövet 1,3 mL mDBS pufferrel, amely az Abbott mSample Preparation system DBS Buffer Kit (jegyzékszám: 09N02-001) készletben található.

MEGJEGYZÉS: Ehhez a lépéshez ne használjon mLysis Buffer terméket vagy más reagenseket

- Tartsa a perforált DBS papír kártyát az Abbott Master Mix Tube fölé.

- Nyomja ki a DBS kört a kártyából egy tiszta pipettaheggyel, 1 DBS kört nyomjon egy Master Mix Tube csőbe. Minden DBS kör átmérőjének körülbelül fél hüvelyknek (12 milliméternek) kell lennie.

MEGJEGYZÉS: A KERESZTSZENNYEZŐDÉS ELKERÜLÉSE ÉRDEKÉBEN MINDEN DBS MINTÁHOZ ÚJ PIPETTAHEGYET HASZNÁLJON.

Alternatívaként, nem perforált DBS papír esetében vágjon ki egy teljes DBS-t (körülbelül fél hüvelyk átmérőjű) minden egyes mintánál, és tegye bele egy Master Mix Tube csőbe.

MEGJEGYZÉS: Ügyeljen arra, hogy a vágófelület ne kerüljön közvetlen érintkezésbe a DBS mintákkal. Szükség szerint, a helyes laboratóriumi gyakorlatnak megfelelően a minták között dekontaminálja a DBS kivágásához használt eszközt.

- Gondoskodjon arról, hogy a DBS kör teljesen belemerül a mDBS Buffer pufferbe oly módon, hogy megüthető a csövet vagy a pipettaheggyel belenyomja a DBS-t a pufferbe.

MEGJEGYZÉS: Ha pipettaheggyel nyomja bele a DBS-t a pufferbe, akkor ügyeljen arra, hogy a pipettahegy ne okozzon DBS-puffer térfogatvesztést, a hegybe felszívódó folyadék és/vagy a puffernek a hegyben lévő szűrőbe történő abszorpciója miatt.

- Manuálisan rázza vagy forgassa meg a mintacsöveket. Ne kevertesse a mintákat vortex keverővel. Inkubálja 30 percig (± 2 perc) környezeti hőmérsékleten.
- Eközben olvassa ki az assay kontrollok és a belső kontrollt (IC) 15–30 °C vagy 2–8 °C hőmérsékleten. A kalibrátorokat kizárólag 15–30 °C vagy 2–8 °C hőmérsékleten szabad kiolvasztani, ha a futtatás során kalibrátort is alkalmaznak.

MEGJEGYZÉS: Kiolvasztás után az assay kontrollok, az IC és a kalibrátorok felhasználás előtt 2–8 °C-on tárolhatók legfeljebb 24 órán keresztül.

- Használat előtt vortexelje az egyes assay kalibrátorokat és az egyes kontrollokat háromszor 2-3 másodpercig. Gondoskodjon arról, hogy az egyes üvegek tartalma alul legyen oly módon, hogy odaüthetői az üvegeket a laborasztalhoz, hogy a folyadék kerüljön az üveg alá. Ügyeljen arra, hogy ne keletkezzen buborék vagy hab; ha van, távolítsa el egy steril pipettával, minden egyes üveghez új hegyet használva.
- Az amplifikációs reagenseket 15–30 °C-on vagy 2–8 °C-on olvassa ki, és 2–8 °C-on tárolja az amplifikáció Master Mix eljárásához történő felhasználásig.
- Válassza ki a futtatáshoz használandó új és/vagy részleges amplifikációs reagens csomagokat. Az amplifikációs reagenscsomag leltárjának kezelésével kapcsolatos utasításokat lásd az Abbott m2000sp Kezelési kézikönyv (jegyzékszám: 09K20 6. vagy újabb verzió), Kezelési utasítások c. pontjában. Az amplifikációs reagenscsomagok gyártási számának meg kell egyeznie. Az Új amplifikációs reagenseket 15–30 °C-on vagy 2–8 °C-on olvassa ki, és 2–8 °C-on tárolja az amplifikáció Master Mix eljárásához történő felhasználásig.

MEGJEGYZÉS: Kiolvasztás után az új amplifikációs reagensek 2–8 °C-on tárolhatók 24 órán keresztül, ha nem használják fel azokat azonnal. A másodszor használt részleges amplifikációs reagenscsomagokat használat előtt NEM szabad 2–8 °C hőmérsékleten tárolni. Ezeket -10 °C-on vagy annál alacsonyabb hőmérsékleten kell tartani a Master Mix hozzáadásáig. A fagyasztóból való kivétel után a szobahőmérsékleten történő összesített tárolási idő nem haladhatja meg a 25 percet, ideértve azokat az eseteket is, amikor a csomagokat kiveszik a fagyasztóból, de nem használják fel. Ha a 25 percet túllépi, dobja ki a részleges amplifikációs reagenscsomagokat.

Az alábbi táblázat bemutatja a minták előkészítéséhez használt reagens és belső kontrollcsövek számát a reakciók száma alapján.

A mintaelőkészítő reagensere és a belső kontrollra vonatkozó követelmények				
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
Internal Control ^a	1 új üveg vagy 1 részleges üveg	1 új üveg vagy 2 részleges üveg	2 új üveg vagy 3 részleges üveg	2 új üveg vagy 4 részleges üveg

^a Az új és részleges belső kontroll üvegek kombinálhatók egymással.

- Finoman fordítsa meg az Abbott mSample Preparation palackokat az oldat homogenizálása érdekében. Ha a reagensek bármelyikében kristályokat észlel a kinyitáskor, hagyja, hogy a reagens szobahőmérsékletűre melegedjen és a kristályok eltűnjenek. Ne használja fel a reagenseket, amíg a kristályok fel nem oldódnak.

- Használat előtt vortexelje az egyes IC-eket háromszor 2-3 másodpercig.

- KIFEJEZETLEN A BELSŐ KONTROLL KIMÉRÉSÉRE** fenntartott kalibrált precíziós pipettával mérjen hozzá 500 µL IC-t minden mLysis Buffer palackhoz. Óvatosan keverje össze a tartály 5-10 alkalommal történő fel-leforgatásával, a habképződés elkerülése érdekében. A részleges IC üvegekre vissza lehet tenni a kupakot, és azok –10 °C-on vagy annál alacsonyabb hőmérsékleten tárolhatók második felhasználás céljából.

- Helyezze az alacsony és a magas pozitív kontrollokat, a negatív kontrollt és, adott esetben, kalibrátorokat az Abbott m2000sp mintaállványokba.

- Miután az inkubálás befejeződött, kézzel rázza meg vagy forgassa meg a DBS mintacsöveket, majd helyezze azokat az Abbott m2000sp mintaállványokba.

MEGJEGYZÉS: Győződjön meg arról, hogy az Abbott m2000sp mintaállványok kifejezetten az Abbott RealTime HCV DBS eljárásához vannak kalibrálva.

- Óvatosan tölts be a mintaállványokat a kifröccsenés elkerülése érdekében. Ha használnak vonalkódokat a csövek címkéjén, akkor azoknak a szkenneléshez jobbra kell nézniük. Gondoskodjon arról, hogy minden csövet biztonságosan helyezze a mintaállványba úgy, hogy a cső alja elérje az állvány alját belül.
- Tölts be a feltöltött mintaállványokat az Abbott m2000sp berendezésbe egymás utáni pozíciókban úgy, hogy az első állvány a munkaasztal jobb oldalától jobbra legyen, és minden további állvány fokozatosan az első állványtól balra.
- Helyezze az 5 mL-es reakcióedényeket az Abbott m2000sp 1 mL alrendszer hordozóba.
- Tölts be az Abbott mSample Preparation System reagenseket és az Abbott 96 Deep-Well Plate lemezt az Abbott m2000sp munkaasztalra, az Abbott m2000sp Kezelési kézikönyv, Kezelési utasítások c. pontjában leírtak szerint.
- A Protokoll képernyőn válassza a HCV RNA DBS alkalmazásfájl. Indítsa el a mintaextrakciós protokollt az Abbott m2000sp Kezelési kézikönyv, Kezelési utasítások c. pontjában leírtak szerint.
- Írja be a kalibrátor (akkor szükséges, ha a kalibrációs görbét nem tárolták el az Abbott m2000r rendszerben) és a kontroll tétel-specifikus értékeit a Sample Extraction: Worktable Setup, Calibrator and Control (Mintaextrakció: Munkaasztal beállítása, Kalibrátor és Kontroll) mezőkbe. A tétel-specifikus értékek minden Abbott RealTime HCV Calibrator and Control Kit Card kártyához meg vannak adva.
- Az Abbott m2000sp Master Mix Addition protokollt (28. lépés) a minta előkészítése után 1 órán belül el kell indítani.

MEGJEGYZÉS: Az amplifikációs reagens kezelés előtt cseréljen kesztyűt.

- Tölts be az amplifikációs reagenseket és a Master Mix csövet (ha szükséges) az Abbott m2000sp munkaasztalra, miután a minta előkészítése befejeződött. Az alábbi táblázat bemutatja az amplifikációs reagenscsomagok számát a reakciók száma alapján. ha csak 1 amplifikációs reagenscsomagot használ, akkor Master Mix cső nem szükséges.

Szükséges amplifikációs reagenscsomagok ^a			
1–24 reakció	25–48 reakció	49–72 reakció	73–96 reakció
1, ha új; max. 4 részleges csomagokkal	2, ha új; max. 4 részleges csomagokkal	3, ha új; max. 4 részleges csomagokkal	4, új vagy részleges csomag

^a A kiválasztott részleges csomagokkal elvégezhető reakciók maximális számának meghatározásához a készletkezeléssel kapcsolatos utasításokat lásd az Abbott m2000sp Kezelési kézikönyvben (jegyzékszám 09K20 6. vagy későbbi verzió).

- A részleges amplifikációs reagenscsomagok csak ugyanazon az Abbott m2000sp berendezésen használhatók, amelyet a reagenscsomag kezdeti előkészítéséhez használtak. Ha egy amplifikációs reagenscsomagot másodszor egy másik berendezésen használ, ez hibát okoz, ami késleltetheti a futást.
- A részleges és új amplifikációs reagenscsomagok használhatók együtt.

FONTOS: A részleges amplifikációs reagensecsomagokat –10 °C-on vagy annál alacsonyabb hőmérsékleten kell tárolni, közvetlenül a második használatig. Mielőtt részleges csomago(ka)t helyezne az *m2000sp* munkaasztalra, ellenőrizze, hogy a Master Mix kiolvadt-e. A –10 °C-os vagy alacsonyabb hőmérsékletű tárolóhelyről történő kivétel után, a másodszor használt részleges amplifikációs reagensecsomagokat 25 percen belül fel kell használni, vagy ki kell dobni. Ez a szobahőmérsékletű összesített expozícióra vonatkozik, ideértve azokat az eseteket is, amikor a csomagokat eltávolítják a tárolóból, de nem használják fel.

23. Az amplifikációs reagensek kinyitása előtt gondoskodjon arról, hogy az új amplifikációs reagensecsomagok tartalma az injekciós üveg alján legyen, oly módon, hogy az üvegeket függőleges helyzetben 5-10 alkalommal a laborasztalhoz ütögeti.
 - A másodszor használt részleges amplifikációs reagensecsomagokat ne ütögesse. Az ütögetés hatására a Master Mix egy része bekerülhet a kupakba, ami veszteséget okozhat.
24. Vegye le a kupakokat. Ha egy új amplifikációs reagensecsomagot második felhasználásra elrak, a kupakot vissza kell tenni az üvegre a tároláshoz. Ha az eredeti kupakokat szeretni visszatenni a reagensevegre, akkor tegye el azokat. Ha új kupakot kíván használni a reagenst tartalmazó üvegek lezárására, akkor az eredeti kupakok kidobhatók.

Ha az uracil N-glikoziláz (UNG) használja a kontamináció ellenőrzésére, kövesse az alábbi utasításokat.
25. Egy KIFEJEZETLEN REAGENS BEMÉRÉSÉRE FENNTARTOTT PIPETTÁVAL mérje be a meghatározott térfogatú 1 E/μL UNG készítményt (jegyzékszám: 6L87-02) az új és részleges amplifikációs reagensecsomagok 3. pozíciójában lévő reagens üvegbe. Manuálisan keverje össze az összes részleges csomagot oly módon, hogy pipettával óvatosan felszívja és kiengedi. Az új csomagokat ne keverje össze.
 - Az alábbi táblázat segítségével határozhatja meg azt a térfogatot, amelyet az új és részleges amplifikációs reagensecsomagok 3. pozíciójában lévő reagens üvegbe be kell mérni. Az új reagensecsomag 3. pozíciójában lévő reagens üveg tartalmazza a hőstabil rTth polimeráz enzimet. A részleges reagensecsomag 3. pozíciójában lévő reagens üveg a Master Mixet tartalmazza.

Az egyes amplifikációs reagensecsomagok 3. pozíciójában lévő reagens üveghez hozzáadandó UNG térfogat

A csomagban maradó tesztek száma	A hozzáadandó UNG térfogata (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 reagens üveghez hozzáadott UNG térfogata a reagensecsomagban megmaradó vizsgálatok számától függ, nem pedig a futtatás alatt lévő minták számától. Az amplifikációs reagensecsomag készletének kezelésével és a reagensecsomagban hátralévő vizsgálatok számának meghatározásával kapcsolatban lásd az Abbott *m2000sp* Kezelési kézikönyvét.

26. A részleges amplifikációs csomagokat az új amplifikációs reagensecsomagok bal oldalára töltjük az Abbott *m2000sp* munkaasztalon.
27. Győződjön meg arról, hogy az amplifikációs reagensecsomagok stabilan helyezkednek el a berendezésben.
28. Válassza ki a mintaelőkészítő extrakciónak megfelelő mély lyukú lemezt. Indítsa el az Abbott *m2000sp* Master Mix Addition protokollt. Kövesse az Abbott *m2000sp* Kezelési kézikönyv, Kezelési utasítások c. pontjában leírt utasításokat.

MEGJEGYZÉS: A kezelőnek nem szabad manuálisan feltöltenie az Abbott 96-Well Optical Reaction Plate lemezben lévő üres/feltöltött mérőcellákat.

- A mintaextrakció befejezése után az Abbott *m2000sp* automatikusan feltölti az Abbott 96-Well Optical Reaction Plate üres mérőcellát *mElution* pufferrel, ha a futtatás során több mint 48 mintát dolgoznak fel. A lemez feltöltésére nem kerül sor, ha a futtatás 48 vagy annál kevesebb mintát tartalmaz.
- Ha a berendezés ezt kéri, a Reagent Carrier 2 hordozónak a helyén kell maradnia, minimálisan az *mElution* Buffer reagens edényét tartalmazva (Reagent Carrier 2, 6. hely). Ha ezt a reagens edény nem lett feltöltve, helyezzen egy új reagens edényt *mElution* Buffer címkével a Reagent Carrier 2, 6. helyére. A reagens edénybe rendszerfolyadékot töltünk, és ezt az üres mérőhelyek feltöltésére használjuk. A folyamat befejezése után a rendszer folytatja a Master Mix hozzáadását.

MEGJEGYZÉS: Az automata lemezfeltöltő funkció használatára vonatkozó rendszerutasítások az Abbott *m2000sp* Kezelési kézikönyv (jegyzékszám: 09K20 6. vagy újabb verzió), 5. pont, Kezelési utasítások, Mintaextrakció - Zárt üzemmód c. részben találhatók.

- Az Abbott *m2000rt* protokollt (33. lépés) a Master Mix Addition protokoll (28. lépés) elindításától számított 50 percen belül el kell indítani.

MEGJEGYZÉS: Ha a 28. lépés után bármilyen okból törlik a futtatást, akkor új Abbott 96-Well Optical Reaction Plate lemezt kell használni, amennyiben az Abbott *m2000sp* Master Mix Addition Protocol (28. lépést) megismétlik.

29. Kapcsolja be és inicializálja az Abbott *m2000rt* berendezést az Amplifikációs területen.

MEGJEGYZÉS: Az Abbott *m2000rt* berendezés bemelegedéséhez 15 perc szükséges.

MEGJEGYZÉS: A mintaelőkészítési területre való visszatérés előtt vegye le a kesztyűt.

30. Zárja le az Abbott 96-Well Optical Reaction Plate lemezt, miután az Abbott *m2000sp* berendezés befejezte a minták és a Master Mix hozzáadását, az Abbott *m2000sp* Kezelési kézikönyv, Kezelési utasítások c. pontja szerint.
31. Tegye a lezárt optikai reakciólemezt az Abbott Splash-Free Support Base alapszabba az Abbott *m2000rt* berendezésbe történő áthelyezéshez.

Ha az uracil N-glikoziláz (UNG) használja, kövesse az alábbi utasításokat.

32. Helyezze a lezárt optikai lemezt az Abbott Splash-Free Support Base alapszabba, és inkubálja szobahőmérsékleten (15–30 °C) 10 percig. A szobahőmérsékleten történő inkubálás után vigye át az Abbott 96-Well Optical Reaction Plate az Abbott Splash-Free Support Base alapszabba az Abbott *m2000rt* berendezésbe.
33. Helyezze be az Abbott 96-Well Optical Reaction Plate lemezt az Abbott *m2000rt* berendezésbe. A Protokoll képernyőn válassza a HCV RNA DBS alkalmazásfájlt. Indítsa el a protokollt az Abbott *m2000rt* Kezelési kézikönyv, Kezelési utasítások c. pontjában leírtaknak megfelelően.

MEGJEGYZÉS: Javasoljuk, hogy a vizsgálatkérés CD-ROM használatával vagy az *m2000sp* és *m2000rt* szoftver exportálás és importálás funkcióval rendelkező hálózati csatlakozásával továbbítsa. Az Abbott *m2000rt* test vizsgálatkérés manuális létrehozása esetén írja be a mintazonosítót a megfelelő PCR tálcá helyzetbe a „Mérőcellák a kiválasztott lemezhez” táblázatba, amely az Abbott *m2000sp* berendezés „PCR lemez eredmények részletes képernyőjén található. Lásd Abbott *m2000sp* Kezelési kézikönyv 5. pont.

34. Ha egy előkészített részleges amplifikációs reagenscsomagot második alkalommal kell használni, akkor zárja le a 3 reagenst tartalmazó üveget az eltett eredeti kupakkal vagy új kupakkal (jegyzékszám: 3N20-01), és a reagenseket azonnal tárolja -10°C vagy annál alacsonyabb hőmérsékleten, fénytől védve és álló helyzetben. Dobjon ki minden kiürült vagy kétszer használt amplifikációs reagenscsomagot.

FONTOS: A másodszor használt amplifikációs reagenseket -10°C -on vagy alacsonyabb hidegebb hőmérsékletre kell helyezni, a Master Mix Addition protokoll megkezdésétől számított 50 percen belül.

FELDOLGOZÁS UTÁNI ELJÁRÁSOK

- Távolítsa el az Abbott 96 Deep-Well Plate lemezt a munkaasztalról, és az Abbott *m2000sp* Kezelési kézikönyv szerint ártalmatlanítsa.
- Helyezze az Abbott 96-Well Optical Reaction Plate lemezt egy lezárható műanyag zacskóba, és az Abbott *m2000rt* Kezelési kézikönyv szerint ártalmatlanítsa a lemez kezeléséhez használt kesztyűvel együtt.
- A következő használat előtt tisztítsa meg az Abbott Splash-Free Support Base alapot az Abbott *m2000rt* Kezelési kézikönyv szerint.

MINŐSÉGELLENŐRZÉSI ELJÁRÁSOK

Abbott *m2000rt* optikai kalibrálás

Lásd az Abbott RealTime HCV assay (jegyzékszám: 4J86) használati útmutatóját.

Assay kalibrálása

Lásd az Abbott RealTime HCV assay (jegyzékszám: 4J86) használati útmutatóját.

Az *m2000sp* és *m2000rt* rendszerrel végzett DBS vizsgálathoz: Az Abbott RealTime HCV kalibrálás elfogadása és eltávolítása után az 6 hónapig használható. Ezen idő alatt minden ezt követő mintát további kalibrálás nélkül megvizsgálhat, kivéve, ha:

- Új gyártási számú Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit készletet használ.
- Új gyártási számú Abbott *mSample* Preparation System rendszert (4 x 24 előkészítés) használ.
- Új Abbott RealTime HCV RNA DBS alkalmazásfájl van telepítve.

Inhibíció kimutatása

Lásd az Abbott RealTime HCV assay (jegyzékszám: 4J86) használati útmutatóját.

Negatív és pozitív kontrollok

Lásd az Abbott RealTime HCV assay (jegyzékszám: 4J86) használati útmutatóját.

A szennyezés jelenlétének ellenőrzése a laboratóriumban

Lásd az Abbott RealTime HCV assay (jegyzékszám: 4J86) használati útmutatóját.

A DBS MINTÁK EREDMÉNYEI

Az *m2000rt* DBS protokoll futtatásából származó jelentett DBS minta koncentráció annak a teljes vérmintának a plazma frakciójában lévő HCV víruskoncentrációt jelöli, amelyből a DBS mintát nyerik. Az Abbott *m2000rt* berendezés automatikusan jelentést készít az eredményekről az Abbott *m2000rt* munkaállomáson. A vizsgálati eredmények nemzetközi egység, NE/mL vagy Log NE/mL mértékegységben adhatók meg.

Az eredmények kiértékelése

Eredmény	Kiértékelés
Nem kimutatható	Cél nem kimutatható
<2,66 Log NE/mL ^a	Kimutatható
2,66–8,00 Log NE/mL	
>8,00 Log NE/mL	> ULQ ^b

^a 462 NE/mL

^b ULQ = a kvantitáció felső határa

AZ ELJÁRÁS KORLÁTAI

- IN VITRO DIAGNOSZTIKAI ALKALMAZÁS ESETÉN**
- A teszt optimális teljesítményéhez szükséges a minta megfelelő levétele, tárolása a vizsgálat helyszínére történő megfelelő szállítása (lásd a jelen használati útmutató **A MINTÁK LEVÉTELE, TÁROLÁSA ÉS A VIZSGÁLAT HELYSZÍNÉRE SZÁLLÍTÁSA** című pontját).
- Az Abbott RealTime HCV assay for DBS termékkel vizsgálendő DBS mintákhoz EDTA csövekbe vett teljes vérminták használhatók. Más antikoagulánsok használatát az Abbott RealTime HCV assay for DBS termékkel nem validálták.

- Az Abbott RealTime HCV assay for DBS terméket kizárólag a DBS előkészítési és előfeldolgozási eljárásaiban, a molekuláris diagnosztikai assay elvégzésében és az Abbott *m2000* rendszer kezelésében képzett személyzet használhatja.
- A berendezések és a vizsgálati eljárások csökkentik az amplifikációs termékkel történő szennyeződés kockázatát. A kalibrátorok, a pozitív kontrollok vagy a minták által okozott nukleinsavszennyeződést azonban a helyes laboratóriumi gyakorlat és az ebben a használati útmutatóban meghatározott eljárások gondos betartása mellett lehet megelőzni.
- Más diagnosztikai tesztekhez hasonlóan, az Abbott RealTime HCV assay for DBS eredményeit is más klinikai és laboratóriumi eredményekkel együtt kell értelmezni. „Nem kimutatható” eredményt adó minta esetében nem feltételezhető, hogy az HCV RNS-re negatív.
- A DBS kártyák nem megfelelő előkészítése, szárítása, tárolása és kezelése pontatlan vizsgálati eredményekhez vezethet.
- Ahlstrom-Munkell TFN és Whatman 903 DBS kártyák használhatók. Más kártyák használatát az Abbott RealTime HCV assay-val nem validálták.

SPECIFIKUS TELJESÍTMÉNYJELLEMZŐK DBS MINTÁK ESETÉN

Kimutatási határ (Limit of Detection, LoD)

Az Abbott RealTime HCV assay LOD értéke a DBS mintatípus esetén 462 NE/mL. Az LOD-t úgy határoztuk meg, hogy DBS-mintákat készítettünk HCV negatív teljes vérről hígított nemzetközi WHO standard (WHO International Standard for Hepatitis C Virus RNA) sorhígításával. Az egyes HCV RNS-koncentrációk tesztelését 4 amplifikációs reagens tétellel végeztük 3 nap alatt. Az Abbott RealTime HCV assay for DBS analitikai érzékenységi teljesítményét reprezentáló eredményeket az 1. táblázat foglalja össze.

1. táblázat: Az Abbott RealTime HCV for DBS kimutatási határa (Limit of Detection, LOD)

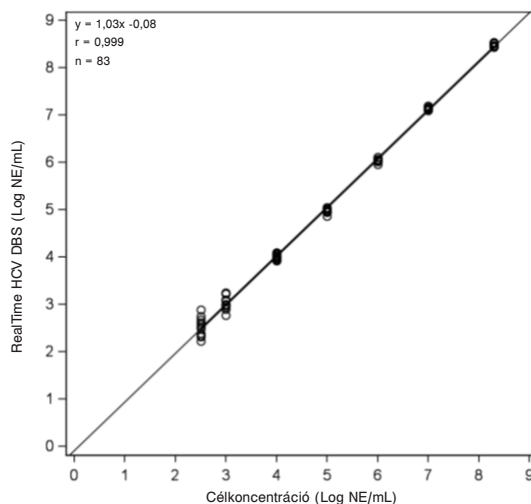
HCV RNS (NE/mL)	Elvégzett tesztek száma	Kimutatott szám	Kimutatott százalékos arány
500	84	83	99
400	84	80	95
350	84	75	89
300	84	73	87
150	84	54	64
50	84	26	31

Az adatok probit elemzése szerint a száritott vércsepp mintából 95% valószínűséggel kimutatott HCV RNS koncentráció 462 NE/mL (95% CI 381–593 NE/mL) volt.

Lineáris tartomány

Az Abbott RealTime HCV assay esetében a kvantitáció felső határa (ULQ) 100 millió NE/mL, és a kvantitáció alsó határa pedig a DBS esetében meghatározott LOD értékkel (462 NE/mL) egyezik. 7 tagból álló DBS panelt készítettünk Armored technológiával előállított HCV RNS-ből, amelyet 200 millió NE/mL és 316 NE/mL közötti koncentrációra hígítottunk HCV negatív teljes vérről. Az Abbott RealTime HCV assay linearitását reprezentáló eredményeket DBS mintatípus esetében az 1. ábra mutatja be.

1. ábra: Az Abbott RealTime HCV Assay for DBS linearitása



Az Abbott RealTime HCV assay for DBS lineárisnak bizonyult a vizsgált HCV-RNS-koncentrációk tartományában (316-200 millió NE/mL, 2,5-8,3 Log NE/mL).

Specificitás

Az Abbott RealTime HCV assay for DBS célspecificitása legalább 99,5%. A specificitást 119 HCV szeronegatív minta elemzésével határoztuk meg, 2 amplifikációs reagenstétel alkalmazásával. A teljes specificitás 100% (119/119) volt.

Precizitás

A precizitást egy, 6 tagból álló DBS panel tesztelésével értékelték, a HCV RNS koncentrációtartományának lefedésével, azaz 316 NE/mL és 200 millió NE/mL között. Az 5 log NE/mL-nél (100 000 NE/mL) alacsonyabb koncentrációjú paneltagokat HCV-pozitív klinikai mintával, HCV-negatív teljes vérrrel hígítva készítettük, míg az 5 log NE/mL-t (100 000 NE/mL) meghaladó koncentrációjú paneltagokat Armored technológiával előállított HCV RNS-ből, HCV-negatív teljes vérrrel hígítással készítettük. Mindegyik paneltagot napi egyszeri 5 párhuzamosban teszteltük 5 napig, *m2000sp/rt* páron, 3 amplifikációs reagenstétellel. A futtatáson belüli, futtatások közötti és az assay-k közötti (futtatáson belüli és futtatások közötti) szórásokat (standard deviation, SD) határoztuk meg. Az Abbott RealTime HCV assay for DBS terméket úgy tervezték, hogy az assay-k közötti szórás (standard deviation, SD) legalább 0,25 Log NE/mL HCV RNS legyen, olyan minták esetén, amelyek HCV-koncentrációja 10 000–100 millió NE/mL. Az Abbott RealTime HCV assay for DBS precizitását reprezentáló eredményeket az **2. táblázat** foglalja össze.

2. táblázat: Az Abbott RealTime HCV Assay for DBS precizitása								
Paneltag	N	Átlagos koncentráció (NE/mL)	Átlagos koncentráció (Log NE/mL)	Futtatáson belüli összetevő SD ^{a,e}	Futtatások közötti összetevő SD ^a	Assay-k közötti SD ^{a,b}	Tételek/Berendezések közötti összetevő SD ^a	Összesen ^{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 A szórások (standard deviation, SD) Log NE/mL mértékegységben szerepelnek.
^b Az Assay-k közötti komponens a futtatáson belüli és futtatások közötti komponenseket foglalja magában.
^c Az összes a futtatáson belüli és futtatások közötti komponenseket, valamint a tételek/berendezések közötti komponenseket foglalja magában.
^d Az 1. paneltag átlagos koncentrációja az LOD alatt van. A precizióra vonatkozó becslések a kvantitációban szereplő párhuzamosokon alapulnak.
^e A futtatáson belüli SD más néven Ismételhetség. Az összes SD más néven Reprodukálhatóság.

Az 1. paneltag (LLOQ közeli) ismételhetősége 0,26 Log NE/mL, reprodukálhatósága 0,27 Log NE/mL volt, míg a 2. panelagnál (LLOQ közeli) ezek az értékek sorrendben 0,23 Log NE/mL és 0,25 Log NE/mL voltak. Az 5. paneltag (ULOQ közeli) ismételhetősége 0,12 Log NE/mL, reprodukálhatósága 0,14 Log NE/mL volt, míg a 6. panelagnál (ULOQ közeli) ezek az értékek sorrendben 0,04 Log NE/mL és 0,07 Log NE/mL voltak.

Korreláció

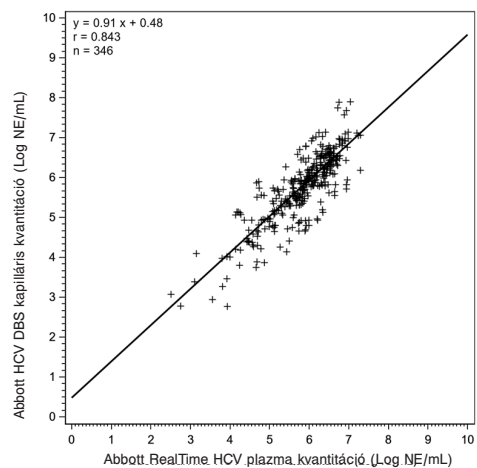
A HCV RNS kvantitációt a szárított vércsepp mintával végzett Abbott RealTime HCV assay és a CE-jelöléssel ellátott összehasonlító assay-vel, azaz humán plazma felhasználásával végzett Abbott RealTime HCV assay alkalmazásával hasonlítottuk össze. Összesen 346 alanytól származó plazma- és DBS-mintákat (Grúziában, Kamerunban és Görögországban vett és tesztelt mintákat) vontunk be az elemzésbe. Vénás vérből előállított DBS-t és a kapilláris vérből előállított DBS-t (ujjszúrást) vizsgálatunk az Abbott RealTime HCV assay for DBS tesztel. A vizsgálatok dinamikus tartományába eső minták mennyiségi eredményeit a legkisebb négyzetek lineáris regressziós módszerével és a Bland-Altman torzítás módszerével elemeztük (DBS kapilláris vs. plazma N = 346, DBS vénás vs. plazma N = 346, és DBS kapilláris vs. DBS) vénás N = 345). A DBS kapilláris és a plazma közötti korreláció esetében a korrelációs együttható 0,843, a meredekség 0,91 (95% CI 0,85–0,97), a tengelymetszet pedig 0,48 Log NE/mL (95% CI 0,12–0,84) volt (**2. ábra**). A DBS vénás és a plazma közötti korreláció esetében a korrelációs együttható 0,840, a meredekség 0,94 (95% CI 0,88–1,00), a tengelymetszet pedig 0,31 Log NE/mL (95% CI -0,07–0,69) volt (**3. ábra**). A DBS kapilláris és a DBS vénás közötti korreláció esetében a korrelációs együttható 0,943, a meredekség 0,91 (95% CI 0,87–0,94), a tengelymetszet pedig 0,53 Log NE/mL (95% CI 0,33–0,72) volt (**4. ábra**). Emellett, ugyanezen összehasonlításokhoz megadtuk a Bland-Altman görbéket is **5. ábra**, **6. ábra** és **7. ábra**. A DBS kapilláris és a plazma közötti eltérés átlagos torzítása -0,05 Log NE/mL volt. A DBS vénás és a plazma közötti eltérés átlagos torzítása -0,04 Log NE/mL volt. A DBS kapilláris és a DBS vénás közötti eltérés átlagos torzítása -0,02 Log NE/mL volt.

A DBS kapilláris és a plazma közötti előrejelzett torzítást az LLOQ és ULOQ célszinteken értékeltük. Ezenkívül, a DBS vénás és a plazma közötti becsült torzítást is értékeltük a LLOQ és ULOQ célszinteken. Az előrejelzett torzítás összefoglalását lásd a **3. táblázatban**.

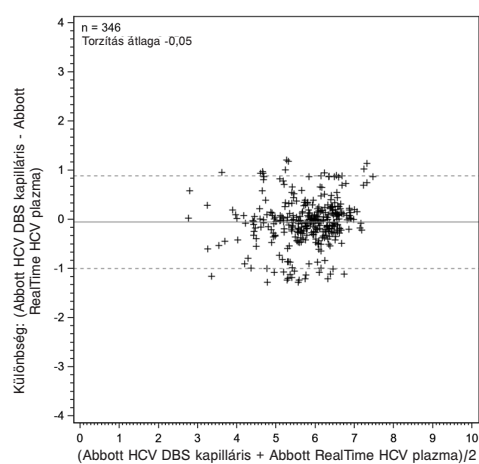
3. táblázat: Előrejelzett torzítás a DBS (kapilláris vagy vénás) és a plazma között, az LLOQ és ULOQ esetén

Összehasonlítás	Szint	Virusterhelés célszintje (Log NE/mL)	Előrejelzett torzítás (Log NE/mL)
DBS kapilláris vs. plazma	LLOQ	2,66	(0,24)
	ULOQ	8,00	(-0,26)
DBS vénás vs. plazma	LLOQ	2,66	(0,15)
	ULOQ	8,00	-0,17

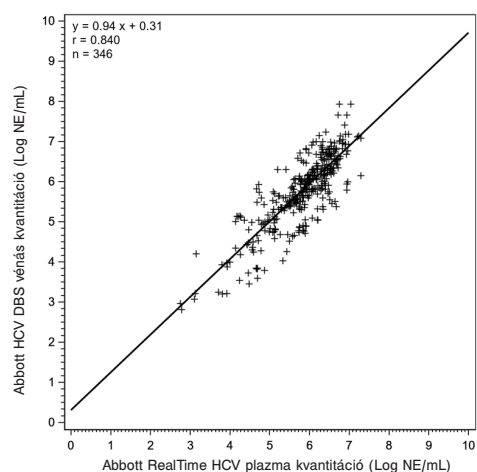
2. ábra. DBS kapilláris és plazma



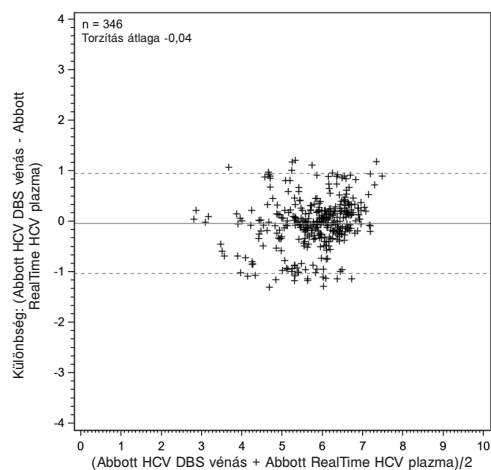
5. ábra. DBS kapilláris vs. plazma



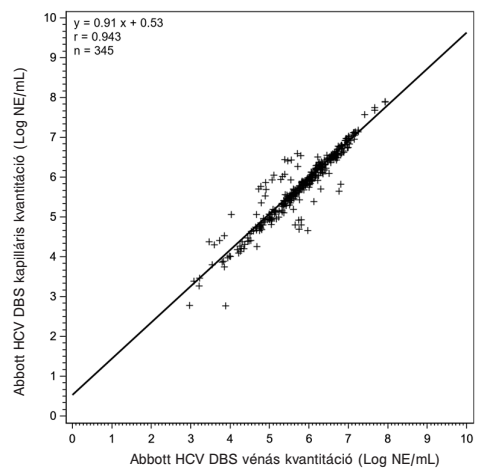
3. ábra. DBS vénás és plazma



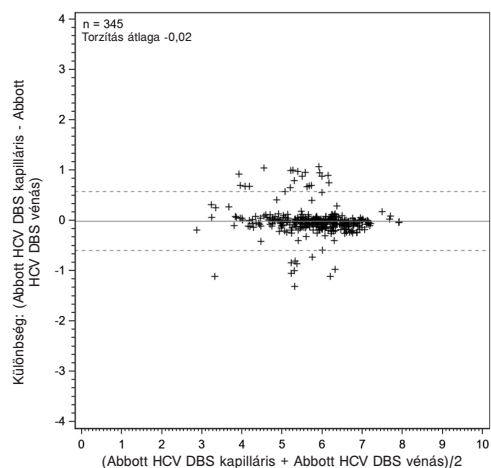
6. ábra. DBS vénás vs. plazma



4. ábra. DBS kapilláris és DBS vénás



7. ábra. DBS kapilláris vs. DBS vénás



IRODALOM

1. Gower E, Estes C, Blach S, et al. Global epidemiology and genotype distribution of the hepatitis C virus infection. *J Hepatol.* 2014; 61(1):S45-S57.
2. World Health Organization Updated Version April 2016: Guidelines for the screening, care and treatment of persons with hepatitis C infection. <http://www.who.int/hepatitis/publications/hepatitis-c-guidelines-2016/en/>.
3. AASLID/IDSA Recommendations for testing, managing and treating hepatitis C, revised April, 2017. www.hcvguidelines.org.
4. European Association of the Study of the Liver. Recommendation on Treatment of Hepatitis C 2018. *J. Hepatology* (2018).
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;39:1363-75.
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. *N Engl J Med* 1998;339(21):1493-9.
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):958-65.
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):975-82.
9. Hadziyannis SJ, Sette H Jr., Morgan TR, et al. Peginterferon-[alpha]2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose. *Ann Intern Med* 2004;140(5):346-55.
10. Orlent H, Deltenre P, Francque S, et al. Update of the Belgian Association for the Study of Liver Guidelines for the Treatment of Chronic Hepatitis C Genotype 1 with Protease Inhibitors. *Acta Gastro-Enterologica Belgica* 2012;LXXV:245-259.
11. Halfon P, Bourliere M, Penaranda G, Khiri H, and Ouzin 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 Microbiology* 2006;44(7): 2507-2511.
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):1611-8.
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):41-5.
14. WHO guidelines on hepatitis B and C testing. Geneva: World Health Organization; 2017.
15. Saldanha J, Heath A., 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 Sanguinis* 2005 Apr; 88 (3):202-204.

TECHNIKAI SEGÍTSÉG

Technikai segítségért hívja az Abbott Molecular műszaki ügyfélszolgálatát az 1-800-553-7042 (az Amerikai Egyesült Államokban) vagy a +49-6122-580 (az Amerikai Egyesült Államokon kívül), vagy látogasson el az Abbott Molecular weboldalára: www.molecular.abbott/portal.

Az Abbott RealTime HCV assayt az Európai Unióba az Abbott Diagnostics GmbH (székhely Max-Planck- Ring 2, 65205 Wiesbaden, Németország) importálja.



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



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



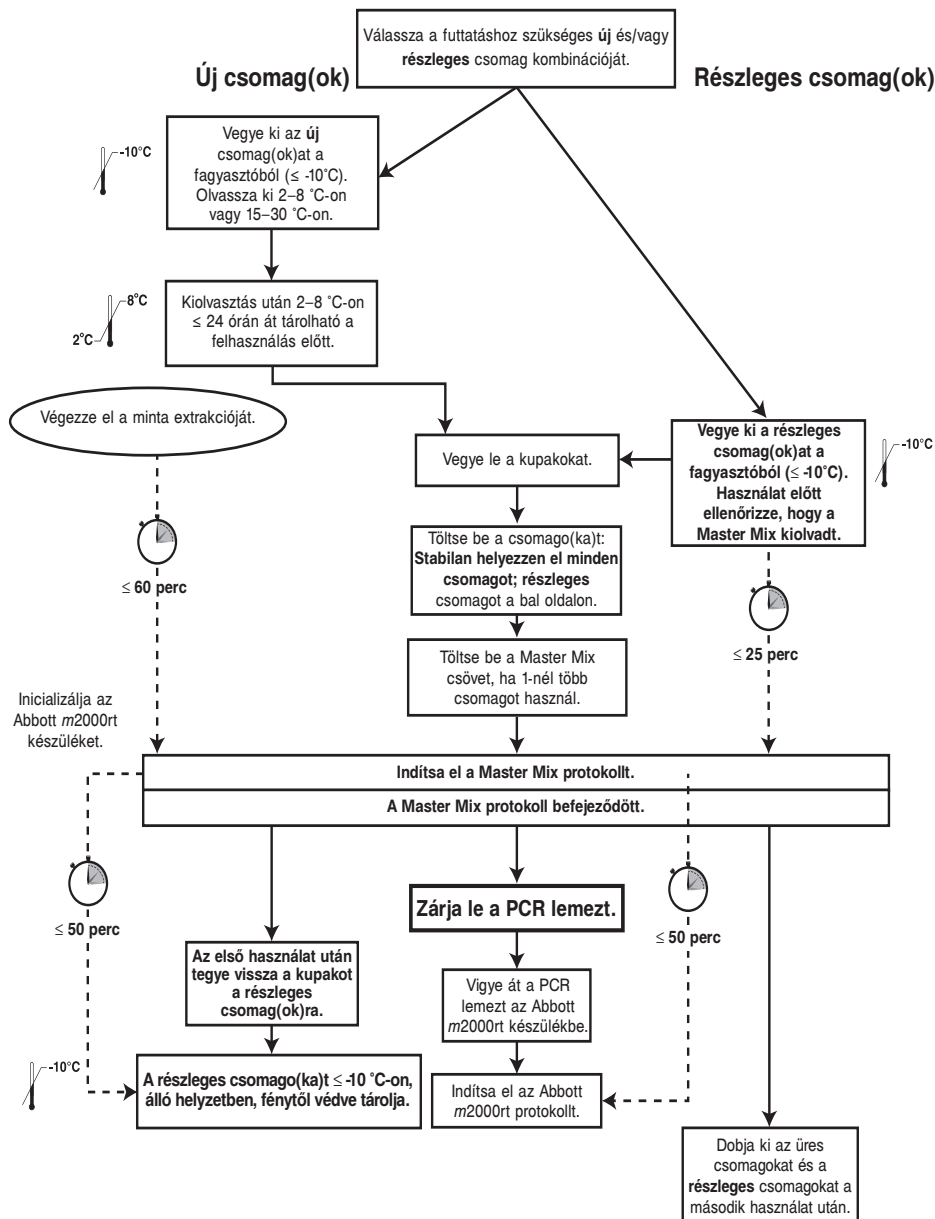
© 2020 Abbott. Minden jog fenntartva!
www.abbottmolecular.com
51-608440/R1
2020. július

1. MELLÉKLET AZ ABBOTT REALTIME HCV AMPLIFIKÁCIÓS REAGENS MEGHOSSZABBÍTOTT ALKALMAZÁS FUNKCIÓJÁNAK ÁTTEKINTÉSE

Az amplifikációs reagens meghosszabbított használata lehetővé teszi az amplifikációs reagenscsomagok és a belső kontroll (internal control, IC) összesen 2 alkalommal történő használatát. A Master Mix elkészítésére szolgáló, még nem használt amplifikációs reagenscsomagokat **új** amplifikációs reagenscsomagoknak nevezzük. Az egyszer már használt amplifikációs reagenscsomagokat, amelyek elkészített Master Mixet tartalmaznak, **részleges** amplifikációs reagenscsomagoknak nevezzük. A további részleteket lásd az ebben a kézikönyvben megadott utasításoknál.

Tárolási körülmények (amplifikációs reagenscsomag és belső kontroll üvegek)		
Csomag típusa	Tárolási hőmérséklet	Tárolási idő
Új csomagok	-10 °C vagy alacsonyabb hőmérséklet	A címkén jelzett időpontig
Új IC	-10 °C vagy alacsonyabb hőmérséklet	A címkén jelzett időpontig
Részleges csomagok	-10 °C vagy alacsonyabb hőmérséklet (fénytől védve)	Az első használatától számítva legfeljebb 14 nap
Részleges IC	-10 °C vagy alacsonyabb hőmérséklet	Az első használatától számítva legfeljebb 14 nap

- A kontaminálás ellenőrzési eljáráshoz UNG használata esetén, a konkrét utasításokat lásd az assay protokoll 25. és 32. lépésénél.



- A hosszabb ideig használható amplifikációs reagenscsomagoknál a vonalkód felett 6 számjegyű sorozatszámnak kell szerepelnie.
- A **részleges** amplifikációs reagenscsomagokat másodszor kizárólag ugyanazon a berendezésen lehet használni, amin az első használat történt. Amennyiben ezeket más eszközön használják, ez feldolgozási hibát fog eredményezni, ami késleltetheti a futtatást.
- A **részleges** és **új** amplifikációs reagenscsomagok használhatók együtt. A berendezésen használt valamennyi amplifikációs reagenscsomagnak azonos gyártási számmal kell rendelkeznie.

Abbott RealTime HCV

Tillegg for Dried Blood Spot (DBS)

no

GTIN

REF

04J86-010

IVD

51-608440/R1

REF 04J86-010

51-608440/R1

Forklaring av brukte symboler

	Global Trade Item Number
	Referansenummer
	In vitro-diagnostisk medisinsk utstyr
	Maksimal tillatt tid
	Øvre temperaturgrense
	Temperaturgrense
	Autorisert representant i 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 denne enheten, skal hendelsen rapporteres til produsenten og til rette myndighet i medlemsstaten der brukeren og/eller pasienten er etablert. Hvis du vil rapportere til produsenten, kan du se kontaktinformasjonen i delen for teknisk assistanse i denne håndboken.

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

Tiltente brukere av Abbott RealTime HCV-analysen er laboratorie- og helsepersonell.

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 m2000sp-systemet. Etter den preanalytiske DBS-behandlingen utføres alle etterfølgende trinn automatisk av m2000sp- og 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 tillegg 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). RealTime HCV-analyse for DBS bruker kun m2000sp- og m2000rt-instrumenter

SPEIELLE 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 (liste 1L69-040 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. 9K14-01, 9K14-02)
- Abbott mSample Preparation System (4 × 24 klargjøringer) (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. 1L69-040 eller nyere)
- m2000 System 13mm DBS-PoS^T Set (listenr. 09N03-001)
- 1,4 ml mikrohetteglass, 15 mm lokk (listenr. 3N20-01), 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. 1L69-040 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 desinfeksjonsmiddel 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.
- 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 negativ kontroll, en lav positiv kontroll og en høy positiv kontroll 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 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 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 tilføyselsen av Master Mix er nødvendig. Når de er tatt ut av fryseren, skal eksponering i kumulativ 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-prosedypen 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-subsystembæreren 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 kort.
- 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 BARE EN PIPETTE 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 rTh-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 *m2000 sp* 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 Abbottm2000sp-arbeidsbordet.
27. Kontroller at amplifikasjonsreagenspakkene sitter godt på instrumentet.
28. Velg den aktuelle dybbrønnsplaten som samsvarer med den tilsvarende prøveprepareringsekstraksjonen. Start protokollen for Abbottm2000sp 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 Abbottm2000rt-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 Abbottm2000rt-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 *im2000sp*- 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 Abbottm 2000rt

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 *m2000sp* og *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 kanskje testes uten ytterligere kalibrering, med mindre:

- Det brukes en Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit med et nytt partinummer.
- Det brukes et AbbottmSample Preparation System (4 x 24 preparater) 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 *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 fortyningsserie 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)

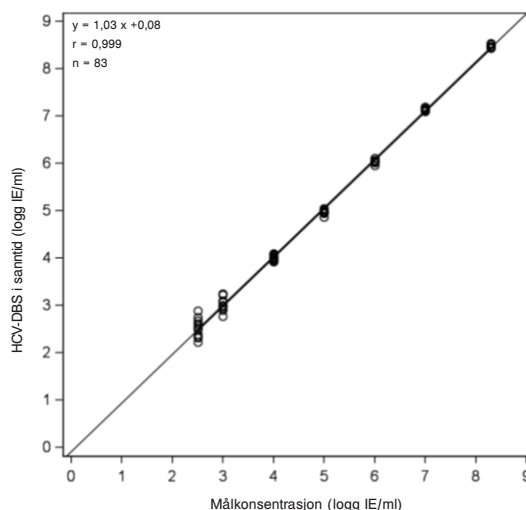
HCV-RNA (IE/ML)	Antall testede	Antall påviste	Prosent påviste
500	84	83	99
400	84	80	95
350	84	75	89
300	84	73	87
150	84	54	64
50	84	26	31

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 *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	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 ULOQ) var henholdsvis 0,12 log IE/ml og 0,14 log IE/ml, og for panelmedlem 6 (nær ULOQ) var det henholdsvis 0,04 log IE/ml og 0,07 log IE/ml.

Korrelasjon

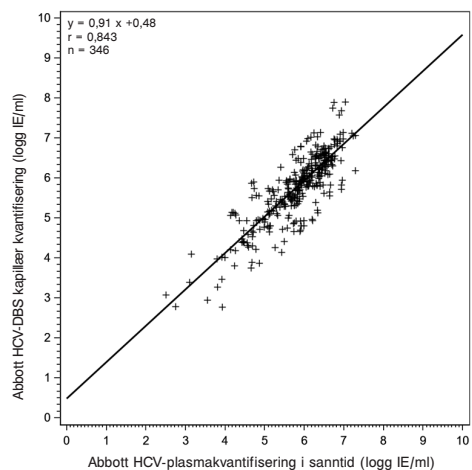
HCV-RNA-quantifisering ble sammenlignet mellom Abbott RealTime-HCV-analysen ved hjelp av tørkede blodflekker og den CE-merkede komparatoranalysen, Abbott RealTime-HCV-testing ved hjelp av humant plasma. Plasma- og DBS-prøver fra totalt 346 forsøkspersoner (samlet inn og testet i Georgia, Kamerun og Hellas) 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 Mild-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, hellingen 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 ULOQ-målnivåene. I tillegg ble forventet skjevhet mellom DBS venøs og plasma evaluert ved LLOQ- og ULOQ-målnivåene. Sammendrag av forventet skjevhet finnes i **tabell 3**.

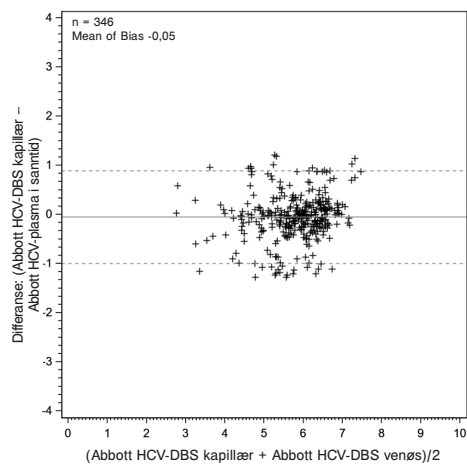
Tabell 3. Forventet skjevhet mellom DBS (kapillær eller venøs) og plasma ved LLOQ og ULOQ

Sammenligning	Nivå	Målnivå for virusmengde (log IE/ml)	Antatt skjevhet (Log IE/ml)
DBS kapillær vs. plasma	LLOQ	2,66	0,24
	ULOQ	8,00	-0,26
DBS venøs vs. plasma	LLOQ	2,66	0,15
	ULOQ	8,00	-0,17

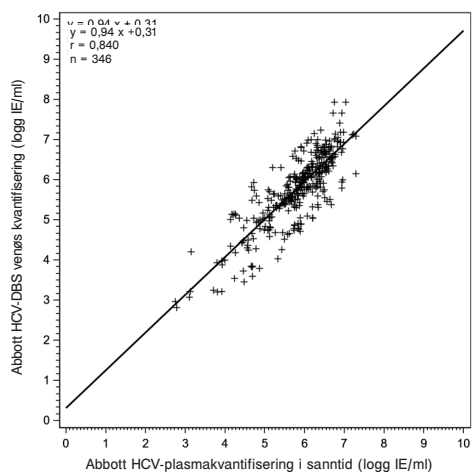
Figur 2. DBS kapillær og plasma



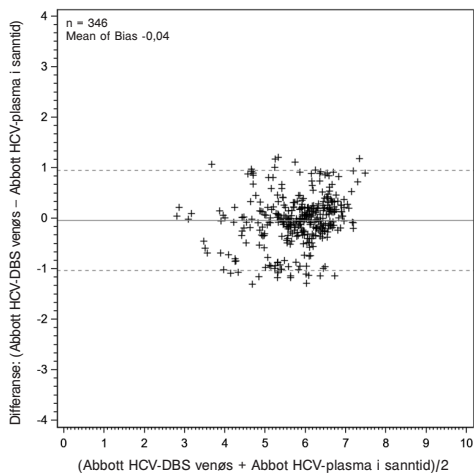
Figur 5. DBS kapillær vs. plasma



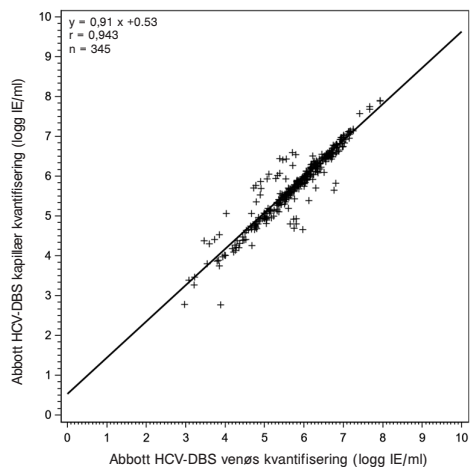
Figur 3. DBS venøs og plasma



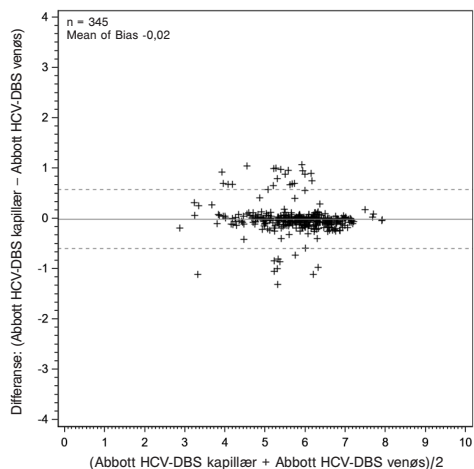
Figur 6. DBS venøs vs. plasma



Figur 4. DBS kapillær og DBS venøs



Figur 7. DBS kapillær vs. DBS venøs



BIBLIOGRAFI

1. Gower E, Estes C, Blach S, et al. Global epidemiology and genotype distribution of the hepatitis C virus infection. *J Hepatol*. 2014; 61(1):S45-S57.
2. World Health Organization Updated Version April 2016: Guidelines for the screening, care and treatment of persons with hepatitis C infection. <http://www.who.int/hepatitis/publications/hepatitis-c-guidelines-2016/en/>.
3. AASLID/IDSA Recommendations for testing, managing and treating hepatitis C, revised April, 2017. www.hcvguidelines.org.
4. European Association of the Study of the Liver. Recommendation on Treatment of Hepatitis C 2018. *J. Hepatology* (2018).
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;39:1363-75.
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. *N Engl J Med* 1998;339(21):1493-9.
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):958-65.
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):975-82.
9. Hadziyannis SJ, Sette H Jr., Morgan TR, et al. Peginterferon-[alpha]2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose. *Ann Intern Med* 2004;140(5):346-55.
10. Orlent H, Deltenre P, Francque S, et al. Update of the Belgian Association for the Study of Liver Guidelines for the Treatment of Chronic Hepatitis C Genotype 1 with Protease Inhibitors. *Acta Gastro-Enterologica Belgica* 2012;LXXV:245-259.
11. Halfon P, Bourliere M, Penaranda G, Khiri H, and OuzinD. Real-time PCR assays for hepatitis C virus (HCV) RNA quantitation are adequate for clinical management of patients with chronic HCV infection. *J. Clin Microbiology* 2006;44(7): 2507-2511.
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):1611-8.
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):41-5.
14. WHO guidelines on hepatitis B and C testing. Geneva: World Health Organization; 2017.
15. Saldanha J, Heath A., 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 Sanguinis* 2005 Apr; 88 (3):202-204.

TEKNISK HJELP

Hvis du trenger teknisk hjelp, kan du ringe Abbott Molecular Technical Services på 1-800-553-7042 (i USA) eller + 49-6122-580 (utenfor USA), eller gå til Abbott Moleculars nettsted på www.Molecular.abbott/portal.

Abbott RealTime-HCV importeres til EU av Abbott Diagnostics GmbH, Max-Planck-Ring 2, 65205 Wiesbaden, Tyskland



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



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



© 2020 Abbott. Med enerett.

www.abbottmolecular.com

51-608440/R1

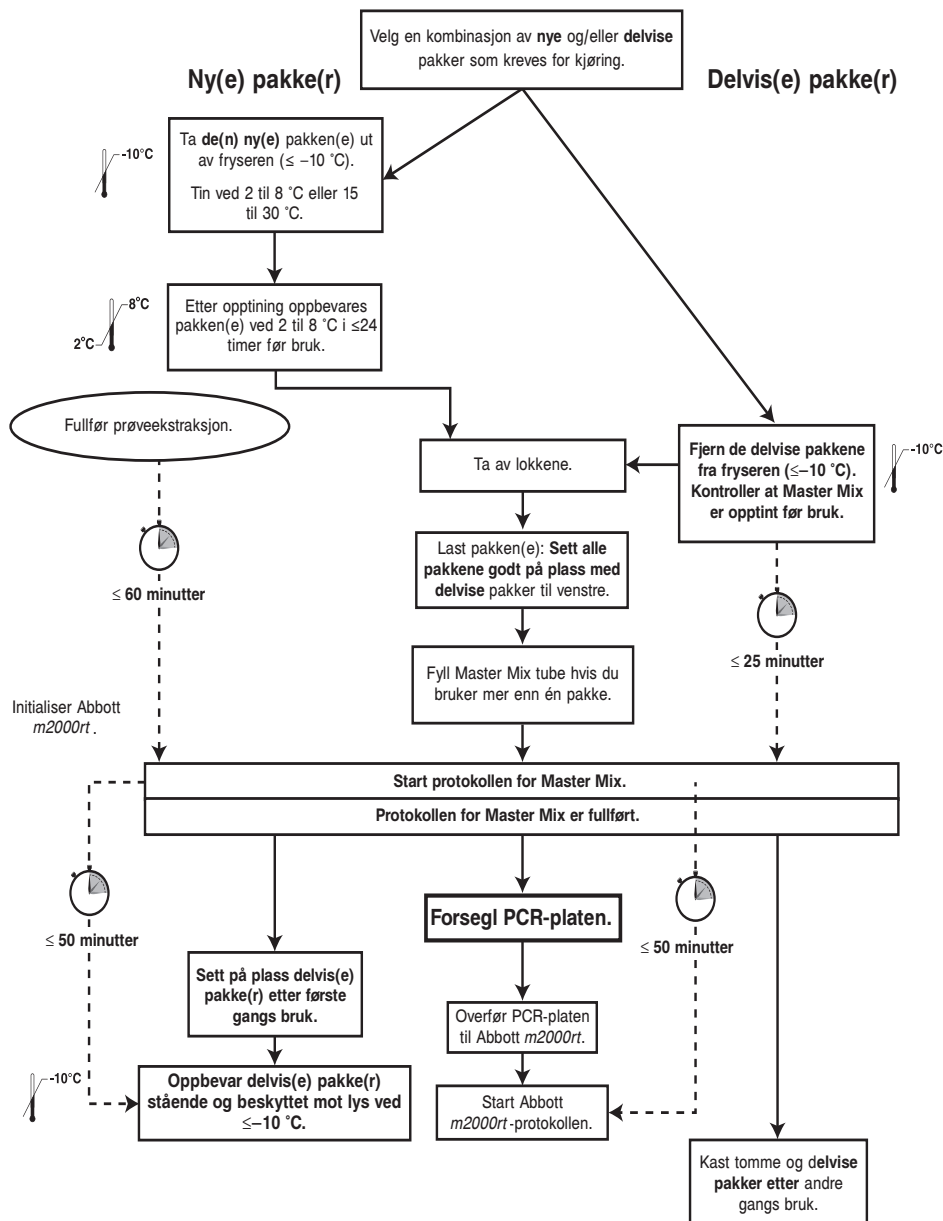
Juli 2020

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 Supplement for Dried Blood Spot (DBS)

fi

GTIN

REF

04J86-010

IVD

51-608440/R1

REF 04J86-010

51-608440/R1

Käytettyjen symbolien selitykset

GTIN

GTIN-koodi (Global Trade Item Number)

REF

Tuotenumero

IVD

In vitro -diagnostinen lääketieteellinen laite



Sallittu enimmäisaika



Lämpötilan yläraja



Lämpötilarajat

EC REP

Valtuutettu edustaja Euroopan yhteisössä



Valmistaja

KANSAINVÄLINEN ASIAKASPALVELU: OTA YHTEYS ABBOTTIN EDUSTAJAAN

Tämä pakkausseloste on luettava huolellisesti ennen käyttöä. Pakkausselosteen ohjeita on noudatettava. Määrityksen tulosten luotettavuutta ei voida taata, mikäli tämän pakkausselosteen ohjeista poiketaan.

Tämä käyttöohje on Abbott RealTime HCV -määrityksen (luettelonro 4J86) pakkausselosteen täydennysosa, joka koskee Dried Blood Spot (DBS) -näytetyyppejä.

HUOMAUTUS KÄYTTÄJÄLLE

Jos laitteen käytön yhteydessä tapahtuu vakava vaaratilanne, siitä on ilmoitettava valmistajalle ja sen jäsenvaltion asianomaiselle toimivaltaiselle viranomaiselle, jossa käyttäjä ja/tai potilas asuu vakituisesti. Katso valmistajalle ilmoittamiseen tarvittavat yhteystiedot näiden ohjeiden teknisiä lisäohjeita käsittelevästä kohdasta.

NIMI

Abbott RealTime HCV

DBS-MENETELMÄN KÄYTTÖTARKOITUS

Abbott RealTime HCV on in vitro -määritys, joka on tarkoitettu hepatiitti C -viruksen RNA:n (HCV-RNA) kvantifiointiin käänteistranskriptaasi-polymeraasiketjureaktiomenetelmällä (RT-PCR) HCV-positiivisten henkilöiden kokoverinäytteistä (eli laskimopunktio- tai kapillaariverinäytteistä), jotka on imeytetty näytekorttiin ja kuivatettu (DBS-menetelmä). Abbott RealTime HCV -määritys on tarkoitettu antiviraalista hoitoa saavien HCV-positiivisten potilaiden hoidon hallinnan tueksi. Abbott RealTime HCV -määritystä ei ole tarkoitettu veren, plasman, seerumin tai kudoksen luovuttajien HCV-seulontaan eikä HCV-infektion toteamiseen liittyvään diagnostiikkaan.

TARKOITETTU KÄYTTÄJÄ

Abbott RealTime HCV -määrityksen tarkoitettuja käyttäjiä ovat laboratorioiden ja terveydenhuollon ammattilaiset.

TESTIN YHTEENVETO JA KUVAUS

Hepatiitti C -virus (HCV) on merkittävä maksasairauksien aiheuttaja. Arvioiden mukaan 1,1 prosentilla ihmisistä on krooninen hepatiitti C -infektio¹, ja hepatiitti C:hen liittyvät maksasairaudet aiheuttavat vuosittain noin 700 000 kuolemaa.² HCV on positiivisäikeinen RNA-virus, joka tarttuu pääasiassa huumausaineiden suonensisäisen käytön ja verivalmisteiden kautta. Noin 55–85 prosentille HCV-positiivisista potilaista kehittyy krooninen hepatiitti, ja jopa 30 % kroonisista infektioista johtaa kirroosiin kehittymiseen.¹ Kirroosipotilailla hepatosellulaarisen karsinooman esiintyvyys vuositasona on 2–4 %.¹

HCV-RNA-tason kvantitatiivinen mittaus perifeerisestä verestä on osoittautunut tärkeäksi parametriksi useiden antiviraalisten HCV:n hoitomuotojen hallinnassa.^{6–13} Suoravaikutteisten viruslääkkeiden yleistymisen on merkittävä edistysaskel HCV-infektion hoidossa. HCV:n antiviraalisen hoidon tavoitteena on pysyvä virologinen vaste (SVR), joka määritellään saavutetuksi, kun mitattavissa olevia HCV-RNA-pitoisuuksia ei havaita jatkuissa mittauksissa.^{2–5} HCV-viruskuorman mittauksia on käytetty apuna hoidon keston ja vasteen mukaisen hoidon mukauttamisessa sekä antiviraalisen hoidon pysyvän tai ei-pysyvän virologisen vasteen määrittämisessä.^{2–5} Maailman HCV-tautitaakka keskittyy suurimmaksi osaksi matalan tulotason ja alemman keskitulotason maihin (LMIC-maihin).¹⁴ Näillä alueilla rajalliset resurssit rajoittavat huomattavasti aktiivisten HCV-infektioiden toteamista. Dried Blood Spot (DBS) -tekniikalla otettuja kokoverinäytteitä voidaan käyttää HCV-RNA-testauksessa seerumi- tai plasmanäytteiden sijasta. DBS on käyttökelpoinen vaihtoehto, joka poistaa useita seerumi- tai plasmanäytteiden ottamiseen, käsittelyyn, säilytykseen ja kuljetukseen liittyviä logistisia ja teknisiä rajoituksia. Maailman terveysjärjestön (WHO) hepatiitti C:tä koskeissa testaus suosituksissa DBS-menetelmää suositellaan käytettäväksi HCV:n virologisessa testauksessa alueilla, joilla resurssit ovat rajalliset.¹⁴ Abbott RealTime HCV DBS -määritys perustuu käänteistranskriptaasi-polymeraasiketjureaktiomenetelmään (RT-PCR) ja HCV-RNA:n kvantifiointiin DBS-näytteistä fluoresenssiin perustuvalla homogeenisellä reaaliaikaisella tunnistusmenetelmällä. HCV-genomin konservoituneen alueen valinta mahdollistaa genotyyppien 1–6 tunnistuksen. Määritys on standardoitu WHO:n 2. kansainvälisen hepatiitti C -viruksen RNA:ta koskevan standardin mukaisesti (NIBSC-koodi 96/798)¹⁵, ja tulokset ilmoitetaan kansainvälisinä yksiköinä millilitrassa (IU/mL) tai käyttämällä 10-kantaista logaritmia.

MENETELMÄN BIOLOGISET PERIAATTEET

Abbott RealTime HCV DBS -määritykseen tarvitaan kolme reagenssipakkausta:

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

Abbott RealTime HCV DBS -määrityksessä käytetään RT-PCR-menetelmää HCV-RNA-genomin monistamiseen ihmisen DBS-näytteistä. Abbott RealTime HCV DBS -määrityksen vaiheet ovat analyysia edeltävä DBS-käsittely, näytteiden valmistelu, RT-PCR-reaktion kokoaminen, monistus (amplifikaatio), tunnistus (detektointi) ja tulosten raportointi. Analyysia edeltävä DBS-käsittely tehdään käyttämällä Abbott mSample Preparation System DBS Buffer Kit -puskuripakkausta ennen näytteiden asettamista m2000sp-järjestelmään. Kaikki analyysia edeltävän DBS-käsittelyn jälkeiset vaiheet suoritetaan automaattisesti m2000sp- ja m2000rt-järjestelmissä.

Lisätietoja näytteiden valmistelusta, RT-PCR-reaktion kokoamisesta, monistuksesta ja tunnistuksesta on Abbott RealTime HCV -määrityksen (luettelonro 4J86) pakkausselosteessa.

MONISTUSREAGENSIN LAAJENNETTU KÄYTTÖ

Monistusreagenssin laajennettu käyttö on valinnainen ominaisuus, jonka avulla monistusreagenssipakkauksia ja sisäisiä kontrolleja voi käyttää yhteensä kahdesti. Valmista master mix -seosta sisältäviä monistusreagenssipakkauksia voi säilyttää kahden käyttökerran välissä –10 °C:ssa tai matalammassa lämpötilassa korkit suljettuina ja valolta suojattuina enintään 14 vuorokauden ajan. Sisäisiä kontrolleja (IC-pulloja) voi säilyttää kahden käyttökerran välissä –10 °C:ssa tai matalammassa lämpötilassa korkit suljettuina enintään 14 vuorokauden ajan. Toisen käyttökerran on oltava ennen reagenssin viimeistä käyttöpäivämäärää.

Tämän ominaisuuden esittely on tämän käyttöohjeen liitteessä 1.

Vielä käyttämättömiä monistusreagenssipakkauksia ja sisäisiä kontrolleja kutsutaan tässä käyttöohjeessa uusiksi monistusreagenssipakkauksiksi ja IC-pulloiksi (tällä tarkoitetaan ensimmäistä käyttökertaa). Jo kertaalleen käytettyjä ja valmista master mix -seosta sisältäviä monistusreagenssipakkauksia kutsutaan osittain käytetyiksi monistusreagenssipakkauksiksi. Jo kertaalleen käytettyjä IC-pulloja kutsutaan osittain käytetyiksi IC-pulloiksi.

NUKLEIINIHAAPOKONTAMINAATION EHKÄISY

Lue Abbott RealTime HCV -määrityksen (luettelonro 4J86) pakkausseloste.

REAGENSSIT

Lue Abbott RealTime HCV -määrityksen (luettelonro 4J86) pakkausseloste.

VAROITUKSET JA VAROTOIMET

IVD

In vitro -diagnostiikkaan

Abbott RealTime HCV DBS -määritystä ei ole tarkoitettu veren, plasman, seerumin tai kudoksen luovuttajien HCV-seulontaan eikä HCV-infektion toteamiseen liittyvään diagnostiikkaan.

TURVALLISUUSTOIMENPITEET

Lue Abbott RealTime HCV -määrityksen (luettelonro 4J86) pakkausseloste. RealTime HCV DBS -määritys on yhteensopiva ainoastaan m2000sp- ja m2000rt-laitteiden kanssa.

ERITYISET VAROTOIMET

DBS-näytteiden käsittelyyn liittyvät varotoimet

Abbott RealTime HCV DBS -määritys soveltuu ainoastaan kokoveri- tai DBS-näytteille, joita on käsitelty ja säilytetty kohdassa **NÄYTEIDEN OTTAMINEN, SÄILYTYS JA KULJETUS TESTAUSPAIKKAAN** annettujen ohjeiden mukaisesti.

Lue Abbott RealTime HCV -määrityksen (luettelonro 4J86) pakkausseloste.

DBS-näytteiden käsittelyä koskevat erityiset varotoimet:

- Varmista, että DBS-kortit ovat kuivuneet kokonaan, ennen kuin asetat ne kuivausaineen kanssa säilytuspussiin. Epäasianmukaisesti näytekorttiin imeytetyt, kuivatetut, säilytetyt tai käsitellyt DBS-näytteet voivat tuottaa virheellisiä testituloksia.
- Jotta näytteiden väliseltä kontaminaatiolta vältytään, kunkin DBS-näytetäplän irrottamiseen rei'itetyistä DBS-kortista on käytettävä uutta pipetin kärkeä. Rei'ittämätöntä DBS-korttia käytettäessä on varmistettava, että täplän leikkaamiseen käytettävä työkalu dekontaminoidaan ennen DBS-näytteen koskettamista ja sen jälkeen.

Työskentelyalueet

Abbott m2000sp- ja Abbott m2000rt -laitetta käytettäessä suositellaan varaamaan ainoastaan kaksi erillistä työskentelyaluetta: näytteiden valmistelualue ja monistusalue.

Lue Abbott RealTime HCV -määrityksen (luettelonro 4J86) pakkausseloste.

Aerosolikontaminaatio

Lue Abbott RealTime HCV -määrityksen (luettelonro 4J86) pakkausseloste.

Kontaminaatiot ja inhibitio

Lue Abbott RealTime HCV -määrityksen (luettelonro 4J86) pakkausseloste.

Deoksiiridiinia (dU) sisältävän ulkoisen monistustuotteen aiheuttama kontaminaatio

Deoksiiridiinia sisältävän monistustuotteen aiheuttamia kontaminaatioita voi esiintyä laboratorioissa, joissa käytettäviin HCV-monistukseen perustuviin määrityksiin kuuluu monistustuotteen käsittelyä PCR:n jälkeen. Tällaisten kontaminaatioiden seurauksena Abbott RealTime HCV DBS -määritys voi tuottaa virheellisiä tuloksia. **Kontaminoitumisen estäminen laboratorioissa** on kuvattu Abbott RealTime HCV -määrityksen (luettelonro 4J86) pakkausselosteessa. Mikäli negatiiviset kontrollit ovat jatkuvasti reaktiivisia tai deoksiiridiinia sisältävän HCV-monistustuotteen aiheuttama kontaminaatio on todennäköinen ja laboratorion kontaminaatioiden poisto epäonnistuu, laboratoriolle suositellaan urasiili-DNA-glykosidaasin (UNG-entsyymiin) käyttöä kontaminaatioiden poistamiseen.

SÄILYTYSOHJEET

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

-  **Uudet ja osittain käytetyt** Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Pack -pakkaukset ja Internal Control (IC) -pullot on säilytettävä -10 °C :ssa tai matalammassa lämpötilassa, kun niitä ei käytetä. Käytettävän Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Pack -pakkauksen joutuminen suoraan kosketuksiin näytteiden, kalibraattorien ja kontrollien kanssa on estettävä huolellisesti.
- Osittain käytetyt** monistusreagenssipakkaukset ja IC-pullot on säilytettävä ensimmäisen käyttökerran jälkeen -10 °C :ssa tai matalammassa lämpötilassa korkit suljettuina, pystyasennossa ja valolta suojattuina. Tällä tavalla säilytettyinä valmista master mix -seosta sisältäviä **osittain käytettyjä** monistusreagenssipakkauksia voi käyttää toisen kerran 14 vuorokauden kuluessa ensimmäisestä käyttökerrasta. Myös IC-pulloja voi käyttää toisen kerran 14 vuorokauden kuluessa sulatuksesta, mikäli ne on säilytetty korkit suljettuina -10 °C :ssa tai matalammassa lämpötilassa. Osittain käytetyt monistusreagenssipakkaukset ja IC-pullot on hävitettävä kahden käyttökerran jälkeen. Toisen käyttökerran on oltava ennen reagenssin viimeistä käyttöpäivämäärää.

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

-  **Abbott RealTime HCV Negative ja Positive Control** -kontrollit on säilytettävä -10 °C :ssa tai matalammassa lämpötilassa.

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

-  **Abbott RealTime HCV Calibrator A ja Calibrator B** -kalibraattorit on säilytettävä -10 °C :ssa tai matalammassa lämpötilassa.

KULJETUSOLOSUHTEET

Lue Abbott RealTime HCV -määrityksen (luettelonro 4J86) pakkausseloste.

REAGENSSIEN EPÄSTABIILISUUS TAI PILAANTUMINEN

Lue Abbott RealTime HCV -määrityksen (luettelonro 4J86) pakkausseloste.

LAITTEEN KÄYTTÖ

Ennen määrityksen käyttöä Abbott m2000sp- ja Abbott m2000rt -järjestelmiin on asennettava Abbott RealTime HCV DBS -määrityksen sovellustiedosto, joka on Abbott RealTime HCV m2000 ROW System Combined Application CD-ROM -levyllä (luettelonro 1L69-040 tai suurempi). Lisätietoja sovellustiedoston asennuksesta on Abbott m2000sp- ja Abbott m2000rt -järjestelmien käyttöoppaiden käyttöohjeissa.

NÄYTEIDEN OTTAMINEN, SÄILYTYS JA KULJETUS TESTAUSPAIKKAAN

Näytteenotto ja näytteiden säilytys

- Valmista DBS-näytteet sormenpään ihopistonäytteistä tai EDTA-kokoverinäytteistä. EDTA-kokoverinäytteet on säilytettävä ja kuljetettava lämpötilavaltuissa olosuhteissa ($2-8\text{ °C}$:ssa enintään 48 tunnin ajan tai huoneenlämmössä enintään 30 °C :ssa enintään 24 tunnin ajan).
- EDTA-putkeen otettu kokoverinäyte on sekoitettava huolellisesti kääntelemällä putkea ylösalaisin ennen näytekorttiin siirtämistä. Imeytä veri pisaroina Ahlstrom-Munkell TFN -paperikortin tai Whatman 903 -kortin ympyröihin, joiden halkaisija on puoli tuumaa (12 mm). Varmista, että veritäplä täyttää ympyrän kokonaan. Kullekin ympyrälle on suositeltavaa käyttää vähintään 70 µL verta (noin 3–5 pisaraa), jotta koko ympyrä täyttyy.
- Anna kortin kuivua huoneenlämmössä vähintään 3 tuntia. Aseta kukin kortti kuivausainepakkausten kanssa suljettavaan pussiin (vähintään 2–3 kuivausainepakkausta).
- Seuraavassa taulukossa on esitetty olosuhteet, joissa DBS-näytekortteja voi säilyttää ennen määritykseen liittyvää käsittelyä.

DBS-näytekorttien säilyttäminen		
Olosuhteet	Säilytysaika enintään	
$2...30\text{ °C}$, ympäristön ilmankosteus	18 viikkoa	
Vähintään 37 °C , ympäristön ilmankosteus	12 viikkoa	
Vähintään 45 °C , ympäristön ilmankosteus	8 viikkoa	
Vähintään 38 °C , suuri ilmankosteus (enintään 85 %)	4 viikkoa	
$-25...-15\text{ °C}$, ympäristön ilmankosteus	18 viikkoa	
-70 °C tai matalampi, ympäristön ilmankosteus	18 viikkoa	

Näytteiden kuljetus

Näytteiden kuljetuksessa on noudatettava kohdassa **Näytteenotto ja näytteiden säilytys** annettuja suositeltuja säilytyslämpötiloja ja -aikoja. Kotimaassa tapahtuvaa tai kansainvälistä kuljetusta varten näytteet on pakattava ja merkittävä kliinisten, diagnostisten tai biologisten näytteiden kuljetusta koskevien sovellettavien kansallisten ja kansainvälisten säästöjen mukaisesti.

ABBOTT REALTIME HCV DBS -MÄÄRITYSMENETELMÄ

Vaadittavat tarvikkeet, joita ei toimiteta pakkauksen mukana

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

Abbott m2000sp -laitteen näytteiden valmistelualue

- Abbott mSample Preparation System DBS Buffer Kit (luettelonro 09N02-001)
- Abbott m2000sp -laite (luettelonro 9K14-01, 9K14-02)
- Abbott mSample Preparation System (4 × 24 Preps) (luettelonro 04J70-24)
- Kalibroidut $20-1\text{ }000\text{ }\mu\text{L}$:n tarkkuuspipetit (UNG-entsyymiä käytettäessä voidaan tarvita alle $20\text{ }\mu\text{L}$:n kalibroituja tarkkuuspipettejä)

- Aerosoleja suodattavat pipetinkärjet 20–1 000 µL:n pipetteihin (UNG-entsyymiä käytettäessä voidaan tarvita aerosoleja suodattavia alle 20 µL:n pipetinkärkiä)
- Vortex-sekoittaja
- Master Mix Tube (luettelonro 04J71-80)
- Abbott 96-Deep-Well Plate (luettelonro 04J71-30)
- 5 mL Reaction Vessels (luettelonro 04J71-20)
- 200 mL reagent vessels (luettelonro 04J71-60)
- Abbott 96-Well Optical Reaction Plate (luettelonro 04J71-70)
- Abbott Optical Adhesive Covers (luettelonro 04J71-75)
- Abbott Adhesive Cover Applicators (luettelonro 9K32-01)
- Abbott Splash-Free Support Base (luettelonro 9K31-01)
- Abbott RealTime HCV m2000 ROW System Combined Application CD-ROM (luettelonro 1L69-040 tai suurempi)
- m2000 System 13mm DBS-PoS Set (luettelonro 09N03-001)
- 1.4 mL Micro Vial 15mm Caps (luettelonro 3N20-01) (valinnainen)
- Uracil N-Glycosylase (UNG)^a (luettelonro 6L87-02)

^aTarvittaessa; noudata tämän käyttöohjeen kohdassa **Deoksiuridiinia (dU) sisältävän ulkoisen monistustuotteen aiheuttama kontaminaatio** annettuja ohjeita.

Abbott m2000rt -laitteen monistusalue

- Abbott m2000rt -laite (luettelonro 9K15-01)
- Abbott RealTime HCV m2000 ROW System Combined Application CD-ROM (luettelonro 1L69-040 tai suurempi)
- Abbott m2000rt Optical Calibration Kit (luettelonro 04J71-93)

Muut materiaalit

- Tartuntavaarallisten materiaalien käsittelyyn hyväksytty suojakaappi
- Suljettava pussi DBS-kortille
- Kuivausainepakkaukset DBS-kortille
- Ahlstrom-Munktel TFN -paperikortti ja/tai Whatman 903 -kortti
- Suljettava muovipussi 96-kuoppaisen reaktiolevyn hävittämistä varten
- RNase-vapaa vesi (Eppendorf tai vastaava)^b
- 1,7 mL:n mikrosentrifugiputket, molekyylibiologiaan soveltuvaa laatua (Dot Scientific, Inc. tai vastaava)^b
- Pumpulikärkiset näytetikut (Puritan tai vastaava)^b

^b**Huomautus:** Näitä kolmea tuotetta käytetään laboratorion kontaminoitumisen estämisessä. Lue Abbott RealTime HCV -määrityksen (luettelonro 4J86) pakkausselosteen LAADUNVALVONTAOHJEET.

Toimenpiteeseen liittyvät varotoimet

- Lue tämä käyttöohje huolellisesti ennen näytteiden käsittelyä.
- Monistusreagensseja ja sisäisiä kontrolleja saa käyttää enintään kahdesti tässä käyttöohjeessa neuvotulla tavalla. Abbott RealTime HCV Calibrator-, Negative Control-, Low Positive Control- ja High Positive Control -pullot ovat kertakäyttöisiä, ja ne on hävitettävä käytön jälkeen.
- Aerosoleja suodattavia pipetinkärkiä tai kertakäyttöisiä pipetteja saa käyttää näytteiden tai sisäisten kontrollien pipetointiin vain yhden kerran. Jotta pipetin varsi ei kontaminoituisi pipetoinnin aikana, varo koskettamasta sillä näyteputken tai astian sisäpuolta. Pitkien aerosoleja estävien pipetinkärkien käyttöä suositellaan.
- Monistustuotteeseen liittyvät valvontamenettelyt on kuvattu kohdassa **LAADUNVALVONTA**.
- Puhdista ja desinfioi läikkyneet näytteet käyttämällä tuberkulosidista desinfiointiainetta, kuten 1,0-prosenttista natriumhypokloriittia tai muuta soveltuvaa desinfiointiainetta, sillä tämä vähentää nukleinihappokontaminaation riskiä.
- Abbott RealTime HCV Calibrator ja Control -liuokset on valmisteltava testattavien näytteiden yhteydessä. Abbott RealTime HCV Control ja Calibrator -liuosten käyttö on olennainen osa Abbott RealTime HCV -määrityksen suorituskykyä. Lisätietoja on kohdassa **LAADUNVALVONTA**.
- Abbott m2000sp Master Mix Addition -protokolla on aloitettava yhden tunnin kuluessa näytteiden valmistelusta.
- Jos Abbott m2000sp master mix addition -protokolla keskeytetään, hävitä toista kertaa käytetyt monistusreagenssit. Ensimmäistä kertaa käytetyt uudet reagenssipakkaukset voi säätää ja säilyttää myöhempää käyttöä varten tämän oppaan ohjeiden mukaisesti.
- Kun Master Mix Addition -protokolla on käynnistetty, m2000rt-protokolla on käynnistettävä 50 minuutin kuluessa. Jos Abbott m2000rt -laitteen ajoa ei käynnistetä 50 minuutin kuluessa tai se keskeytetään, sulje Abbott 96-Well Optical Reaction Plate -levy suljettavaan muovipussiin ja hävitä reaktiolevy ja sen käsittelyyn käytetyt käsiineet Abbott m2000rt -järjestelmän käyttöoppaan ohjeiden mukaisesti.

TÄRKEÄÄ: Jos monistusreagensseja aiotaan käyttää toisen kerran, ne pakastettava -10 °C:ssa tai matalammassa lämpötilassa 50 minuutin kuluessa master mix addition -protokollan aloittamisesta.

MÄÄRITYSPROTOKOLLA: DBS-NÄYTTEIDEN KÄSITTELY ABBOTT m2000sp- JA ABBOTT m2000rt -LAITTEILLA

Abbott m2000sp -järjestelmän ja Abbott m2000rt -järjestelmän protokollien yksityiskohtaiset ohjeet on annettu Abbott m2000sp- ja Abbott m2000rt -järjestelmien käyttöoppaiden käyttöohjeissa. DBS-protokolla edellyttää vähintään Abbott m2000sp -ohjelmistoversiota 6.0. Noudata Abbott m2000sp -järjestelmän käyttöoppaan käyttöohjeita (luettelonro 09K20, versio 6 tai uudempi).

Kutakin ajoa kohden voi käsitellä yhteensä 96 näytettä. Kuhunkin ajoon sisällytetään negatiivinen kontrolli, matala positiivinen kontrolli ja korkea positiivinen kontrolli. Näin ollen ajoa kohden voi käsitellä yhteensä 93 DBS-näytettä, kun ajoon ei sisällytetä kalibraattoreita. Kalibraattorit ja kontrollit käsitellään suoraan nestemäisinä näytteinä. Vaiheet 1–5 koskevat ainoastaan DBS-näytteitä. Kun ajossa käytetään DBS-protokollaa, siinä ei saa käsitellä plasma- tai seeruminäytteitä. Kullekin DBS-näytteelle on käytettävä yhtä Abbott Master Mix Tube -putkea koko näytteen käsittelyprosessin ajan. Varmista, että DBS-näytteissä on asianmukaiset merkinnät käsittelyn alusta loppuun.

1. Täytä Abbott Master Mix Tube -putkeen 1,3 mL mDBS-puskuriliuosta, joka kuuluu Abbott mSample Preparation system DBS Buffer Kit -puskuripakkaukseen (luettelonro 09N02-001).

HUOMAUTUS: Tässä vaiheessa ei saa käyttää mLysis Buffer -puskuriliuosta tai muita reagensseja

2. Vie rei'itetty DBS-paperikortti Abbott Master Mix Tube -putken yläpuolelle.
3. Irrota DBS-näytepyörä kortista painamalla sitä puhtaalla pipetinkärjellä. Siirrä yksi DBS-näytepyörä kuhunkin Master Mix Tube -putkeen. Kunkin DBS-näytepyörän halkaisijan kuuluu olla noin puoli tuumaa (12 mm).

HUOMAUTUS: KÄYTÄ KULLEKIN DBS-NÄYTTEELLE UUTTA PIPETINKÄRKEÄ, JOTTA RISTIKONTAMINAATIOITA VÄLTÄTÄÄN.

Jos käytät rei'ittämätöntä DBS-paperia, leikkaa yksi DBS-näyte kokonaan irti (halkaisija noin puoli tuumaa) ja siirrä se Master Mix Tube -putkeen.

HUOMAUTUS: Estä DBS-näytteiden suora kosketus leikkaupintaan. Poista kontaminaatiot DBS-näytteiden leikkaamiseen käytettävästä työkalusta tarvittaessa näytteiden välissä hyvien laboratorioikäytäntöjen mukaisesti.

4. Varmista, että DBS-näytepyörä uppoaa kokonaan mDBS Buffer -puskuriliuokseen kopauttamalla putkea tai painamalla DBS-näyte pipetinkärjellä syvemmälle puskuriliuokseen.

HUOMAUTUS: Jos DBS-näyte painetaan syvemmälle puskuriliuokseen pipetinkärjellä, varmista että pipetinkärki ei vaikuta DBS-puskuriliuoksen määrään. Näin voi käydä, jos puskuriliuosta jää pipetinkärkeen tai imeytyy kärjen suodattimeen.

5. Ravistele tai pyörittele näyteputkia käsin. Älä sekoita näytteitä vortex-sekoittajalla. Inkuboi näytteitä 30 minuuttia (±2 minuuttia) huoneenlämmössä.
6. Sulata tällä välin määrityksen kontrollit ja sisäinen kontrolli (IC) 15–30 °C:ssa tai 2–8 °C:ssa. Sulata kalibraattorit 15–30 °C:ssa tai 2–8 °C:ssa vain, jos teet kalibraatioajan.

HUOMAUTUS: Sulatettuja määrityksen kontrolleja, IC-pulloja ja kalibraattoreita voi säilyttää 2–8 °C:ssa enintään 24 tuntia ennen käyttöä.

7. Sekoita kutakin kalibraattoria ja kutakin kontrollia vortex-sekoittajalla 3 kertaa 2–3 sekunnin ajan ennen käyttöä. Varmista kunkin pullon sisällön laskeutuminen pullon pohjalle kopauttamalla pulloja työtasoon, jolloin neste laskeutuu. Varmista, että pulloissa ei ole kuplia tai vaahtoa. Jos havaitset niitä, poista ne steriilillä pipetinkärjellä. Käytä kullekin pullolle uutta pipetinkärkeä.
8. Sulata monistusreagenssit 15–30 °C:ssa tai 2–8 °C:ssa ja säilytä ne 2–8 °C:ssa, kunnes niitä tarvitaan monistuksen master mix -toimenpiteeseen.
9. Valitse ajossa käytettävät **uudet** ja/tai **osittain käytetyt** monistusreagenssipakkaukset. Monistusreagenssipakkausten varastonhallintaa koskevat ohjeet ovat Abbott m2000sp -järjestelmän käyttöoppaan (luettelonro 09K20, versio 6 tai uudempi) käyttöohjeissa. Monistusreagenssipakkauksissa on oltava sama eränumero. Sulata **uudet** monistusreagenssit 15–30 °C:ssa tai 2–8 °C:ssa ja säilytä ne 2–8 °C:ssa, kunnes niitä tarvitaan monistuksen master mix -toimenpiteeseen.

HUOMAUTUS: Sulatettuja uusia monistusreagensseja voi säilyttää 2–8 °C:ssa enintään 24 tuntia, jos niitä ei käytetä heti. Toista kertaa käytettäviä osittain käytettyjä monistusreagenssipakkauksia EI SAA säilyttää 2–8 °C:ssa ennen käyttöä. Ne on säilytettävä –10 °C:ssa tai matalammassa lämpötilassa, kunnes niitä tarvitaan master mix -seoksen lisäysvaiheessa. Kun pakkaukset on otettu pakastimesta, ne saavat olla huoneenlämmössä yhteensä enintään 25 minuuttia. Tähän lasketaan kaikki aika, jolloin pakkaukset eivät ole asianmukaisessa säilytyslämpötilassa, vaikka niitä ei käytettäisi. Jos 25 minuuttia ylittyy, hävität osittain käytetyt monistusreagenssipakkaukset.

Seuraavassa taulukossa on esitetty näytteen valmistelureagenssien ja sisäisten kontrollien tarve suhteessa reaktioiden määrään.

Näytteen valmistelureagenssien ja sisäisten kontrollien tarve				
Reagenssi	1–24 reaktiota	25–48 reaktiota	49–72 reaktiota	73–96 reaktiota
mMicroparticles	1 pullo	2 pulloa	2 pulloa	2 pulloa
mLysis	1 pullo	2 pulloa	3 pulloa	4 pulloa
mWash 1	1 pullo	2 pulloa	3 pulloa	4 pulloa
mWash 2	1 pullo	2 pulloa	3 pulloa	4 pulloa
mElution Buffer	1 pullo	2 pulloa	3 pulloa	4 pulloa
Sisäinen kontrolli ^a	1 uusi pullo tai 1 osittain käytetty pullo	1 uusi pullo tai 2 osittain käytetty pulloa	2 uutta pulloa tai 3 osittain käytetty pulloa	2 uutta pulloa tai 4 osittain käytetty pulloa

^a Uusia ja osittain käytettyjä sisäisiä kontroleja voi käyttää yhdessä.

- Varmista liuoksen homogeneisuus kääntelemällä Abbott mSample Preparation -pulloja varovasti. Jos jossakin avattavassa reagenssipullossa näkyy kiteitä, anna reagenssin tasaantua huoneenlämpötilaan, kunnes kiteet häviävät. Älä käytä reagensseja, ennen kuin kiteet ovat lienneet.
- Sekoita kutakin sisäistä kontrollia vortex-sekoittajalla 3 kertaa 2–3 sekunnin ajan ennen käyttöä.
- Lisää YKSINOMAAN SISÄISEN KONTROLLIN KANSSA KÄYTETTÄVÄKSI TARKOITETULLA kalibroidulla tarkkuuspipetillä 500 µL sisäistä kontrollia jokaiseen mLysis Buffer -puskuripulloon. Sekoita kääntelemällä säiliötä varovasti 5–10 kertaa, jotta liuos ei vaahtoa. Osittain käytetyt IC-pullot voi sulkea ja säilyttää pakastettuina –10 °C:ssa tai matalammassa lämpötilassa seuraavaa käyttökertaa varten.
- Aseta matala ja korkea positiivinen kontrolli, negatiivinen kontrolli ja kalibraattorit (mikäli käytössä) Abbott m2000sp -järjestelmän näytetelineisiin.
- Kun inkubointi on suoritettu, ravistele tai pyörittele DBS-näyteputkia käsin ja aseta ne sitten Abbott m2000sp -järjestelmän näytetelineisiin.
HUOMAUTUS: Varmista, että Abbott m2000sp -järjestelmän näytetelineet on kalibroitu Abbott RealTime HCV DBS -menetelmää varten.
- Vältä roiskumista ja täytä näytetelineet huolellisesti. Jos putken etiketissä on viivakoodi, käännä viivakoodi oikealle lukemista varten. Huolehdi, että jokainen putki asetetaan tukevasti näytetelineeseen siten, että sen pohja osuu telineen pohjaan.
- Aseta täytetyt näytetelineet Abbott m2000sp -järjestelmään peräkkäisiin näytetelinepaikkoihin siten, että ensimmäinen teline tulee työtason oikeaan äärilaitaan ja seuraavat telineet ensimmäisen vasemmalle puolelle.
- Aseta 5 mL Reaction Vessels -reaktioastiat Abbott m2000sp -järjestelmän 1 mL:n alajärjestelmäpidikkeeseen.
- Aseta Abbott mSample Preparation System -reagenssit ja Abbott 96 Deep-Well Plate -kuoppalevy Abbott m2000sp -järjestelmän työtasolle noudattaen Abbott m2000sp -järjestelmän käyttöoppaan käyttöohjeita.
- Valitse Protocol (Protokolla) -näytössä HCV RNA DBS -sovellustiedosto. Käynnistä näytteen ottamisen protokolla noudattaen Abbott m2000sp -järjestelmän käyttöoppaan käyttöohjeita.

- Lisää kalibraattorin (tarvitaan, mikäli kalibrointikäyrää ei ole tallennettu Abbott m2000rt -järjestelmään) ja kontrollierän tiedot Sample Extraction (Näytteen ottaminen) -kohdan Worktable Setup (Työtason asetukset) -, Calibrator (Kalibraattori) - ja Control (Kontrolli) -kenttiin. Eräkohtaiset tiedot on merkitty Abbott RealTime HCV Calibrator ja Control Kit Card -korttiin.

- Aloita Abbott m2000sp Master Mix Addition -protokolla (vaihe 28) yhden tunnin kuluessa näytteiden valmistelusta.

HUOMAUTUS: Vaihda suojakäsineet, ennen kuin alat käsitellä monistusreagensseja.

- Kun näytteiden valmistelu on tehty, aseta monistusreagenssit ja master mix -putki (tarvittaessa) Abbott m2000sp -järjestelmän työtasolle. Alla olevassa taulukossa on lueteltu kootusti, kuinka monta monistusreagenssipakkausta tarvitaan eri reaktiomäärien ajona varten. Jos käytetään vain yhtä monistusreagenssipakkausta, master mix -putkea ei tarvita.

Monistusreagenssipakkausten tarve ^a			
1–24 reaktiota	25–48 reaktiota	49–72 reaktiota	73–96 reaktiota
1 uusi pakkaus, enintään 4 osittain käytettyä pakkausta	2 uutta pakkausta, enintään 4 osittain käytettyä pakkausta	3 uutta pakkausta, enintään 4 osittain käytettyä pakkausta	4 uutta tai osittain käytettyä pakkausta

^a Ohjeet siihen, miten varastonhallinnan avulla voi määrittää, kuinka monta reaktiota valitulla, osittain käytetyllä pakkauksella voidaan vielä testata, on Abbott m2000sp -järjestelmän käyttöoppaassa (luettelonro 09K20, versio 6 tai uudempi).

- Osittain käytettyä monistusreagenssipakkausta voi käyttää uudelleen vain siinä samassa Abbott m2000sp -laitteessa, jossa pakkausta käytettiin ensimmäisen kerran. Jos monistusreagenssipakkausta käytetään toisella kerralla eri laitteessa, järjestelmä ilmoittaa virheestä ja näytteiden ajaminen saattaa viivästyä.
- Osittain käytettyjä ja kokonaan uusia monistusreagenssipakkauksia voidaan käyttää samanaikaisesti.

TÄRKEÄÄ: Säilytä osittain käytetyt monistusreagenssipakkaukset pakastettuna –10 °C:ssa tai matalammassa lämpötilassa ja ota ne sulamaan vasta juuri ennen käyttöä. Varmista, että master mix -seos on sulanut, ennen kuin asetat osittain käytetyt pakkaukset Abbott m2000sp -järjestelmän työtasolle. Kun osittain käytetty monistusreagenssipakkaus on otettu –10 °C:seen tai matalampaan lämpötilaan pakkasesta, se on käytettävä 25 minuutin kuluessa tai hävitettävä. Tämä ohje koskee kumulatiivista altistumista huoneenlämmölle alkaen siitä, kun pakkaukset otetaan pakkasesta, vaikkei niitä heti käytettäisikään.

- Varmista ennen uuden monistusreagenssipakkauksen avaamista, että sisältö on pullon pohjalla, kopauttamalla pystyasennossa olevaa pulloa 5–10 kertaa työtasoon.
 - Älä kopauta jo kerran käytettyjä monistusreagenssipakkauksia enää uudelleen työtasoa vasten. Kopauttaminen saattaa vähentää korkissa olevan master mix -seoksen määrää.
- Avaa korkit. Jos uusi monistusreagenssipakkaus pakastetaan toista käyttökertaa varten, pullot on suljettava korkilla. Aseta siis korkit talteen, jos aiot käyttää niitä uudelleen. Alkuperäiset korkit voi hävittää, jos reagenssipullot suljetaan käyttäen uusia korkkeja.
Jos kontaminaatioiden poistamiseen käytetään UNG-entsyymiä (urasiili-DNA-glykosidaasia), noudata alla olevia ohjeita.
- Lisää YKSINOMAAN REAGENSIN KANSSA KÄYTETTÄVÄKSI TARKOITETULLA PIPETILLÄ 1 U/µL UNG-entsyymiä (luettelonro 6L87-02) uuden ja osittain käytetyn monistusreagenssipakkauksen paikassa nro 3 olevaan reagenssipulloon. Sekoita manuaalisesti pipetoimalla kaikkien osittain käytettyjen pakkausten sisältöä ylös ja alas. Älä sekoita uusia pakkauksia.
 - Katso alla olevasta taulukosta, kuinka paljon UNG-entsyymiä lisätään uuden ja osittain käytetyn monistusreagenssipakkauksen paikassa nro 3 olevaan reagenssipulloon. Uuden reagenssipakkauksen paikassa nro 3 oleva reagenssipullo sisältää termostabiilia rTth-polymeraasientsyymiä. Osittain käytetyn reagenssipakkauksen paikassa nro 3 oleva reagenssipullo sisältää master mix -seosta.

UNG-entsyymien lisääminen monistusreagenssipakkauksen paikassa nro 3 olevaan reagenssipulloon	
Pakkauksessa jäljellä olevien testien lukumäärä	Lisättävä määrä UNG-entsyymiä (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 (uusi pakkaus)	27

HUOMAUTUS: Pakkauksen paikassa nro 3 olevaan reagenssipulloon lisättävän UNG-entsyymien määrä määritetään pakkauksessa jäljellä olevien testien lukumäärän perusteella, ei ajettavien näytteiden lukumäärän perusteella. Monistusreagenssipakkauksen varastonhallinnan ohjeet sekä ohjeet reagenssipakkauksessa jäljellä olevien testien lukumäärän määrittämiseen ovat Abbott *m2000sp* -järjestelmän käyttöoppaassa.

- Aseta osittain käytetyt monistusreagenssipakkaukset uusien monistusreagenssipakkausten vasemmalle puolelle Abbott *m2000sp* -järjestelmän työtasolla.
- Huolehdi, että monistusreagenssipakkaukset ovat laitteessa tukevasti.
- Valitse valmisteltavan näytteen ottamiseen tarkoitettua testitilasta vastaava kuoppalevy. Käynnistä Abbott *m2000sp* Master Mix Addition -protokolla. Noudata Abbott *m2000sp* -järjestelmän käyttöoppaan käyttöohjeita.

HUOMAUTUS: Älä täytä tyhjiä tai täyttämättömiä Abbott 96-Well Optical Reaction Plate -levyn näytekaivoja manuaalisesti.

- Kun näytteiden ottaminen on suoritettu, Abbott *m2000sp* täyttää Abbott 96-Well Optical Reaction Plate -levyn tyhjät näytekaivot automaattisesti *mElution*-puskurilla, kun ajon aikana käsitellään yli 48 näytettä. Jos ajon aikana käsiteltäviä näytteitä on 48 tai vähemmän, levyn kaivoja ei täytetä.
- Anna Reagent Carrier 2 -kuljettimen olla paikoillaan, jos laite niin kehottaa. Kuljettimessa tulee olla vähintäänkin *mElution* Buffer -puskurin Reagent Vessel -reagenssiastian (Reagent Carrier 2, paikka nro 6). Jos tämä Reagent Vessel -reagenssiastia on poistettu, aseta Reagent Carrier 2 -kuljettimen paikkaan nro 6 uusi Reagent Vessel -reagenssiastia, jossa on *mElution* Buffer -puskurin etiketti. Reagent Vessel -reagenssiastian lisätään järjestelmän nestettä, jolla täytetään tyhjät näytekaivot. Kun tämä prosessi on suoritettu, järjestelmä jatkaa lisäämällä master mix -seoksen.

HUOMAUTUS: Lue automaattisen levyntäyttöominaisuuden ohjeet Abbott *m2000sp* -järjestelmän käyttöoppaan (luettelonro 09K20, versio 6 tai uudempi) luvusta 5, joka käsittelee näytteiden ottamista suljetussa kierrossa.

- Abbott *m2000rt* -protokolla (vaihe 33) on käynnistettävä 50 minuutin kuluessa siitä, kun Master Mix -protokolla (vaihe 28) aloitettiin.

HUOMAUTUS: Jos ajo joudutaan keskeyttämään mistä tahansa syystä vaiheen 28 jälkeen, käytä uutta Abbott 96-Well Optical Reaction Plate -levyä, jos Abbott *m2000sp* Master Mix Addition -protokolla (vaihe 28) joudutaan toistamaan.

- Käynnistä ja alusta Abbott *m2000rt* -laite monistusalueella.

HUOMAUTUS: Anna Abbott *m2000rt* -laitteen lämmetä 15 minuuttia.

HUOMAUTUS: Poista suojakäsiineet ennen kuin palaat takaisin näytteiden valmistelualueelle.

- Sulje Abbott 96-Well Optical Reaction Plate -levy tiiviisti, kun Abbott *m2000sp* -laite on lisännyt näytteet ja master mix -seoksen, Abbott *m2000sp* -järjestelmän käyttöoppaan käyttöohjeiden mukaisesti.
- Aseta tiiviisti suljettu optinen reaktiolevy Abbott Splash-Free Support Base -alustalle siirrettäväksi Abbott *m2000rt* -laitteeseen.

Jos käytetään UNG-entsyymiä (urasii-DNA-glykosidaasia), noudata alla olevia ohjeita:

- Siirrä tiiviisti suljettu optinen levy Abbott Splash-Free Support Base -alustalle ja inkuboi huoneenlämmössä (15–30 °C) 10 minuuttia. Siirrä Abbott Splash-Free Support Base -alustalla oleva Abbott 96-Well Optical Reaction Plate -levy inkuboinnin jälkeen Abbott *m2000rt* -laitteeseen.
- Aseta Abbott 96-Well Optical Reaction Plate -levy Abbott *m2000rt* -laitteeseen. Valitse Protocol (Protokolla) -näytössä HCV RNA DBS -sovellustiedosto. Käynnistä protokolla noudattaen Abbott *m2000rt* -järjestelmän käyttöoppaan käyttöohjeita.

HUOMAUTUS: Testitilausten siirtämisessä suositellaan käyttämään CD-ROM-levyä tai verkkoyhteyttä sekä *m2000sp*- tai *m2000rt* -ohjelmiston tuonti- ja vientitoimintoja. Jos Abbott *m2000rt* -laitteen testitilaus luodaan manuaalisesti, anna PCR-korin paikoissa olevat näytetunnukset Abbott *m2000sp* -järjestelmän PCR Plate Results (PCT-levyn tulokset) -tietonäkymässä olevan Wells for Selected Plate (Valitun levyn kaivot) -ruudun mukaan. Lisätietoja on Abbott *m2000sp* -järjestelmän käyttöoppaan luvussa 5.

- Jos valmisteltua ja osittain käytettyä monistusreagenssipakkausta on tarkoitus käyttää uudelleen, sulje kaikki 3 reagenssipulloa joko alkuperäisillä tai uusilla korkeilla (luettelonro 3N20-01) ja pakasta reagenssit viipymättä –10 °C:ssa tai matalammassa lämpötilassa. Säilytä reagenssipulloja pystyasennossa ja valolta suojattuina. Hävitä tyhjät tai jo kahteen kertaan käytetyt monistusreagenssipakkaukset.

TÄRKEÄÄ: Jos monistusreagensseja aiotaan käyttää toisen kerran, ne pakastettava –10 °C:ssa tai matalammassa lämpötilassa 50 minuutin kuluessa master mix addition -protokollan aloittamisesta.

JÄLKIKÄSITTELY

- Poista Abbott 96 Deep-Well Plate -levy työtasolta ja hävitä se Abbott *m2000sp* -järjestelmän käyttöoppaan ohjeiden mukaisesti.
- Aseta Abbott 96-Well Optical Reaction Plate -levy tiiviisti suljettavaan muovipussiin ja hävitä se sekä levyn käsittelyn aikana käytetyt suojakäsiineet Abbott *m2000rt* -järjestelmän käyttöoppaan ohjeiden mukaisesti.
- Puhdista Abbott Splash-Free Support Base -alusta ennen seuraavaa käyttökertaa Abbott *m2000rt* -järjestelmän käyttöoppaan ohjeiden mukaisesti.

LAADUNVALVONTA

Abbott *m2000rt* Optical Calibration

Lue Abbott RealTime HCV -määrittelyn (luettelonro 4J86) pakkausseloste.

Määrittelyn kalibroiminen

Lue Abbott RealTime HCV -määrittelyn (luettelonro 4J86) pakkausseloste.

DBS-testaus *m2000sp*- ja *m2000rt* -järjestelmillä: Kun Abbott RealTime HCV -kalibrointi on hyväksytty ja tallennettu, sitä voidaan käyttää 6 kuukautta. Tämä ajan kuluessa kaikki näytteet voidaan testata tarvitsematta suorittaa kalibrointia uudelleen, lukuun ottamatta seuraavia tilanteita:

- Käyttöön otetaan uuden erän Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit -reagenssisarja.
- Käyttöön otetaan uuden erän Abbott *mSample* Preparation System (4 x 24 Preps) -järjestelmä.
- Asennetaan uusi Abbott RealTime HCV RNA DBS -sovellustiedosto.

Inhibition havaitseminen

Lue Abbott RealTime HCV -määrittelyn (luettelonro 4J86) pakkausseloste.

Negatiiviset ja positiiviset kontrollit

Lue Abbott RealTime HCV -määrittelyn (luettelonro 4J86) pakkausseloste.

Kontaminoitumisen estäminen laboratoriossa

Lue Abbott RealTime HCV -määrittelyn (luettelonro 4J86) pakkausseloste.

DBS-NÄYTTEIDEN TULOKSET

DBS-näytteen raportoitu pitoisuus, joka on saatu *m2000rt* DBS -protokollan suorittamisen seurauksena, edustaa HCV-viruksen pitoisuutta siinä kokoverinäytteen plasmassa, josta DBS-näyte otettiin. Abbott *m2000rt* -laite raportoi tulokset automaattisesti Abbott *m2000rt* -työasemassa. Määritystulosten raportoinnissa voidaan käyttää kansainvälisiä yksiköitä (IU/ mL tai Log IU/mL).

Tulosten tulkitseminen

Tulos	Tulkinta
Not Detected (Ei havaittu)	Etsittävää virusta ei havaittu
alle 2,66 Log IU/mL ^a	Havaittu
2,66–8,00 Log IU/mL	
yli 8,00 Log IU/mL	suurempi kuin ULQ ^b

^a 462 IU/mL
^b ULQ (Upper Limit of Quantification) = kvantifioinnin yläraja

TOIMENPITEEN RAJOITUKSET

- **IN VITRO -DIAGNOSTIIKKAAN**
- Testauksen onnistuminen parhaalla mahdollisella tavalla edellyttää, että näyte otetaan, säilytetään ja kuljetetaan testauspaikkaan ohjeiden mukaisesti (lisätietoja on tämän pakkausselosteen kohdassa **NÄYTTEIDEN OTTAMINEN, SÄILYTYS JA KULJETUS TESTAUSPAIKKAAN**).
- Abbott RealTime HCV DBS -määrityksellä testattaviin DBS-näytteisiin voidaan käyttää EDTA-putkeen kerättyä kokoverinäytettä. Muiden antikoagulanttien soveltuvuutta käytettäväksi Abbott RealTime HCV DBS -määrityksissä ei ole vahvistettu.
- Abbott RealTime HCV DBS -määrityksiä saa tehdä vain henkilöstö, jolla on riittävä osaaminen DBS-näytteiden valmistelussa ja esikäsittelyssä, molekulaaristen diagnostisten määritysten tekemisessä ja Abbott *m2000* -järjestelmän käytössä.
- Laitteet ja määrittymenpiteet pienentävät monistettavan tuotteen aiheuttamaa kontaminaatoriskiä. Kalibraattoreiden, positiivisten kontrollien tai näytteiden aiheuttamaa nukleinihappokontaminaatiota voidaan ehkäistä noudattamalla huolellisesti hyviä laboratoriokäytäntöjä ja pakkausselosteessa mainittuja toimenpideohjeita.
- Kuten kaikkien diagnostisten testien myös Abbott RealTime HCV DBS -määrityksen tuloksia tulkitaan yhdessä muiden kliinisten löydösten ja laboratoriotulosten kanssa. Vaikka näytteen tulokseksi olisikin tullut Not Detected (Ei havaittu), ei voida varmuudella olettaa, ettei näyte sisällä HCV-viruksen RNA:ta.
- Epäasianmukaisesti kerätyt, kuivatut, säilytetyt tai käsitellyt DBS-näytekortit voivat tuottaa virheellisiä testituloksia.
- Käytä Ahlstrom-Munktel TFN- tai Whatman 903 -DBS-kortteja. Muiden korttien soveltuvuutta käytettäväksi Abbott RealTime HCV -määrityksissä ei ole vahvistettu.

SUORITUSKYKYÄ KOSKEVAT TIEDOT, DBS-NÄYTTEET

Havaitsemisraja (LOD, Limit of Detection)

Abbott RealTime HCV -määrityksen havaitsemisraja (LOD) on 462 IU/mL, kun käytetään DBS-näytteitä. Havaitsemisraja (LOD) määritettiin testaamalla DBS-näytteitä. Laimennossarjana käytettiin Maailman terveysjärjestön WHO:n hepatiitti C -viruksen RNA:n kansainvälistä standardia laimennettuna HCV-negatiiviseen kokovereen. Testaus kaikilla HCV RNA -pitoisuuksilla tehtiin neljästä monistusreagenssierästä kolmen vuorokauden aikana. Yhteenvedo Abbott RealTime HCV DBS -määrityksen analyttistä herkkyyttä kuvaavista tuloksista on **Taulukossa 1**.

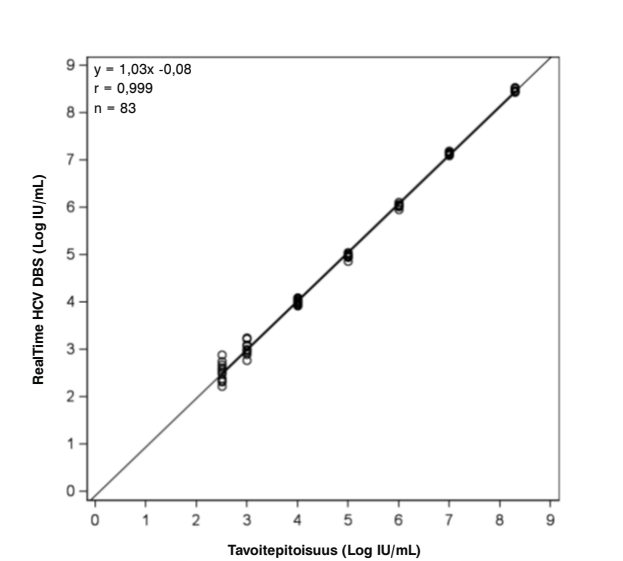
Taulukko 1. Abbott RealTime HCV DBS -määrityksen havaitsemisraja (LOD)			
HCV RNA (IU/ml)	Testien lukumäärä	Havaittujen lukumäärä	Havaitut (%)
500	84	83	99
400	84	80	95
350	84	75	89
300	84	73	87
150	84	54	64
50	84	26	31

Tietojen probiittianalyysin mukaan DBS-näytteestä 95 % todennäköisyydellä havaittava HCV RNA -pitoisuus on 462 IU/mL (95 prosentin luottamusväli: 381–593 IU/mL).

Lineaarisuus

Abbott RealTime HCV DBS -määrityksen kvantifioinnin yläraja (ULQ) on 100 miljoonaa IU/mL ja kvantitoinnin alaraja vastaa havaitsemisrajaa (LOD 462 IU/mL). Testiä varten valmisteltiin 7-paikkainen DBS-paneeli, johon lisättiin HCV-negatiiviseen kokovereen laimennettuna ribonukleasiin kestävää HCV RNA:ta (armored RNA) 200 miljoonan – 315 IU/mL:n pitoisuuksina. Abbott RealTime HCV DBS -määrityksen lineaarisuutta kuvaavat tulokset on esitetty **Kuvassa 1**.

Kuva 1. Abbott RealTime HCV DBS -määrityksen lineaarisuus



Abbott RealTime HCV DBS -määritys on lineaarinen testatuilla HCV RNA -pitoisuuksilla (316–200 miljoonaa IU/mL, 2,5–8,3 Log IU/mL).

Spesifisyys

Abbott RealTime HCV DBS -määritys on spesifinen testattavalle aineelle vähintään 99,5 prosentin tarkkuudella. Spesifisyys määritettiin analysoimalla 119 HCV-seronegatiivista näytettä käyttäen kahta eri monistusreagenssierää. Spesifisyys oli 100 % (119/119).

Sisäinen tarkkuus

Tarkkuus arvioitiin testaamalla 6-paikkainen DBS-paneeli, jossa HCV RNA -pitoisuudet vaihtelivat 316 IU/mL:n ja 200 miljoonan IU/mL:n välillä. Jos pitoisuus oli alle 5 Log IU/mL (100 000 IU/mL), valmisteluun käytettiin HCV-negatiiviseen kokovereen laimennettua HCV-positiivista kliinistä näytettä. Jos pitoisuus oli yli 5 Log IU/mL (100 000 IU/mL), valmisteluun käytettiin HCV-negatiiviseen kokovereen laimennettua ribonukleasiin kestävää HCV RNA:ta (armored RNA). Jokainen paikka testattiin 5 kertaa, kerran vuorokaudessa, viiden vuorokauden ajan käyttäen kolmea *m2000sp/rt* -laiteparia ja kolmea eri monistusreagenssierää. Keskihajonta (SD, Standard Deviation) määritettiin ajon aikana sekä ajojen ja määritysten välillä (ajon aikana ja ajojen välillä). Abbott RealTime HCV DBS -määrityksen keskihajonnaksi määritysten välillä on suunniteltu enintään 0,25 Log IU/mL HCV RNA:ta, kun näytteen HCV-pitoisuus on 10 000 IU/mL – 100 miljoonaa IU/mL. Yhteenvedo Abbott RealTime HCV DBS -määrityksen tarkkuutta kuvaavista tuloksista on esitetty **Taulukossa 2**.

Taulukko 2. Abbott RealTime HCV DBS -määrityksen tarkkuus

Paikka	N	Keskimääräinen pitoisuus (IU/mL)	Keskimääräinen pitoisuus (Log IU/mL)	Ajonaikaisten komponenttien SD ^{a,e}	Ajojen välisten komponenttien SD ^a	Määrittysten välinen SD ^{a,b}	Erien/laitteen komponenttien välinen SD ^a	Yhteensä ^{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 Keskihajonnan (SD) yksikkö on Log IU/mL.

^b Määrittysten välinen tarkkuus sisältää ajonaikaiset ja ajojen väliset komponentit.

^c Kaikki yhteensä sisältävät ajonaikaiset, ajojen väliset ja erän/laitteen väliset komponentit.

^d Paikassa 1 keskimääräinen pitoisuus on havaitsemisrajan alapuolella. Tarkkuusarviot perustuvat kvantifioituihin toistoihin.

^e Ajonaikainen keskihajonta on toiselta nimeltään toistettavuus. Kokonaiskeskihajonta on toiselta nimeltään uusittavuus.

Paikan 1 (lähes LLOQ) toistettavuus oli 0,26 Log IU/mL ja uusittavuus 0,27 Log IU/mL. Paikan 2 (lähes LLOQ) toistettavuus oli 0,23 Log IU/mL ja uusittavuus 0,25 Log IU/mL. Paikan 5 (lähes ULOQ) toistettavuus oli 0,12 Log IU/mL ja uusittavuus 0,14 Log IU/mL. Paikan 6 (lähes ULOQ) toistettavuus oli 0,04 Log IU/mL ja uusittavuus 0,07 Log IU/mL.

Vaatimustenmukaisuuden tarkistus

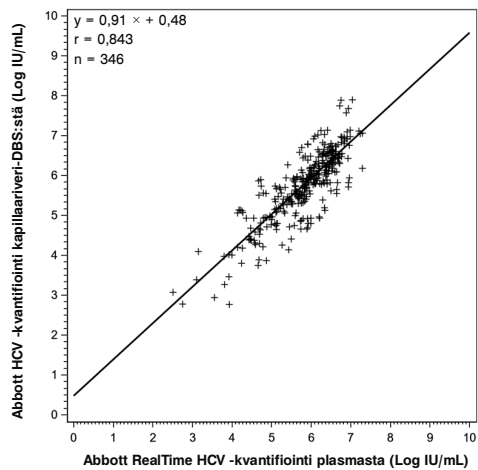
HCV RNA:n kvantifiointia verrattiin Abbott RealTime HCV DBS -määrityksen ja CE-merkityn vertailumenetelmän (plasmasta tehty Abbott RealTime HCV -määritys) välillä. Analyysissä käytettiin yhteensä 346 henkilöltä kerättyjä plasma- ja DBS-näytteitä (näytteet kerättiin Georgiasta, Kamerunista ja Kreikasta). Abbott RealTime HCV DBS -menetelmällä testattiin sekä laskimoverestä että kapillaariverestä (sormenpääverinäyte) valmistettuja DBS-näytteitä. Näytteet, joiden kvantitatiiviset tulokset olivat määrityksen dynaamisella alueella, analysoitiin LLS-regressiomenetelmällä ja Bland-Altman-kaavion avulla (DBS kapillaariverestä vs plasma N = 346, DBS laskimoverestä vs plasma N = 346 ja DBS kapillaariverestä vs DBS laskimoverestä N = 345). Kapillaariveri-DBS:n ja plasman välinen korrelaatiokerroin oli 0,843, kaltevuus 0,91 (95 prosentin luottamusväli: 0,85–0,97) ja leikkauspiste 0,48 Log IU/mL (95 prosentin luottamusväli: 0,12–0,84) (**Kuva 2**). Laskimoveri-DBS:n ja plasman välinen korrelaatiokerroin oli 0,840, kaltevuus 0,94 (95 prosentin luottamusväli: 0,88–1,00) ja leikkauspiste 0,31 Log IU/mL (95 prosentin luottamusväli: 0,07–0,69) (**Kuva 3**). Kapillaariveri-DBS:n ja laskimoveri-DBS:n välinen korrelaatiokerroin oli 0,943, kaltevuus 0,91 (95 prosentin luottamusväli: 0,87–0,94) ja leikkauspiste 0,53 Log IU/mL (95 prosentin luottamusväli: 0,33–0,72) (**Kuva 4**). Samoista vertailupareista laaditut Bland-Altman-kaaviot on esitetty **Kuvassa 5, 6 ja 7**. Keskimääräinen painotusero (bias difference) kapillaariveri-DBS:n ja plasman välillä oli –0,05 Log IU/mL. Keskimääräinen painotusero (bias difference) laskimoveri-DBS:n ja plasman välillä oli –0,04 Log IU/mL. Keskimääräinen painotusero (bias difference) kapillaariveri-DBS:n ja laskimoveri-DBS:n välillä oli –0,02 Log IU/mL.

Ennustettu painotus (bias) kapillaariveri-DBS:n ja plasman välillä arvioitiin kvantitoinnin alarajalla (LLOQ) ja ylärajalla (ULOQ). Ennustettu painotus (bias) laskimoveri-DBS:n ja plasman välillä arvioitiin kvantitoinnin alarajalla (LLOQ) ja ylärajalla (ULOQ). Ennustetun painotuksen (bias) yhteenvedo on **Taulukossa 3**.

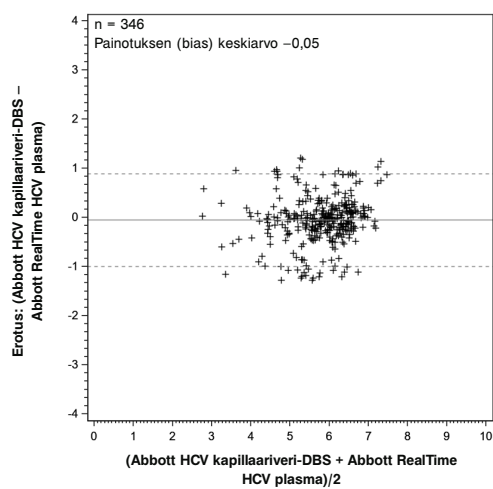
Taulukko 3. Ennustettu painotus (bias) DBS:n (kapillaariveri ja laskimoveri) ja plasman välillä kvantitoinnin alarajalla (LLOQ) ja ylärajalla (ULOQ)

Vertailu	Taso	Virskuorman määrä (Log IU/mL)	Ennustettu painotus (bias) (Log IU/mL)
Kapillaariveri-DBS vs plasma	LLOQ	2,66	0,24
	ULOQ	8,00	–0,26
Laskimoveri-DBS vs plasma	LLOQ	2,66	0,15
	ULOQ	8,00	–0,17

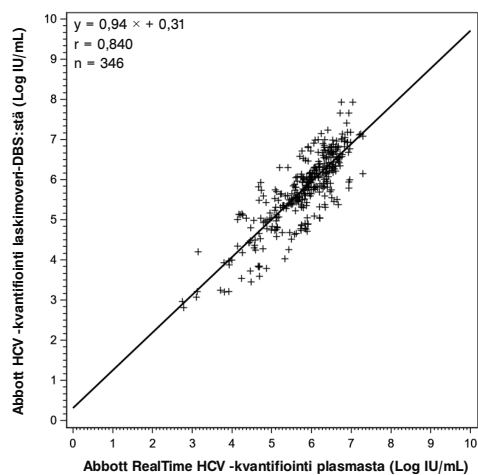
Kuva 2. Kapillaariveri-DBS ja plasma



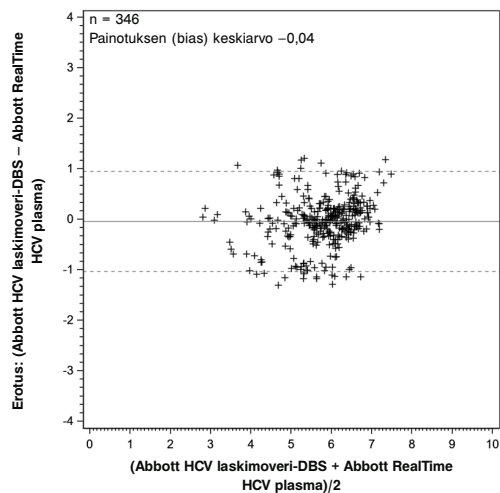
Kuva 5. Kapillaariveri-DBS vs plasma



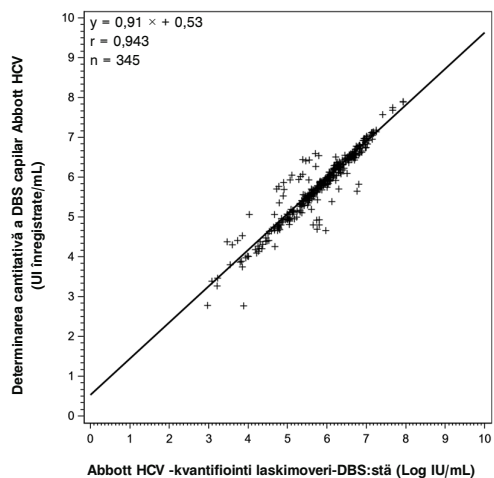
Kuva 3. Laskimoveri-DBS ja plasma



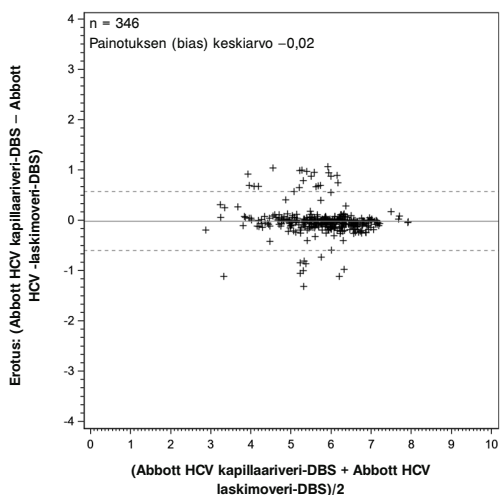
Kuva 6. Laskimoveri-DBS vs plasma



Kuva 4. Kapillaariveri-DBS ja laskimoveri-DBS



Kuva 7. Kapillaariveri-DBS vs laskimoveri-DBS



LÄHTEET

1. Gower E, Estes C, Blach S, et al. Global epidemiology and genotype distribution of the hepatitis C virus infection. *J Hepatol*. 2014; 61(1):S45-S57.
2. World Health Organization Updated Version April 2016: Guidelines for the screening, care and treatment of persons with hepatitis C infection. <http://www.who.int/hepatitis/publications/hepatitis-c-guidelines-2016/en/>.
3. AASLID/IDSA Recommendations for testing, managing and treating hepatitis C, revised April, 2017. www.hcvguidelines.org.
4. European Association of the Study of the Liver. Recommendation on Treatment of Hepatitis C 2018. *J. Hepatology* (2018).
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;39:1363-75.
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. *N Engl J Med* 1998;339(21):1493-9.
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):958-65.
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):975-82.
9. Hadziyannis SJ, Sette H Jr., Morgan TR, et al. Peginterferon- [alpha]2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose. *Ann Intern Med* 2004;140(5):346-55.
10. Orlent H, Deltenre P, Francque S, et al. Update of the Belgian Association for the Study of Liver Guidelines for the Treatment of Chronic Hepatitis C Genotype 1 with Protease Inhibitors. *Acta Gastro-Enterologica Belgica* 2012;LXXV:245-259.
11. Halfon P, Bourliere M, Penaranda G, Khiri H, and OuzinD. Real-time PCR assays for hepatitis C virus (HCV) RNA quantitation are adequate for clinical management of patients with chronic HCV infection. *J. Clin Microbiology* 2006;44(7): 2507-2511.
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):1611-8.
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):41-5.
14. WHO guidelines on hepatitis B and C testing. Geneva: World Health Organization; 2017.
15. Saldanha J, Heath A., 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 Sanguinis* 2005 Apr; 88 (3):202-204.

TEKNINEN TUKI

Ota yhteyttä Abbottin tekniseen tukeen puhelimitse: Abbot Molecular Technical Services 1-800-553-7042 (Yhdysvallat) tai +49-6122-580 (muut maat). Voit myös vieraila Abbottin verkkosivustolla osoitteessa www.molecular.abbott/portal.

Abbott RealTime HCV -määrittysten maahantuoja Euroopan unionissa on Abbott Diagnostics GmbH, Max-Planck- Ring 2, 65205 Wiesbaden, Saksa.



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



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



© 2020 Abbott. Kaikki oikeudet pidätetään.

www.abbottmolecular.com

51-608440/R1

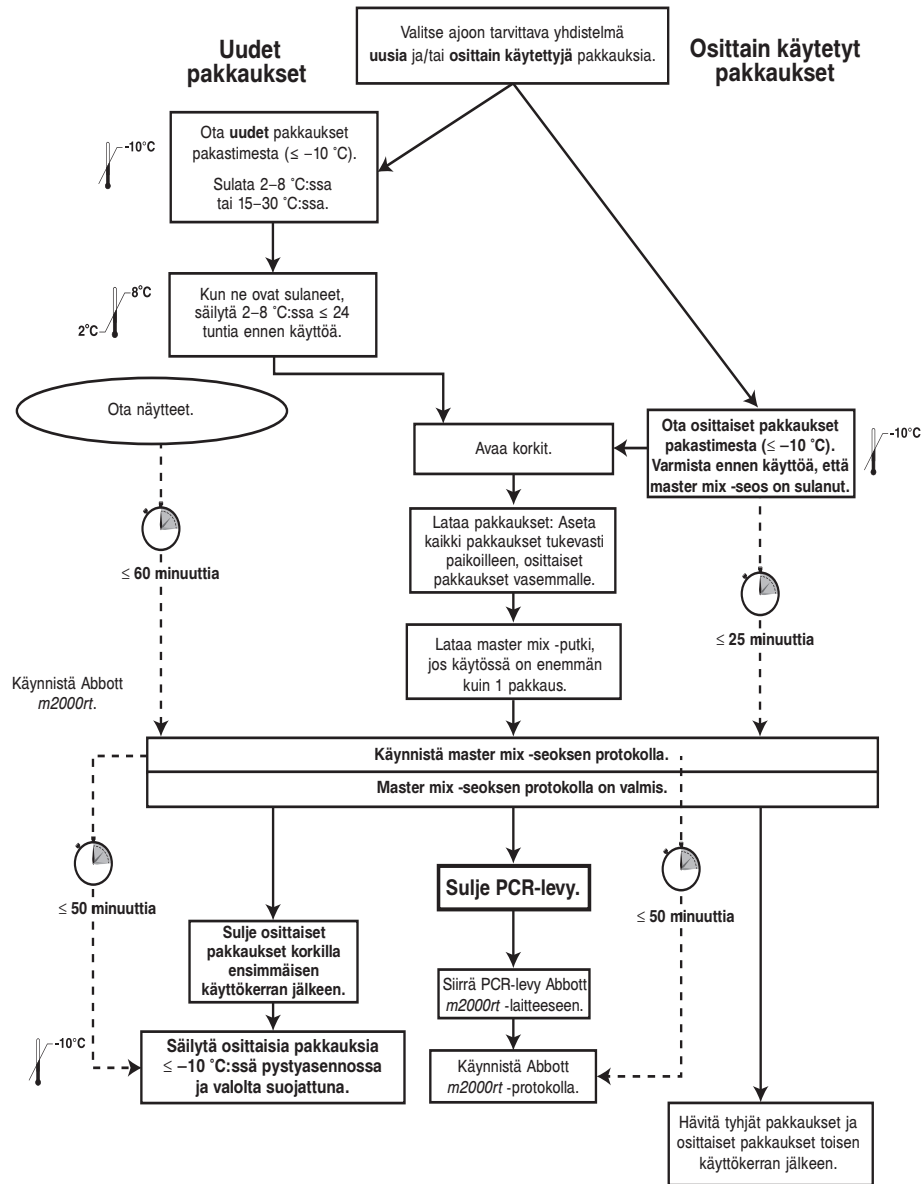
Heinäkuu 2020

LIITE 1. YLEISKATSAUS ABBOTT REALTIME HCV AMPLIFICATION REAGENT -MONISTUSREAGENSIN TOISTUVAAN KÄYTTÖÖN

Monistusreagenssipakkausta ja sisäistä kontrollia (IC) voidaan käyttää kaksi kertaa. Jos monistusreagenssipakkausta ei vielä ole käytetty master mix -seoksen valmistamiseen, sitä kutsutaan **uudeksi** monistusreagenssipakkaukseksi. Jo kertaalleen käytettyjä ja valmista master mix -seosta sisältäviä monistusreagenssipakkauksia kutsutaan **osittain käytetyiksi** monistusreagenssipakkauksiksi. Lisätietoja on muualla tässä ohjeessa.

Säilytys (Amplification Reagent Pack- ja Internal Control -pullot)		
Pakkaustyyppi	Säilytyslämpötila	Säilytysaika
Uudet pakkaukset	-10 °C tai matalampi lämpötila	Etiketissä olevaan päivämäärään saakka
Uusi sisäinen kontrolli (IC)	-10 °C tai matalampi lämpötila	Etiketissä olevaan päivämäärään saakka
Osittaiset pakkaukset	-10 °C tai matalampi lämpötila (valolta suojattuna)	Korkeintaan 14 vuorokautta ensimmäisen käyttökerran jälkeen
Osittaiset IC-pullot	-10 °C tai matalampi lämpötila	Korkeintaan 14 vuorokautta ensimmäisen käyttökerran jälkeen

- Jos kontaminaatioiden poistamiseen käytetään UNG-entsyymiä, lue ohjeet määritysprotokollan vaiheista 25 ja 32.



- Kaksi kertaa käytettävien monistusreagenssipakkausten viivakoodin yläpuolella on 6-numeroinen sarjanumero.
- Osittain käytettyä** monistusreagenssipakkausta voi käyttää uudelleen vain siinä samassa laitteessa, jossa pakkausta käytettiin ensimmäisen kerran. Jos monistusreagenssipakkausta käytetään toisella kerralla eri laitteessa, järjestelmä ilmoittaa virheestä ja näytteiden ajaminen saattaa viivästyä.
- Osittain käytettyjä** ja **uusia** monistusreagenssipakkauksia voidaan käyttää samanaikaisesti. Ajon aikana laitteessa käytettävien monistusreagenssipakkausten eränumeroiden on oltava identtisiä.

Abbott RealTime HCV

Lisatarvik Dried Blood Spot (DBS)-analüüsiks

et

REF 04J86-010
51-608440/R1

GTIN
REF 04J86-010
IVD
51-608440/R1

Kasutatud tähistel selgitused	
GTIN	Globaalne kaubandustoote kood
REF	Viitenumber
IVD	In vitro diagnostiline meditsiiniseade
	Maksimaalne lubatud aeg
	Temperatuuri ülempiir
	Temperatuuripiirang
EC REP	Volitatud esindaja Euroopa Ühenduses
	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 kasutusjuhend on lisa Abbott RealTime HCV-testri (loend nr 4J86) pakendi infolehele, 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 leiab selle juhendi tehnilise abi jaotisest.

NIMETUS

Abbott RealTime HCV

DBS-ANALÜÜSI LÄBIVIIMISEKS

Tester Abbott RealTime HCV on mõeldud in vitro pöördtranskriptsiooni polümeraasi ahelreaktsiooni (RT-PCR) testimiseks hepatiit-C viiruse RNA (HCV RNA) kvantitatiivseks määramiseks teel veres, mis on võetud kuiva verepleki meetodil (DBS) (st saadud venipunktuuri või kapillaarvere kaudu) HCV-infektsiooniga isikutel. Tester Abbott RealTime HCV on ette nähtud kasutamiseks viirusevastase ravi saavatel HCV-infektsiooniga patsientidel. Tester Abbott RealTime HCV ole ette nähtud vere, plasma, seerumi või koedonorite sõeluuringuks HCV-s ega diagnostiliseks testiks HCV-nakkuse olemasolu kinnitamiseks.

ETTENÄHTUD KASUTAJA

Abbott RealTime HCV-analüüsi ettenähtud kasutajateks on labori- ja tervishoiutöötajad.

TESTI KOKKUVÕTE JA SELGITUS

C-hepatiidi viirus (HCV) on üks peamisi maksahaiguse põhjuseid. Hinnanguliselt umbes 1,1% elanikkonnast põeb kroonilist C¹-hepatiiti ja ligikaudu 700 000 inimest sureb igal aastal C-hepatiidiiga seotavate maksahaiguste tagajärjel.² HCV on positiivse ahelaga RNA viirus, mis kandub edasi peamiselt intravenoosse ravimi kasutamise ja veretoode kaudu. Umbes 55–85% HCV-nakkusega isikutel areneb välja krooniline hepatiit, kusjuures kuni 30% krooniliselt nakatunud isikutest areneb välja tsirroos.¹ Tsiroosiga patsientidel on hepatotsellulaarse kartsinoomi esinemissagedus 2...4% aastas.¹

HCV RNA taseme kvantitatiivne mõõtmine perifeerses veres on osutunud oluliseks parameetriks erinevate HCV-vastaste ravimeetodite valikul.⁶⁻¹³ Otsetoimeliste viirusevastaste raviseemide kasutamisel on HCV-infektsiooni ravi oluliselt edasi arenenud. HCV-vastase 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 suurem HCV-koormus madala ja keskmise sissetulekuga riikides.¹⁴ Aktiivse HCV-infektsiooniga patsientide tuvastamise võimalused on nendes väheste ressurssidega piirkondades väga piiratud. DBS-meetodil kogutud täisverd võib kasutada alternatiivina seerumile või plasmale HCV RNA testimiseks. DBS-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) suunistes C-hepatiidi testimise kohta sisaldavad soovitusi DBS-meetodi kasutamiseks HCV viroloogiliseks testimiseks piiratud ressurssidega piirkondades.¹⁴

DBS-tester Abbott RealTime HCV kasutab pöördtranskriptsiooni polümeraasi ahelreaktsiooni (RT-PCR) tehnoloogiat koos homogeense reaalaajas fluorestseeruva määramisega HCV RNA kvantitatiivseks määramiseks DBS-is. HCV genoomi konserveerunud piirkonna valik näeb ette genotüüpide 1 kuni 6 avastamise. Analüüs on standarditud vastavalt 2 WHO C-hepatiidi viiruse RNA rahvusvahelisele standardile (NIBSC Code 96/798)¹⁵ ja tulemused on esitatud rahvusvahelistes mõõtühikutes/mL (IU/mL) või nende kümnendlogaritmekvivalendis.

PROTSEDUURI BIOLOOGILISED PÕHIMÕTTED

Abbott RealTime HCV DBS-i analüüs nõuab kolme reaktiivikomplekti:

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

Abbott RealTime HCV DBS-analüüs kasutab RT-PCR-i inimese DBS-i proovidest võetud HCV RNA genoomist amplifitseeritud toote genereerimiseks. Abbott RealTime HCV DBS-analüüs koosneb analüüsieelsest DBS-töötusest, proovide ettevalmistamisest, RT-PCR-koostust, amplifikatsioonist, määramisest ja tulemuste aruandlusest. Analüüsieelne DBS-töötus toimub puhverkomplekti Abbott mSample Preparation System DBS Buffer Kit abil enne proovi laadimist süsteemi m2000sp. Kõik analüüsieelsele DBS-töötusele järgnevad etapid viiakse süsteemides m2000sp ja m2000rt läbi automaatselt.

Täpsemat teavet proovi ettevalmistamise, RT-PCR-koostu, amplifikatsiooni ja määramise kohta leiab Abbott RealTime HCV analüüsi (loend nr 4J86) pakendi infoleht.

AMPLIFITSEERIMISREAKTIIVI PIKENDATUD KASUTUSAEG

Valikulise amplifitseerimisreaktiivi pikendatud kasutusaeg võimaldab kasutada amplifitseerimisreaktiivi pakendeid ja sisemisi kontrolle 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. Sisemisi kontrolle (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 kasutusjuhendi 1. lisas.

Kasutamata (esimest korda kasutatavaid) amplifitseerimisreaktiivi pakendeid ja sisemisi kontrolle nimetatakse kasutusjuhendis uuteks amplifitseerimisreaktiivi pakenditeks ja sisemisteks kontrollideks. Üks kord kasutatud ja master mixi sisaldavaid amplifitseerimisreaktiivi pakendeid nimetatakse poolikuteks amplifitseerimisreaktiivi pakenditeks. Üks kord kasutatud sisemise kontrolli viaale nimetatakse poolikuteks sisemise kontrolli viaalideks.

NUKLEIINHAPPEGA SASTUMISE VÄLTIMINE

Vt Abbott RealTime HCV analüüsi (loend nr 4J86) pakendi infolehte.

REAKTIIVID

Vt Abbott RealTime HCV analüüsi (loend nr 4J86) pakendi infolehte.

HOIATUSED JA ETTEVAATUSABINÕUD

IVD

Kasutamiseks *in vitro* diagnostikas.

Abbott RealTime HCV analüüs kuivanud veretilga (DBS) meetodil ei ole ette nähtud HCV esinemise kontrollimiseks veres, plasmas, seerumis või doonorkoes ega kasutamiseks HCV-nakkust kinnitava diagnostilise testina.

OHUTUSABINÕUD

Vt Abbott RealTime HCV analüüsi (loend nr 4J86) pakendi infolehte. RealTime HCV analüüsiks DBS-meetodil kasutatakse ainult seadmeid m2000sp ja m2000rt.

ERIEETVAATUSABINÕUD

Ettevaatus DBS-i proovide käsitlemisel

Abbott RealTime HCV analüüs DBS-meetodil on ette nähtud kasutamiseks üksnes täisvere või DBS-i proovidega, mida on käsitsetud ja säilitatud vastavalt jaotises **PROOVIDE VÕTMINE, SÄILITAMINE JA ANALÜÜSIKOHTA TRANSPORTIMINE** esitatud juhistele.

Vt Abbott RealTime HCV analüüsi (loend nr 4J86) pakendi infolehte.

DBS-iga seotud eriettevaatusabinõud käsitlemisel:

- Veenduge, et DBS-kaardid on enne kuivatusainega kotis hoiustamist täielikult kuivanud. DBS-i määrimine ning valesti kuivatamine, säilitamine ja käsitsemine võib moonutada analüüsi tulemusi.
- Ristsaastumise vältimiseks kasutage iga DBS-i proovi tilga perforatsioonid DBS-kaardilt välja lükkamisel uut pipetitsikut. Perforeerimata DBS-kaardi kasutamise korral desinfitseerige tilga 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 Abbott RealTime HCV analüüsi (loend nr 4J86) pakendi infolehte.

Aerosooliga saastumine

Vt Abbott RealTime HCV analüüsi (loend nr 4J86) pakendi infolehte.

Saastumine ja selle tõkestamine

Vt Abbott RealTime HCV analüüsi (loend nr 4J86) pakendi infolehte.

Saastumine välise dU sisaldusega amplifitseeritud proovist

Laborid, kus kasutatakse või on kasutatud HCV amplifikatsiooniproove, mis hõlmavad amplifitseeritud proovi PCR-järgset töötlemist, võivad olla saastunud dU sisaldusega amplifitseeritud prooviga. Selline saastumine võib põhjustada Abbott RealTime HCV DBS-i analüüsi ebatäpseid tulemusi. Vt Abbott RealTime HCV analüsaatori (loend nr 4J86) pakendi infolehte alajaotist **Labori jälgimine saaste avastamiseks**. Kui negatiivsed kontrollid on püsivalt reaktiivsed või kui tõenäoliselt on toimunud saastumine dU-sisaldusega HCV amplifitseeritud prooviga, on soovitatav kasutada uratsiil-N-glükosülaasi (UNG) saastumistõrje toimingut, kui labori saasteainest puhastamine ei õnnestu.

HOIUSTAMINE

Abbott RealTime HCV amplifikatsioonireaktiivi komplekt (loend nr 4J86-90)

- **Uusi ja osalisi** Abbott RealTime HCV amplifikatsioonireaktiivi pakke ja sisekontrolli (IC) ampulle 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 kontroll-lahustest.
- **Osalised** amplifikatsioonireaktiivi pakid ja sisekontroll tuleb säilitada -10°C juures või madalamal temperatuuril ja hoida korgistatult, 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 korgistatult -10°C juures või külmemas. Pärast kahte kasutuskorda tuleb osalised amplifikatsioonireaktiivi pakid ja IC ära visata. Teisel kasutuskorral ei tohi ületada reaktiivi aegumistähtaega.

Abbott RealTime HCV kontrollkomplekt (loend nr 4J86-80)

- **Abbott RealTime HCV negatiivsed ja positiivsed kontrollid** tuleb säilitada -10°C juures või jahedamas.

Abbott RealTime HCV kalibreerimiskomplekt (loend nr 4J86-70)

- **Abbott RealTime HCV Calibrator A (kalibraator A) ja Calibrator B (kalibraator B)** tuleb säilitada -10°C juures või külmemas.

TRANSPORTIMISTINGIMUSED

Vt Abbott RealTime HCV analüüsi (loend nr 4J86) pakendi teabelehte.

REAGENTIDE EBASTABIILSUSE VÕI HALVENEMISE ILMINGUD

Vt Abbott RealTime HCV analüüsi (loend nr 4J86) pakendi teabelehte.

TOIMINGUD INSTRUMENTIDEGA

Enne analüüsi teostamist tuleb Abbott RealTime HCV for DBS rakendusfail paigaldada Abbott m2000sp ja Abbott m2000rt süsteemidele Abbott RealTime HCV m2000 ROW System Combined Application CD-ROMilt (loend 1L69-040 või uuem). Üksikasjalikku teavet rakendusefailide installimise kohta leiate jaotisest Abbott m2000sp ja Abbott m2000rt kasutusjuhendist, käitamist juhised.

PROOVIDE KOGUMINE, SÄILITAMINE JA TRANSPORTIMINE ANALÜÜSIKOHAS

Proovide kogumine ja säilitamine

- DBS-i valmistamiseks kasutage sõrmest võetud veretilga või EDTA täisverd. EDTA 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).
- Ampulli kogutud EDTA täisverd tuleb enne verepleki tegemist hoolikalt segada, pöörates ampulli ettevaatlikult ümber. Tilgutage veri Ahlstrom-Munktel TFN paberkaardi pooltootistele (12 mm) sõõridele või Whatman 903-le ja veenduge, et kogu sõõr on kaetud. Täieliku katvuse tagamiseks on soovitatav kasutada iga ringi kohta vähemalt 70 μL verd (ligikaudu 3 kuni 5 veretilga).
- Kuivatage kaarti toatemperatuuril vähemalt kolm tundi. Pakkige iga kaart suletavasse kotti koos kuivatusaine pakikestega (vähemalt 2-3 kuivatusaine pakikest).
- DBS-proovidega kaarte saab enne analüüsi teostamist säilitada vastavalt allpool toodud tabelis näidatud tingimustele.

DBS-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 ja keskkonna niiskuse juures	18 nädalat

Proovide transportimine

Transportige proove vastavalt soovitatavale säilitamistemperatuurile ja -ajale, mis on loetletud jaotises **Proovide kogumine ja säilitamine**. Riigisiselisel ja rahvusvahelisel transportimisel tuleks proovid pakendada ja märgistada vastavalt kehtivatele riiklikele, föderaalsetele ja rahvusvaheliste eeskirjadele, mis hõlmavad kliiniliste, diagnostiliste või bioloogiliste proovide vedu.

ABBOTT REALTIME HCV ASSAY PROCEDURE FOR DBS

Vajalikud vahendid, mida pole komplektis

- Abbott RealTime HCV amplifikatsioonireaktiivi komplekt (loend nr 4J86-90)
- Abbott RealTime HCV kalibreerimiskomplekt (loend nr 4J86-70)
- Abbott RealTime HCV kontrollkomplekt (loend nr 4J86-80)

Abbott m2000sp Instrument Sample Preparation Area jaoks

- Abbott mSample Preparation System DBS Buffer Kit (loend nr 09N02-001)
- Abbott m2000sp instrument (loend nr 9K14-01, 9K14-02)
- Abbott mSample Preparation System (4×24 preparaati) (loend nr 04J70-24)
- Kalibreeritud täppispipetid, millega saab doseerida 20–1000 μL (UNG kasutamisel võib olla vaja kalibreeritud pipette, millega saab doseerida $<20 \mu\text{L}$).

- Aerosoolitõkkega pipetiotsikud 20–1000 µL pipettide jaoks (UNG kasutamisel võib olla vaja aerosoolitõkkega pipetiotsikud, millega saab doseerida <20).
- Vortex Mixer
- Master Mix Tube (loend nr 04J71-80)
- Abbott 96-Deep-Well Plate (loend nr 04J71-30)
- 5 mL Reaction Vessels (loend nr 04J71-20)
- 200 mL Reagent Vessels (loend nr 04J71-60)
- Abbott 96-Well Optical Reaction Plate (loend nr 04J71-70)
- Abbott Optical Adhesive Covers (loend nr 04J71-75)
- Abbott Adhesive Cover Applicators (loend 9K32-01)
- Abbott Splash-Free Support Base (loend nr 9K31-01)
- Abbott RealTime HCV m2000 ROW System Combined Application CD-ROM (loend nr 1L69-040 või uuem)
- m2000 System 13mm DBS-PoS Set (loend nr 09N03-001)
- 1.4 mL Micro Vial 15mm Caps (loend nr 3N20-01) valikuline
- Uracil N-Glycosylase (UNG)^a (loend nr 6L87-02)

^aVajaduse korral selle kasutusjuhendi jaotise **Saastumine välise dU-d sisaldava amplifitseeritud saadusega** kohaselt.

Abbotti m2000rt instrumendi amplifitseerimisala jaoks

- Abbotti instrument m2000rt (loend nr 9K15-01)
- Süsteemi Abbott RealTime HCV m2000 ROW koondrakendus CD-ROM (loend nr 1L69-040 või suurem)
- Optiline kalibreerimiskomplekt Abbott m2000rt (loend nr 04J71-93)

Muud ained

- Bioloogilise ohutuse kapp, mis on heaks kiidetud töötamiseks nakkusohlike ainetega
- DBS-kaardi suletav kott
- Kuivatusaine pakk DBS-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 üksust kasutatakse laborijärelevalve protseduuris saaste olemasolu tuvastamiseks. Vt analüüsi Abbott RealTime HCV analüüsi (loend nr 4J86) pakendi infolehe jaotist KVALITEEDIKONTROLLI PROTSEDUURID.

Protseduurilised ettevaatusabinõud

- Lugege seda kasutusjuhendit hoolikalt enne proovide töötlemist.
- Amplifikatsioonireaktiive ja sisekontrolli saab kasutada kuni 2 korda, nagu on kirjeldatud selles kasutusjuhendis. Abbott RealTime HCV Calibrators (kalibraatorid), 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 sisemise kontrolli pipetamiseks kasutage aerosoolbarjääriga pipetiotsi või ühekordselt kasutatavaid pipette ainult 1 kord. Pipetimisel pipetitrulli saastumise ärahoidmiseks tuleb olla ettevaatlik, vältimaks pipetitrulli puutumist 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.
- Abbott RealTime HCV kalibraatorid ja kontrollained tuleb rakendada koos testitavate proovidega. Abbott RealTime HCV kalibraatorid ja kontrollained on Abbott RealTime HCV analüüsi jõudluse seisukohast üliolulised. Vt jaotist **KVALITEEDIKONTROLLI PROTSEDUURID**.
- Master Mix Abbott m2000sp lisamise protokolliga tuleb alustada 1 tunni jooksul pärast seda, kui proov on ette valmistatud.
- Kui segu master mix Abbott m2000sp lisamise protokoll katkestatakse, siis kõrvaldage amplifikatsioonireaktiivid, mida teist korda kasutati. Uued, esmakordselt kasutatavad reaktiivipakid võib alles hoida ning hoiustada hiljem kasutamiseks, nagu on selles juhendis kirjeldatud.

- m2000rt protokolliga tuleb alustada 50 minuti jooksul segu Master Mix lisamise protokolliga alustamisest. Kui instrumendi Abbott m2000rt käitust 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 Abbott m2000rt toimingujuhendi kohaselt plaadi käsitlemiseks kasutatud kinnastega.

NB! Teist korda kasutatavaid amplifikatsioonireaktiive tuleb hoida temperatuuril –10 °C või külmemas 50 minuti jooksul alates segu master mix lisamisprotokolliga alustamisest.

ANALÜÜSIPROTOKOLL: DBS-PROOVID, MIS TOIMIVAD ABBOTT m2000sp JA ABBOTT m2000rt INSTRUMENTIDEGA

Instrumendi Abbott m2000sp ja instrumendi Abbott m2000rt protokollide teostamise üksikasjaliku kirjelduse leiab Abbott m2000sp ja Abbott m2000rt toimingujuhendite kasutusjuhiste jaotistest. DBS-protokoll nõuab Abbott m2000sp tarkvaraversiooni 6.0 või uuemat versiooni. Järgige Abbott m2000sp toimingujuhendit (loend 09K20, versioon 6 või uuem). Iga analüüsiga saab töödelda kokku 96 proovi. Igas analüüsis osalevad negatiivne kontroll, madal positiivne kontroll ja kõrge positiivne kontroll, võimaldades seega kuni 93 DBS-proovi töötlust analüüsi kohta ilma kalibraatoreid arvestamata. Töödelge kalibraatorid ja kontrollid otse vedelproovidena, etapid 1 kuni 5 on ainult DBS-i jaoks. Ärge töödelge plasma- ega seerumiproove ühelgi analüüsil, kus kasutatakse DBS-protokoll. Iga DBS-proovi kohta tuleks kasutada ühte Abbott Master Mix Tube'i (põhisegu katsuti) kogu proovitötlusprotseduuri ulatuses. Veenduge, et DBS-proovid oleksid kogu töötuse vältel märgistatud.

1. Täitke Abbotti Master Mix Tube 1,3 mL mDBS-puhvriga süsteemi Abbott mSample Preparation (proovi ettevalmistamissüsteem) DBS-puhvikomplektist (loend nr 09N02-001).

MÄRKUS. Ärge kasutage selles etapis reaktiivi mLysis Buffer (lüüsipuhver) ega ühtegi muud reaktiivi.

2. Hoidke perforeeritud DBS-paberkaart Abbotti Master Mix Tube'i kohal.
3. Lükake DBS-rõngas kaardist välja puhta pipetiotsa abil, 1 DBS-rõngas Master Mix Tube'i kohta. Iga DBS-i läbimõõt peaks olema umbes 12 millimeetrit (pool tolli).

MÄRKUS. KASUTAGE RISTSAASTUMISE ÄRAHOIDMISEKS IGA DBS-PROOVI JAKS UUT PIPETIOTSA.

Teine võimalus on lõigata perforeerimata DBS-paberist välja 1 terve DBS (umbes pooletolli läbimõõduga) iga proovi kohta ja viige see segu Master Mix Tube'i.

MÄRKUS. Vältige löikepinna otsest kokkupuudet DBS-proovidega. Dekontamineerige DBS-i löikeriist vajaduse korral proovide vahel heade laboritavade kohaselt.

4. Veendumaks, et DBS-rõngas oleks mDBS-puhvrissse täielikult kastetud koputage katsuti pipetiotsaga, et lükata DBS puhvrissse.

MÄRKUS. Kui DBS lükatakse puhvrissse pipetiotsaga, siis veenduge, et pipetiots ei põhjustaks DBS-puhvri mahukadu otsas oleva vedeliku ja/või puhvri imendumise tõttu otsafiltrisse.

5. Loksutage või keerutage proovikatsuteid käsitsi. Ärge proovidele keerist tekitage. Inkubeerige 30 minutiks (±2 minutit) ümbritseva keskkonna temperatuuril.
6. Sulatage vahepeal analüüsi kontrollaine ja sisemine kontrollaine (IC) temperatuuril 15 °C kuni 30 °C või 2 °C kuni 8 °C. Sulatage kalibraatorid temperatuuril 15 °C kuni 30 °C või 2 °C kuni 8 °C ainult kalibreerimiskäituse tegemisel.
7. Viige enne kasutamist iga analüüsikalibraator ja iga kontrollaine keerisesse 3 korda 2 kuni 3 sekundiks. Veendumaks, et iga viaali sisu oleks põhjas, koputage viaale pingi peal, et vedelik läheks viaali põhja. Veenduge, et ei tekiks mulle ega vahtu, vastasel juhul eemaldage need steriilse pipetiotsaga, kasutades iga viaali 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 segu master mix amplifitseerimiseks vajalik.
9. Valige **uued** ja/või **osalised** amplifikatsioonireaktiivi pakid, mida analüüsis kasutatakse. Amplifikatsioonireaktiivi paki ladustamise haldamise juhendi kohta vt Abbott m2000sp toimingujuhend (loend nr 09K20, versioon 6 või uuem), kasutusjuhiste jaotist. Amplifikatsioonireaktiivi pakidel peab olema sama partiiumber.

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 on segu master mix amplifitseerimiseks vajalik.

MÄRKUS. Sulatatuna võib uusi amplifikatsioonireaktiive hoida temperatuuril 2 °C kuni 8 °C kuni 24 tunni vältel, 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 on vajalik segu master mix lisamise jaoks. Külmutusest eemaldamise järel ei tohi neid toatemperatuuril säilitada kauem kui 25 minutit, sealhulgas juhul, kui pakside hoiustamine katkestatakse, ent neid ei kasutata. Kui 25 minutit on ületatud, kõrvaldage osalise amplifitseerimise reaktiivipakid.

Järgmises tabelis on toodud proovide ettevalmistamise reaktiivide ja sisemise kontrollaine vialide arv olenevalt reaktsioonide arvust.

Proovi ettevalmistamise reaktiivid ja sisemise kontrollaine nõuded				
Reaktiiv	1 kuni 24 reakt-siooni	25 kuni 48 reakt-siooni	49 kuni 72 reakt-siooni	73 kuni 96 reakt-siooni
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
Sisemine kontrollaine ^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 sisemise kontrollaine 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.
 - Viige iga IC keerisesse 3 korda 2 kuni 3 sekundiks.
 - Kasutage kalibreeritud täppispiipetti, **MIS ON ETTE NÄHTUD AINULT SISEMISE KONTROLLAINE JAOKS** ja lisage 500 µL IC-d igasse mLysis Bufferi (lõõsupuhver) pudelisse. Segage anuma ettevaatliku ümberpööramise teel 5–10 korda, et vahutamine oleks võimalikult vähene. IC osalisi vialide 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 proovirestidele.
 - Kui inkubeerimine on valmis, loksutage või keerutage DBS-proovikatsuteid käsitsi ja seejärel viige need Abbott m2000sp proovirestidele.
- MÄRKUS.** Veenduge, et Abbott m2000sp proovirestid oleksid kalibreeritud spetsiaalselt Abbott RealTime DBS-i jaoks ette nähtud HCV-protseduuriks.
- Laadige proovirestid ettevaatlikult täis, et vältida pritsimist. Kui kasutusel on vöötkoodid, peavad need olema suunatud paremale, et neid oleks võimalik skannida. Veenduge, iga katsuti oleks proovirestile paigutatud kindlalt, nii et katsuti alaosa ulatuks resti põhja siseküljeni.
 - Laadige täidetud proovirestid seadmele Abbott m2000sp järjestikusel asendis, nii et esimene rest jääks töölaual paremale serva ja mis tahes järgmine rest sellest edasi vasakule.
 - Viige 5 mL reaktsioonianumad Abbott m2000sp 1 mL alamsüsteemi kandjale.
 - Laadige süsteemi Abbott mSample Preparation System (proovide ettevalmistamise süsteem) reaktiivid Abbotti 96 sügava auguga (Abbott 96 Deep-Well Plate) alusele töölaual Abbott m2000sp, nagu on kirjeldatud Abbott m2000sp toimingujuhendis kasutusjuhiste osas.
 - Valige kuval Protocol (Protokoll) rakendusfail HCV RNA DBS. Käivitage proovi ekstraheerimise protokoll, nagu on kirjeldatud Abbott m2000sp toimingujuhendis kasutusjuhiste osas.

- Sisestage kalibraatori (vajalik, kui kalibreerimiskõverat pole seadmes Abbott m2000rt salvestatud) ja kontrollpartii spetsiifilised väärtused jaotise Sample Extraction (Proovi ekstraheerimine) väljadele Worktable Setup (Töölaua seadistamine), Calibrator (Kalibraator) Control (Kontrollaine). Partiispetsiifilised väärtused on määratud iga Abbott RealTime HCV-kalibraatori ja kontrollkomplekti 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) segu master mix tube Abbott m2000sp töölaual, kui proov on ette valmistatud. Järgmises tabelis on toodud proovide valmistamise amplifikatsioonireaktiivide pakside arv olenevalt reaktsioonide arvust. Kui kasutatakse ainult 1 reaktiivipakki, pole segu master mix tube vajalik.

Vajalike amplifikatsioonireaktiivi pakside (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 pakside korral	2 uut; kuni 4 osaliste pakside korral	3 uut; kuni 4 osaliste pakside korral	4 uut või 4 osalist pakki

^a Juhised ladustamise korraldamiseks, et teha kindlaks testitavate reaktsioonide maksimumarv valitud osaliste paksidega, leiate Abbott m2000sp toimingujuhendist (loend nr 09K20, versioon 6 või uuem versioon).

- Osalise amplifitseerimise reaktiivipakke saab kasutada ainult samal Abbott m2000sp instrumendil, mida kasutati reaktiivipaki algseks ettevalmistamiseks. Amplifikatsioonireaktiivide paki kasutamisel teist korda muul instrumendil tekib tõrge, mis võib analüüsi viivitada.
- Osalisi ja uusi amplifikatsioonireaktiivi pakke võib kasutada koos.

NB! Osalisi amplifikatsioonireaktiivi pakke tuleb hoida temperatuuril –10 °C või külmemas ja sealt eemaldada vaid vahetult enne teist kasutust. Kontrollige enne osalis(t)e paki/ pakside paigutamist Abbott m2000sp töölaual, et segu master mix oleks üles sulanud. Kui teist korda kasutatavad osalise 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 juhul, kui pakside säilitamine lõpetatakse, kuid neid ei kasutata.

- Veendumaks, et uute amplifikatsioonireaktiivi pakside sisu oleks enne amplifikatsioonireaktiivide avamist vialide põhjas, koputage vialide püstasendis vastu töölauda 5–10 korda.
 - Ärge koputage osalisi amplifikatsioonireaktiivi pakke, mida kasutatakse teist korda. Koputamine võib kaasa tuua master mixi kadumise korgisse.
 - Eemaldage korgid. Kui teiseks kasutamiseks hoiustatakse uus amplifikatsioonireaktiivi pakk, 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 algseid kõrvaldada.
- Kui aastekontrolliks kasutatakse uratsiil-N-glükosülaasi (UNG), järgige alltoodud juhiseid.**
- Lisage AINULT REAKTIIVIDEGA KASUTAMISEKS ETTE NÄHTUD PIPETI ABIL kindlas mahus 1 ühik/µL UNG-d (loend nr 6L87-02) reaktiiviviali uute ja osaliste amplifikatsioonireaktiivi pakside asendis 3. Pipettige kõiki osalisi pakke segamiseks õrnalt üles-alla. Ärge uusi pakke segage.
 - Alltoodud tabeli abil saate kindlaks teha UNG mahu, mis tuleb reaktiiviviali uute ja osaliste amplifikatsioonireaktiivi pakside asendis 3 lisada. Uue reaktiivipaki asendis 3 sisaldab reaktiiviviali termostaabiilset rTth-polümeraasi ensüümi. Osalise reaktiivipaki asendis 3 sisaldab reaktiiviviali segu master mix.

MÄRKUS. Reaktiivivialli iga amplifikatsioonireaktiivi paki asendamine 3 lisatava UNG maht oleneb reaktiivipakki allesjäänud testide arvust ja mitte analüüsivate proovide arvust. Juhiste saamiseks amplifikatsioonireaktiivi paki ladustamise haldamiseks ja reaktiivipakki allesjäänud testide arvu kindlakstegemise kohta vt *m2000sp* toimingujuhend.

26. Osalisel amplifikatsioonipakid laaditakse Abbott *m2000sp* tööalaal uutest amplifikatsioonireaktiivi pakkidest 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 Mix lisamise protokoll. Järgige juhiseid, mis on toodud Abbott *m2000sp* toimingujuhendis kasutusjuhiste osas.

MÄRKUS. Kasutaja ei tohi käsitsi täita ühtegi Abbotti 96 auguga optilise reaktisooniplaadi (Abbott 96-Well Optical Reaction Plate) tühja/täitmata süvendit.

- Kui proovid on ekstraheeritud, täidab Abbott *m2000sp* automaatselt Abbotti 96 auguga optilisel reaktisooniplaadil (Abbott 96-Well Optical Reaction Plate) mis tahes tühjad augud elueerimispuhvriga (Elution Buffer) *m*, kui analüüsi jooksul töödeldakse üle 48 proovi. Plaat ei täideta, kui analüüsis on proove 48 või vähem.
- Kui instrument sellest märku annab, peaks reaktiivikandja 2 jääma paika, sisaldades minimaalselt puhvrit *m*Elution Buffer (reaktiivikandja 2, asukoht 6). Kui see reaktisoonium on maha laetud, viige reaktiivikandja 2 asukohta 6 uus reaktiivium määrgisega *m*Elution Buffer. Reaktiiviumumasse lisatakse süsteemivedelik, millega täidetakse tühjad süvendid. Kui see toiming on valmis, jätkab süsteem segu master mix lisamisega.

MÄRKUS. Plaatide automaattäitmise funktsiooni kasutamine süsteemijuhised leiate *m2000sp* toimingujuhendi (loend nr 09K20, versioon 6 või uuem) jaotisest 5, Kasutusjuhised, Proovi ekstraheerimise suletud režiim.

- Abbott *m2000rt* protokolliga (etapp 33) tuleb alustada 50 minuti jooksul Master Mix lisamise protokoll alustamisest (etapp 28).

Vt Abbott RealTime HCV analüüsi (loend nr 4J86) pakendi infolehte.

DBS-PROOVIDE TULEMUSED

Saadud DBS-proovikontsentratsiooni tulemus *m2000rt* DBS-i protokollil analüüsist tähistab HCV viiruskontsentratsiooni täisvereproovis, kust DBS-proov võeti. Abbott *m2000rt* instrument teatab tulemused automaatselt Abbott *m2000rt* tööjaamas. Analüüsitulemused saab esitada rahvusvahelistes ühikutes IU/mL või Log IU/mL.

Tulemuste tõlgendamine

Tulemus	Tõlgendus
Pole tuvastatud	Sihthärrki ei tuvastatud
< 2,66 Log IU/mL ^a	Tuvastatud
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 optiline jõudlus eeldab sobiva proovi võtmist, säilitamist ja transporti katsekohta (vt selle pakendi infolehe jaotist **PROOVI VÕTMINE, HOIUSTAMINE JA TRANSPORT KATSEKOHTA**).
- EDTA-katsutitesse võetud täisvereproovidest on võimalik saada DBS, mida testitakse DBS-i jaoks ette nähtud analüüsiga Abbott RealTime HCV. DBS-i jaoks ette nähtud analüüsi RealTime HCV puhul on lubatud ka muude hüübimisvastaste ainete kasutamine.
- DBS-i jaoks ette nähtud analüüsi Abbott RealTime HCV kasutus on 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 jaoks ette nähtud 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-kaartide ebasobiv kogumine, kuivatamine, säilitamine ja käsitsemine võib muuta katsetulemused ebatäpseks.
- Kasutada võib DBS-kaarte Ahlstrom-Munktel TFN and Whatman 903. Analüüsi RealTime HCV puhul on lubatud ka muude kaartide kasutamine.

SPETSIIFILISED JÕUDLUSOMADUSED DBS-PROOVIDE JAKS

Avastamispiir (LOD)

Analüüsi Abbott RealTime HCV avastamispiiri on proovitud übi korral DBS 462 IU/mL. LOD kindlakstegemiseks testiti DBS-proove, mis olid valmistatud WHO rahvusvahelise C-hepatiidi viiruse rahvusvahelise standardi RNA sarilahendusega HCV-negatiivses täisveres. Iga HCV RNA kontsentratsiooni testid tehti amplifikatsioonireaktiivide 4 partii abil 3 päeva jooksul. Tulemused, mis näitavad DBS-i jaoks ette nähtud analüüsi Abbott RealTime HCV analüütilise tundlikkuse jõudlust, on esitatud tabelis 1.

Tabel 1. DBS-i jaoks ette nähtud Abbott RealTime HCV avastamispiir (LOD)

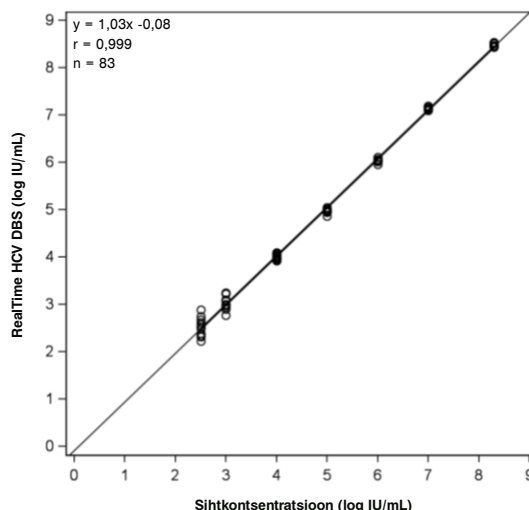
HCV RNA (IU/mL)	Testitud kogus	Tuvastatud arv	Tuvastatud protsent
500	84	83	99
400	84	80	95
350	84	75	89
300	84	73	87
150	84	54	64
50	84	26	31

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

Abbott RealTime HCV analüüsi koguseline ülempiir (ULQ) on 100 miljonit IU/mL ja koguseline alampiir on võrdne DBS-tulemuse LOD-ga (462 IU/mL). 7-osaline DBS-paneel valmistati HCV-ga ääristatud 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 jaoks ette nähtud analüüsi Abbott RealTime HCV lineaarsus



DBS-i jaoks ette nähtud analüüs Abbott RealTime HCV näidati olevat kogu HCV RNA kontsentratsioonivahemike ulatuses lineaarne (316 kuni 200 miljonit IU/mL, 2,5 kuni 8,3 Log IU/mL).

Spetsiifilisus

DBS-i jaoks ette nähtud analüüsi Abbott RealTime HCV sihtspetsiifilisus on suurem või võrdne 99,5%-ga. Spetsiifilisuse kindlakstegemiseks analüüsiti 119 HCV seronegatiivset proovi amplifikatsioonireaktiivide 2 partii vahel. Spetsiifilisus oli kokku 100% (119/119).

Kordustäpsus

Täpsuse mõõtmiseks testiti 6-osalist DBS-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 *m2000sp/rt* koos amplifikatsioonireaktiivide 3 partiiga. Analüüsi jooksul, selle vahel ja analüüsides vahel (käituse sees ja nende vahel) tehti kindlaks standardhälve (SD). DBS-i jaoks ette nähtud analüüsi Abbott RealTime HCV on välja töötatud eesmärgiga saavutada analüüsides vaheline 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 jaoks ette nähtud analüüsi Abbott RealTime HCV täpsust, on esitatud tabelis 2.

Tabel 2. DBS-i jaoks ette nähtud analüüsi Abbott RealTime HCV täpsus

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	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 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. Täpsuse mõõtmine põhineb testitud replikaatidel.

^e Käitusesisest SD-d nimetatakse ka korratavuseks. SD-de kogusummat nimetatakse ka reprodutseeritavuseks.

Korratavus ja reprodutseeritavus olid paneeliosal 1 (LLOQ-le lähedane) vastavalt 0,26 Log IU/mL ja 0,27 Log IU/mL ning paneeliosal 2 (LLOQ-le lähedane) vastavalt 0,23 Log IU/mL ja 0,25 Log IU/mL. Korratavus ja reprodutseeritavus olid paneeliosal 5 (ULOQ-le lähedane) vastavalt 0,12 Log IU/mL ja 0,14 Log IU/mL ning paneeliosal 6 (ULOQ-le lähedane) vastavalt 0,04 Log IU/mL ja 0,07 Log IU/mL.

Correlation

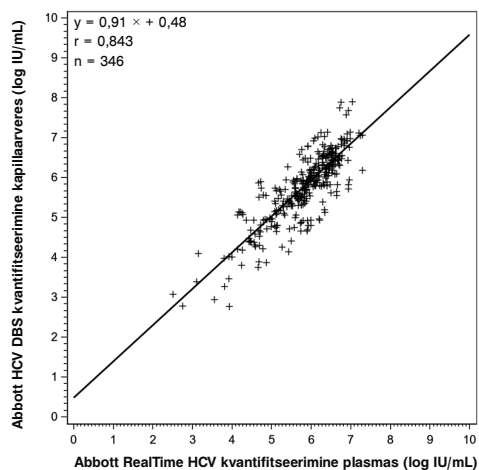
HCV RNA kvantitatiivsust võrreldi Abbott RealTime HCV analüüsi kuiva verepleki meetodil CE-märgisega võrdlusanalüüsiga Abbott RealTime HCV inimese vereplasmat testides. Võrdlusanalüüsi valimisse kaasati plasma- ja DBS-proovid kokku 346 patsiendilt (kogutud ja testitud Gruusias, Kamerunis ja Kreekas). Testiti nii veeniverest ettevalmistatud DBS-i kui ka kapillaarverest ettevalmistatud DBS-i (näpuveri) DBS-analüüsiga Abbott RealTime HCV. Analüüsi dünaamilisse vahemikku kuuluvate proovide kvantitatiivseid tulemusi analüüsiti lineaarse vähimruutude regressioonimeetodi ja Bland-Altmani analüüsimeetodiga (DBS kapillaarid versus plasma N = 346, DBS venoosne versus plasma N = 346, ja DBS kapillaarid versus DBS venoosne N = 345). DBS-i kapillaaride ja plasma vahelise korrelatsiooni korral oli korrelatsioonikoefitsient 0,843, kalle oli 0,91 (95% CI 0,85 kuni 0,97) ning interventsioon oli 0,48 Log IU/mL (95% CI 0,12 kuni 0,84) (**Joonis 2**). DBS venoosse ja plasma vahelise korrelatsiooni korral oli korrelatsioonikoefitsient 0,840, kalle oli 0,94 (95% CI 0,88 kuni 1,00) ning interventsioon oli 0,31 Log IU/mL (95% CI -0,07 kuni 0,69) (**Joonis 3**). DBS kapillaaride ja DBS venoosse korrelatsiooni korral oli korrelatsioonikoefitsient 0,943, kalle oli 0,91 (95% CI 0,87 kuni 0,94) ning interventsioon oli 0,53 Log IU/mL (95% CI 0,33 kuni 0,72) (**Joonis 4**). Lisaks on joonistel **Joonis 5**, **Joonis 6** ning **Joonis 7** ära toodud samade võrdluste Bland-Altmani graafikud. Keskmine erinevus DBS-i kapillaaride ja plasma vahel oli -0,05 Log IU/mL. Keskmine erinevus DBS-i venoosse ja plasma vahel oli -0,04 Log IU/mL. Keskmine erinevus DBS kapillaaride ja DBS venoosse vahel oli -0,02 Log IU/mL.

DBS-i kapillaaride ja plasma vahelist prognoositud erinevust hinnati LLOQ ja ULOQ sihttasemetel. Lisaks hinnati DBS Venous ja Plasma vahel prognoositud erinevust LLOQ ja ULOQ sihttasemetel. Prognoositud erinevuste väärtuste kokkuvõte on esitatud tabelis **Tabel 3**.

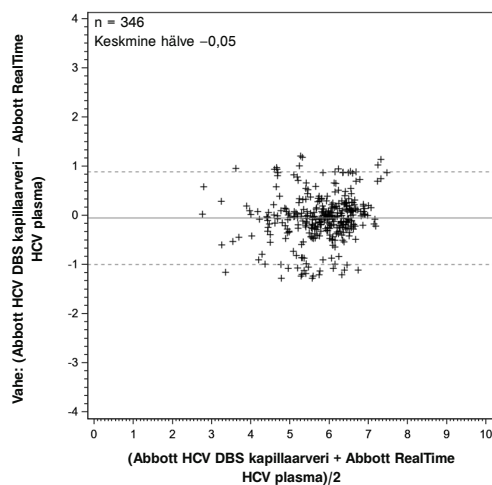
Tabel 3. DBS-i (kapillaarne või venoosne) ja plasma prognoositav erinevus LLOQ ja ULOQ juures

Võrdlus	Tase	Viiruskoormuse sihttase (log IU/mL)	Prognoositav erinevus (log IU/mL)
Kapillaarne vs plasma	LLOQ	2,66	0,24
	ULOQ	8,00	-0,26
Venosne DBS vs plasma	LLOQ	2,66	0,15
	ULOQ	8,00	-0,17

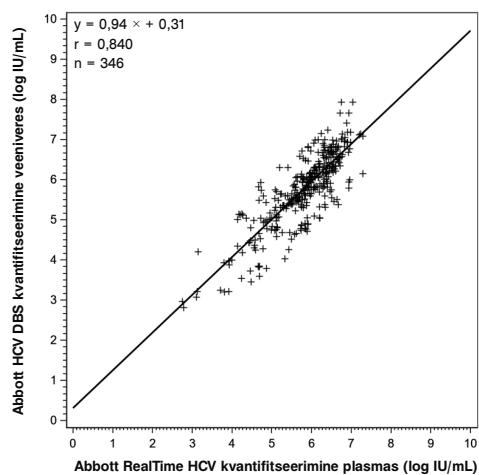
Joonis 2. Kapillaarne DBS ja plasma



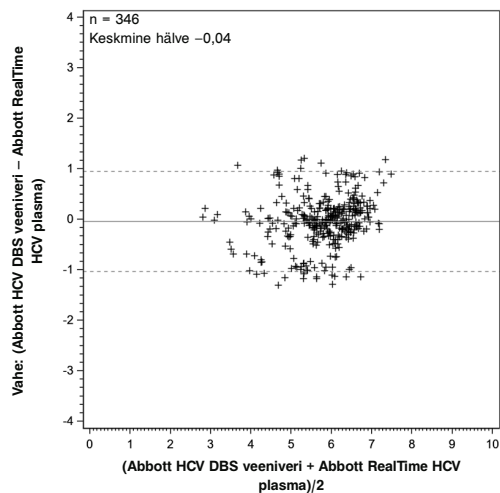
Joonis 5. Kapillaarne DBS vs plasma



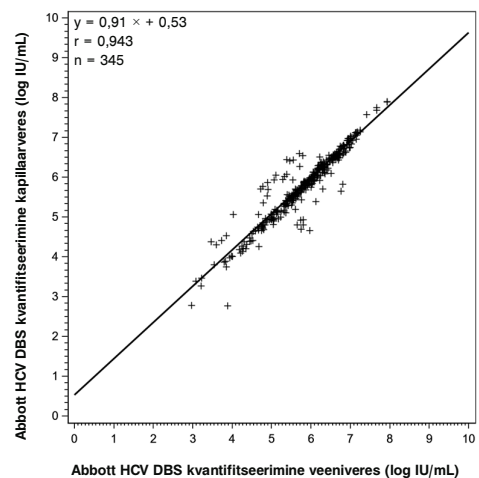
Joonis 3. Venoosne DBS ja plasma



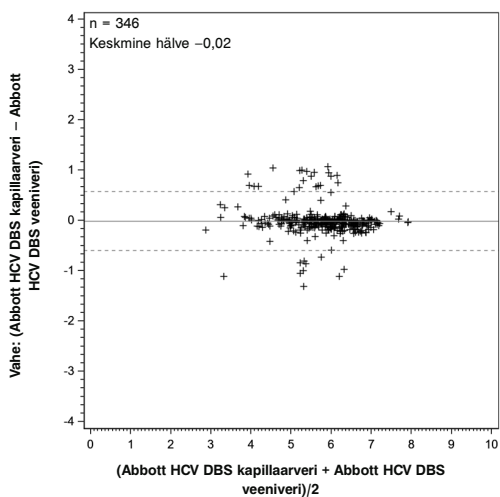
Joonis 6. Venoosne DBS vs plasma



Joonis 4. Kapillaarne DBS ja venoosne DBS



Joonis 7. Kapillaarne DBS vs venoosne DBS



VIITED

1. Gower E, Estes C, Blach S jt. C-virushepatiidi üldine epidemioloogia ka genotüüpide jaotus. *J Hepatol*. 2014; 61(1):S45-S57.
2. Maailma Tervishoiuorganisatsiooni uuendatud versioon aprill 2016: Juhised C-virushepatiidi isikute sõeluuringuks, hoolduseks ja raviks. <http://www.who.int/hepatitis/publications/hepatitis-c-guidelines-2016/en/>
3. AASLID/IDSA soovitusel C-virushepatiidi testimiseks, haldamiseks ja raviks, muudetud aprillis 2017. www.hcvguidelines.org
4. Euroopa Maksauuringute Assotsiatsioon. 2018. aasta soovitusel C-virushepatiidi raviks. *J. Hepatology* (2018).
5. Miller MH, Agarwal K, Austin A jt. Ülevaatlük artikkel: 2014. aasta Ühendkuningriigi konsensuslikud suunised – C-virushepatiidi ravi ja otsetoimeline viirusevastane ravi. *Aliment Pharmacol Ther*. 2014;39:1363-75.
6. Davis GL, Esteban-Mur R, Rustgi V jt. Interferoon alfa-2b üksi või ribaviiriiniga kombineerituna kroonilise C-virushepatiidi relapsi raviks. *N Engl J Med* 1998;339(21):1493-9.
7. Manns MP, McHutchison JG, Gordon SC jt. Peginterferoon alfa-2b pluss ribaviiriin võrrelduna interferoon alfa-2b pluss ribaviiriiniga kroonilise C-virushepatiidi esmaseks raviks: randomiseeritud uuring. *Lancet* 2001;358(9286):958-65.
8. Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR jt. Peginterferoon alfa-2a pluss ribaviiriin kroonilise C-virushepatiidi raviks. *N Engl J Med* 2002; 347(13):975-82.
9. Hadziyannis SJ, Sette H Jr., Morgan TR jt. Peginterferoon alfa-2a ja ribaviiriini kombineeritud ravi kroonilise C-virushepatiidi ravis: juhuvaliku põhine uuring ravi kestuse ja ribaviiriini annuse kohta. *Ann Intern Med* 2004; 140(5):346-55.
10. Orlent H, Deltenre P, Francque S jt Belgia maksauuringute assotsiatsiooni suuniste ajakohastamine kroonilise 1. genotüübi C-virushepatiidi raviks proteaasi inhibiitoritega. *Acta Gastro-Enterologica Belgica* 2012;LXXV:245-259.
11. Halfon P, Bourliere M, Penaranda G, Khiri H, and Ouzin D. C-hepatiidi viiruse (HCV) RNA amplifitseerimise reaalaajas PCR-analüüsid on piisavad kroonilise HCV infektsiooniga patsientide kliiniliseks raviks. *J. Clin Microbiology* 2006;44(7): 2507-2511.
12. Kowdley KV, Nelson DR, Lalezari JP jt. Ravi aegne HCV RNA kui püsiva viroloogilise ravivastuse ennustaja 3. genotüübi HCV-ga nakatunud patsientidel, keda raviti daklatasviiri ja sofosbuviriiga. *Liver Int* 2016 36(11):1611-8.
13. Yoshida EM, Sulkowski MS, Gane EJ jt. Püsiva viroloogilise ravivastuse ühildumine 4, 12, ja 24 nädalat pärast ravi sofosbuviri sisaldavate C-virushepatiidi ravimitega. *Hepatology* 2015 61(1):41-5.
14. WHO suunised B- C-virushepatiidi testimiseks. Genf: Maailma Tervishoiuorganisatsioon; 2017.
15. Saldanha J, Heath A jt. Maailma Tervishoiuorganisatsiooni koostööuuring, et luua WHO rahvusvaheline asendusstandard C-hepatiidi viiruse RNA nukleinhapete amplifikatsioonitehnoloogia jaoks. *Vox Sanguinis*; aprill 2005; 88 (3):202-204.

TEHNIINE TUGI

Kui vajate tehnilist tuge, helistage Abbott Molecular Technical Services numbril 1-800-553-7042 (USA piires) või +49-6122-580 (väljaspool USA-d) või külastage Abbott Moleculari kodulehte aadressil www.molecular.abbott/portal.

Abbott RealTime HCV-d impordib Euroopa Liitu Abbott Diagnostics GmbH, asukohaga Max-Planck- Ring 2, 65205 Wiesbaden, Saksamaa



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



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



© 2020 Abbott. Kõik õigused on kaitstud.

www.abbottmolecular.com

51-608440/R1

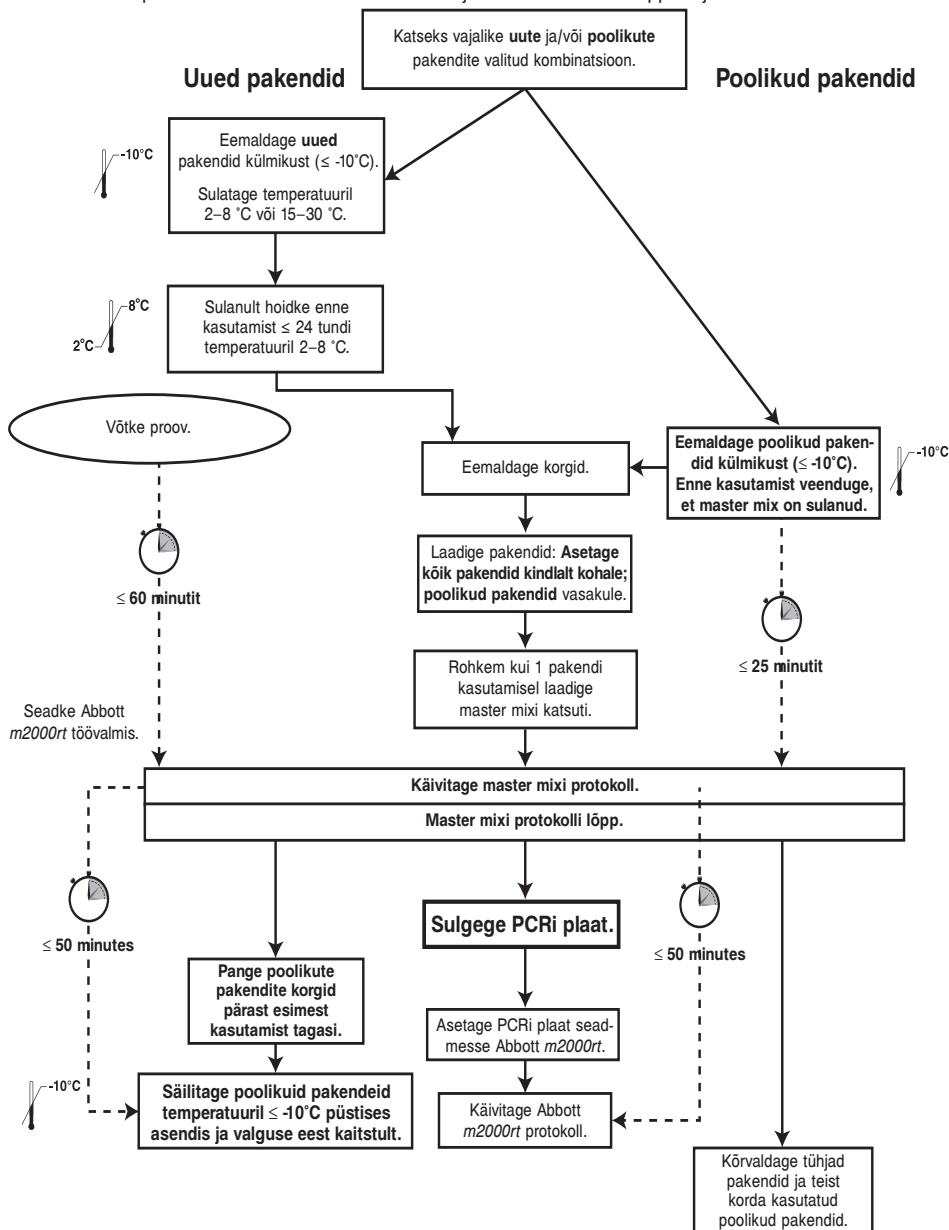
Juuli 2020

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 sisemise kontrollaine viaalid (Internal Control Vials))		
Paki tüüp	Säilitamistemperatuur	Säilitamisaeg
Uued pakid	-10 °C või külmem	Kuni sedelil toodud kuupäevani
Uus IC	-10 °C või külmem	Kuni sedelil toodud kuupäevani
Osalised 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 etapp 25 ja 32.



- Amplifikatsioonireaktiivi pakidel, mis sobivad pikemaks kasutamiseks, peab olema vöötkoodi kohal 6-kohaline seerianumber.
- Osalisi** amplifikatsioonireaktiivi pakke võib kasutada teist korda ainult algse kasutusega samal instrumendil. Nende kasutamisel muu instrumendiga võib tekkida tööstustõrge, mis võib käitust viivitada.
- Osalisi** ja **uusi** amplifikatsioonireaktiivi pakke võib kasutada koos. Kõigil instrumendiga analüüsimiseks kasutatavatel reaktiivpakidel peab olema sama partiinumber.

Abbott RealTime HCV

Додаток щодо методу сухої краплі крові (DBS)

uk

GTIN

REF

04J86-010

IVD

51-608440/R1

REF

04J86-010

51-608440/R1

Символи й позначення

GTIN

Глобальний ідентифікаційний номер товару

REF

Номер посилання

IVD

Медичний пристрій для діагностики in vitro



Максимальний дозволений час



Верхня межа температури



Обмеження температури

EC REP

Уповноважений представник в Європейській спільноті



Виробник

МІЖНАРОДНА СЛУЖБА ПІДТРИМКИ КЛІЄНТІВ: ЗАТЕЛЕФОНУЙТЕ СВОЄМУ ПРЕДСТАВНИКУ АБВОТТ

Перед використанням уважно прочитайте цю інформацію з медичного застосування. Дотримуйтеся наведених у ній інструкцій. У разі будь-якого порушення вказівок, наданих в інформації з медичного застосування, надійність результатів аналізу не гарантовано.

Ці інструкції із застосування доповнюють інформацію з медичного застосування для тесту Abbott RealTime HCV (номер за каталогом 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 технічної допомоги цих інструкцій.

НАЗВА

Abbott RealTime HCV

ПРИЗНАЧЕННЯ ДЛЯ DBS

Abbott RealTime HCV — це тест полімеразної ланцюгової реакції зі зворотною транскрипцією in vitro (RT-PCR) для кількісного аналізу на РНК вірусу гепатиту С (РНК HCV) цільної крові у вигляді сухих крапель на картках (dried blood spot, DBS), отриманої шляхом венопункції або у вигляді капілярної крові в осіб із вірусом гепатиту С (HCV). Тест Abbott RealTime HCV призначений для використання як доповнення до процедури лікування пацієнтів з HCV, що проходять антивірусну терапію. Тест Abbott RealTime HCV не призначений для перевірки донорів крові, плазми, сироватки або тканин на наявність HCV або для використання в діагностичних цілях для підтвердження зараження HCV.

ЦІЛЬОВИЙ КОРИСТУВАЧ

Цільовими користувачами тесту Abbott RealTime HCV є працівники лабораторій і медичні працівники.

ЗАГАЛЬНІ ВІДОМОСТІ ПРО ТЕСТ І ПОЯСНЕННЯ

Вірус гепатиту С (HCV) — одна з основних причин захворювання печінки. За оцінками, приблизно 1,1 % населення мають гепатит С у хронічній формі¹, і приблизно 700 000 людей вмирають кожного року від пов'язаних з гепатитом С захворювань печінки². HCV — 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 HCV, розвивається хронічний гепатит, з яких до 30 % отримують цироз¹. У пацієнтів із цирозом частота виникнення гепатоцелюлярної карциноми становить 2–4 % на рік¹.

Доведено, що кількісне вимірювання рівня РНК HCV в периферичній крові є важливим параметром у різних методах лікування HCV⁶⁻¹³. З поширенням протівірусних препаратів прямої дії лікування HCV стало суттєво ефективнішим. Ціллю протигепатитної терапії є досягнення стійкого вірусологічного відгуку (SVR) у вигляді стабільної відсутності слідів РНК HCV²⁻⁵. На основі вимірювань значень вірусного навантаження HCV підбирається індивідуальна тривалість лікування й метод терапії залежно від виразності відгуку або визначається й прогнозується стійкий чи нестійкий відгук на антивірусну терапію²⁻⁵. Більшість випадків захворювання HCV у світі припадає на країни з низьким і середнім рівнем доходу¹⁴. У цих регіонах, де існує значний дефіцит ресурсів, виявлення пацієнтів з активним зараженням HCV є дуже обмеженим. Як альтернативу сироватці або плазмі для тестування на РНК HCV можна використовувати цільну кров, зібрану у вигляді сухих крапель (DBS). Використання сухих крапель крові дозволяє прибрати багато логістичних і технічних обмежень, пов'язаних зі збиранням сироватки або плазми, їхнім обробленням, 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 HCV у регіонах з обмеженими ресурсами¹⁴. У тесті Abbott RealTime HCV для DBS з метою кількісного визначення РНК HCV у DBS використовується технологія полімеразної ланцюгової реакції зі зворотною транскрипцією (reverse transcription polymerase chain reaction, RT-PCR) у поєднанні з гомогеним флуоресцентним визначенням в реальному часі. Вибір консервативної ділянки геному HCV 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 тесту Abbott RealTime HCV для DBS необхідні 3 набори реагентів:

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

У тесті Abbott RealTime HCV для DBS використовується технологія RT-PCR для створення ампліфікованого продукту на базі геному РНК HCV у людських зразках DBS. Процедура використання тесту Abbott RealTime HCV для DBS складається з таких етапів: оброблення DBS перед аналізом, підготування зразка, збирання RT-PCR, ампліфікація, виявлення й звітування результатів. Оброблення DBS перед аналізом виконується з використанням комплексу Abbott mSample Preparation System DBS Buffer Kit перед завантаженням зразка в систему m2000sp. Після оброблення DBS перед аналізом усі наступні кроки виконуються автоматично системами m2000sp та m2000rt. Докладніші відомості щодо підготування зразка, збирання RT-PCR, ампліфікації та виявлення див. в інформації з медичного застосування для тесту Abbott RealTime HCV (номер за каталогом 4J86).

ПОДОВЖЕНЕ ВИКОРИСТАННЯ РЕАГЕНТУ АМПЛІФІКАЦІЇ

Завдяки опціональній можливості подовженого використання реагенту ампліфікації Amplification Reagent Packs та IC можна використовувати до двох разів. Набори Amplification Reagent Packs містять підготований master mix, що може зберігатися за температури -10°C або нижче (у закритому стані та із захистом від світла) до 14 днів до моменту повторного використання. Внутрішній контроль може зберігатися в закритому стані за температури -10°C або нижче до 14 днів до моменту повторного використання. У разі повторного використання необхідно дотримуватися терміну придатності реагенту.

Огляд цієї можливості наведено в додатку 1 до цих інструкцій із застосування.

У цих інструкціях із застосування Amplification Reagent Packs та IC, які ще не використовувалися, називатимуться новими (для першого використання) наборами й зразками. Набори Amplification Reagent Packs, які вже було використано та які містять підготований master mix, називатимуться частковими наборами реагенту ампліфікації. Флакони з внутрішніми контролями, що вже було використано один раз, називатимуться частковими флаконами з внутрішніми контролями.

ЗАПОБІГАННЯ ЗАБРУДНЕННЮ НУКЛЕІНОВОЮ КИСЛОТОЮ

Див. інформацію з медичного застосування для тесту Abbott RealTime HCV (номер за каталогом 4J86).

РЕАГЕНТИ

Див. інформацію з медичного застосування для тесту Abbott RealTime HCV (номер за каталогом 4J86).

ПОПЕРЕДЖЕННЯ Й ЗАПОБІЖНІ ЗАХОДИ

IVD

Для діагностичного використання *in vitro*

Тест Abbott RealTime HCV для DBS не призначений для перевірки донорів крові, плазми, сироватки або тканин на наявність HCV або для використання в діагностичних цілях для підтвердження зараження HCV.

ЗАХОДИ ТЕХНІКИ БЕЗПЕКИ

Див. інформацію з медичного застосування для тесту Abbott RealTime HCV (номер за каталогом 4J86). У тесті RealTime HCV для DBS використовуються лише системи *m2000sp* та *m2000rt*.

СПЕЦІАЛЬНІ ЗАПОБІЖНІ ЗАХОДИ

Запобіжні заходи щодо поводження зі зразками DBS

Тест Abbott RealTime HCV для DBS призначений для використання лише зі зразками цільної крові або DBS, для яких було виконано всі інструкції щодо поводження та зберігання, наведені в розділі **ЗБИРАННЯ, ЗБЕРІГАННЯ Й ТРАНСПОРТУВАННЯ ЗРАЗКІВ НА МІСЦЕ ТЕСТУВАННЯ**.

Див. інформацію з медичного застосування для тесту Abbott RealTime HCV (номер за каталогом 4J86).

Інструкції щодо поводження з 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 перехресного забруднення, 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 ділянки

Під час роботи із системами Abbott *m2000sp* та Abbott *m2000rt* рекомендовано використовувати лише дві спеціальні ділянки: зону підготування зразків і зону ампліфікації.

Див. інформацію з медичного застосування для тесту Abbott RealTime HCV (номер за каталогом 4J86).

Аерозольне забруднення

Див. інформацію з медичного застосування для тесту Abbott RealTime HCV (номер за каталогом 4J86).

Забруднення та інгібування

Див. інформацію з медичного застосування для тесту Abbott RealTime HCV (номер за каталогом 4J86).

Забруднення від зовнішнього ампліфікованого продукту, що містить Д-антигенні одиниці

Лабораторії, де використовуються або використовувалися методи аналізу з ампліфікацією HCV, що містять етап оброблення ампліфікованого продукту після полімеразної ланцюгової реакції, можуть бути забруднені таким продуктом, що містить Д-антигенні одиниці. Таке забруднення може вести до неточних результатів тестування Abbott RealTime HCV для DBS. Див. розділ **Контроль лабораторії на наявність забруднення** інформації з медичного застосування для тесту Abbott RealTime HCV (номер за каталогом 4J86). Коли негативні контрольні зразки є стабільно реактивними або ймовірне забруднення ампліфікованим продуктом, що містить Д-антигенні одиниці, рекомендовано скористатися в лабораторії процедурою контролю забруднення на базі урацил-N-глікозілази (UNG), якщо не вдалося провести її успішне очищення.

ІНСТРУКЦІЇ ЩОДО ЗБЕРІГАННЯ

Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit (номер за каталогом 4J86-90)



- Нові та часткові набори реагенту ампліфікації Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Packs та Internal Control, що не використовуються, мають зберігатися за температури -10°C або нижче. Необхідно ретельно забезпечити відсутність безпосереднього контакту між набором реагенту ампліфікації Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Pack, що використовується, та зразками, калібраторами й контролями.
- Часткові Amplification Reagent Packs та IC після першого використання мають зберігатися за температури -10°C або нижче в закритому вигляді, вертикально та із захистом від світла. У разі такого зберігання часткові Amplification Reagent Packs з підготованим master mix можна використовувати повторно протягом 14 днів після початкового використання. Внутрішній контроль можна використати повторно протягом 14 днів з моменту початкового розморожування у разі його зберігання в закритому вигляді за температури -10°C або нижче. Після двох використань часткові Amplification Reagent Packs та IC необхідно викидати. У разі повторного використання необхідно дотримуватися терміну придатності реагенту.

Abbott RealTime HCV Control Kit (номер за каталогом 4J86-80)



- Негативні й позитивні контролі Abbott RealTime HCV мають зберігатися за температури -10°C або нижче.

Abbott RealTime HCV Calibrator Kit (номер за каталогом 4J86-70)



- Калібратори Abbott RealTime HCV Calibrator A та Calibrator B мають зберігатися за температури -10°C або нижче.

УМОВИ ТРАНСПОРТУВАННЯ

Див. інформацію з медичного застосування для тесту Abbott RealTime HCV (номер за каталогом 4J86).

ОЗНАКИ НЕСТАБІЛЬНОСТІ АБО ПОГІРШЕННЯ РЕАГЕНТІВ

Див. інформацію з медичного застосування для тесту Abbott RealTime HCV (номер за каталогом 4J86).

ПРОЦЕДУРА ВИКОРИСТАННЯ ПРИЛАДІВ

Перед початком аналізу файл програми Abbott RealTime HCV для DBS має бути встановлений в системах Abbott *m2000sp* та Abbott *m2000rt* з компакт-диску Abbott RealTime HCV *m2000 ROW System Combined Application* (номер за каталогом 1L69-040 або вищий). Докладну інформацію щодо встановлення файлу програми див. в посібниках користувача систем Abbott *m2000sp* та Abbott *m2000rt* Operations Manuals (розділ інструкцій із використання).

ЗБИРАННЯ, ЗБЕРІГАННЯ Й ТРАНСПОРТУВАННЯ ЗРАЗКІВ НА МІСЦЕ ПРОВЕДЕННЯ ТЕСТУ

Збирання та зберігання зразків

- Для підготування DBS використовуйте кров, взятую з пальця, або цільну кров із пробірок ЕДТК. Зберігання й транспортування цільної крові в пробірках ЕДТК мають відбуватися за певних температурних умов (від 2 °C до 8 °C для періоду до 48 годин або температура оточуючого середовища до 30 °C для періоду 24 години).
- Перед створенням краплі цільну кров у пробірках ЕДТК необхідно перемішати в пробірці обережним перегортанням. Створіть краплі крові у вигляді 12-міліметрових кіл на паперову картку Ahlstrom-Munkell TFN або Whatman 903 (коло має бути цільним). Щоб створити цільне коло, рекомендовано нанести щонайменше 70 µL крові (від 3 до 5 крапель).
- Висушуйте 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 **Збирання й зберігання зразків** вище. Для внутрішнього й міжнародного транспортування зразки мають бути упаковані й промарковані відповідно до застосованих регіональних, національних і міжнародних норм і правил щодо транспортування клінічних, діагностичних та біологічних зразків.

ПРОЦЕДУРА АНАЛІЗУ ABBOTT REALTIME HCV З ВИКОРИСТАННЯМ DBS

Потрібні, але не надані матеріали

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

Для зони підготування зразків для системи Abbott m2000sp

- Abbott mSample Preparation System DBS Buffer Kit (номер за каталогом 09N02-001)
- Abbott m2000sp (номер за каталогом 9K14-01, 9K14-02)
- Abbott mSample Preparation System (4 × 24 препарати) (номер за каталогом 04J70-24)
- Відкалібровані прецизійні піпетки, що видають від 20 до 1000 µL рідини (у разі застосування UNG можна використовувати відкалібровані прецизійні піпетки, що видають <20 µL рідини)
- Наконечники з аерозольним бар'єром для піпеток на 20–1000 µL (у разі використання UNG можуть бути необхідні наконечники з аерозольним бар'єром для піпеток, що видають <20 µL рідини)
- Вортекс-міксер
- Master Mix Tube (номер за каталогом 04J71-80)
- Abbott 96-Deep-Well Plate (номер за каталогом 04J71-30)
- 5 mL Reaction Vessels (номер за каталогом 04J71-20)
- 200 mL Reagent Vessels (номер за каталогом 04J71-60)
- Abbott 96-Well Optical Reaction Plate (номер за каталогом 04J71-70)
- Abbott Optical Adhesive Covers (номер за каталогом 04J71-75)
- Abbott Adhesive Cover Applicators (номер за каталогом 9K32-01)
- Abbott Splash-Free Support Base (номер за каталогом 9K31-01)

- Abbott RealTime HCV m2000 ROW System Combined Application CD-ROM (номер за каталогом 1L69-040 або вище)
- m2000 System 13mm DBS-PoST Set (номер за каталогом 09N03-001)
- 1.4 mL Micro Vial 15mm Caps (номер за каталогом 3N20-01) (необов'язково)
- Uracil N-Glycosylase (UNG)^a (номер за каталогом 6L87-02)

^a За потреби згідно з розділом **Забруднення від зовнішнього ампліфікованого продукту, що містить Д-антигенні одиниці** цих інструкцій із застосування.

Для зони ампліфікації системи Abbott m2000rt

- Abbott m2000rt instrument (номер за каталогом 9K15-01)
- Abbott RealTime HCV m2000 ROW System Combined Application CD-ROM (номер за каталогом 1L69-040 або вище)
- Abbott m2000rt Optical Calibration Kit (номер за каталогом 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-Munkell TFN та/або Whatman 903
- Герметичний пластиковий пакет для утилізації 96-лункової реакційної плашки
- Вода без PHK (Eppendorf або еквівалент)^b
- Мікроцентрифужні пробірки на 1,7 mL для мікробіологічного застосування (Dot Scientific, Inc. або еквівалентні)^b
- Ватні палички (Puritan або еквівалентні)^b

^b Примітка. Ці три компоненти використовуються в процедурі контролю лабораторії на наявність забруднень. Див. розділ **«ПРОЦЕДУРИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ» інформації з медичного застосування тесту Abbott RealTime HCV** (номер за каталогом 4J86).

Заповіжні заходи під час виконання процедур

- Перш ніж починати роботу зі зразками, уважно прочитайте ці інструкції із застосування.
- Реагенти ампліфікації та внутрішні контролю можна використовувати до двох разів, як описано в цих інструкціях із застосування. Abbott RealTime HCV Calibrators, Negative Control, Low Positive Control та High Positive Control призначені лише для одноразового використання, після чого мають утилізуватися.
- Наконечники для піпеток з аерозольним бар'єром або одноразові піпетки призначені лише для одноразового використання для відбирання зразків або внутрішніх контролів. Щоб уникнути забруднення циліндра піпетки під час відбирання зразка, не торкайтеся ним внутрішньої поверхні пробірки чи контейнера зі зразком. Рекомендовано користуватися подовженими наконечниками для піпеток з аерозольним бар'єром.
- Процедури контролю наявності ампліфікованого продукту наведено в розділі **ПРОЦЕДУРИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ**.
- Щоб знизити ризик забруднення нуклеїновою кислотою, очищуйте та дезінфікуйте місця пролиття зразків з використанням туберкулоцидних дезінфектантів, як-от 1,0-відсоткового гіпохлориту натрію або іншого належного дезінфектанта.
- Abbott RealTime HCV Calibrators та Controls мають готуватися разом зі зразками, що призначені для тестування. Використання Abbott RealTime HCV Controls та Calibrators є невід'ємною частиною процесу аналізу з використанням тесту Abbott RealTime HCV. Див. розділ **ПРОЦЕДУРИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ**.
- Протягом 1 години після підготування зразків має бути запущена процедура додавання Abbott m2000sp Master Mix Addition.
- У разі переривання процедури додавання Abbott m2000sp Master Mix Addition утилізуйте реагенти ампліфікації, що використовуються вразі. Нові набори реагентів можна зберегти для повторного використання, як описано в цьому посібнику.
- Протягом 50 хвилин з моменту запуску процедури додавання Master Mix Addition має бути запущена процедура m2000rt. Якщо систему Abbott m2000rt не запущено протягом 50 хвилин, її роботу перервано або скасовано, запакуйте 96-лункову реакційну плашку Abbott 96-Well Optical Reaction Plate в герметичний пластиковий пакет та утилізуйте її відповідно до інструкцій в посібнику користувача Abbott m2000rt Operations Manual разом з рукавичками, які використовувалися для роботи з плашкою.

ВАЖЛИВО! Реагенти ампліфікації, що використовуватимуться вдруге, мають бути поміщені на зберігання за температури –10 °C або нижче протягом 50 хвилин після початку процедури додання Master Mix Addition.

ПРОЦЕДУРА АНАЛІЗУ: ЗРАЗКИ DBS З ВИКОРИСТАННЯМ СИСТЕМ *m2000sp* ТА ABBOTT *m2000rt*

Докладний опис процедури користування системами Abbott *m2000sp* та Abbott *m2000rt* див. в посібниках користувачів Abbott *m2000sp* та Abbott *m2000rt* Operations Manual (розділ інструкцій з використання). Для процедури роботи з DBS необхідне програмне забезпечення Abbott *m2000sp* Software Version 6.0 або вище. Дотримуйтеся вказівок у посібнику користувача Abbott *m2000sp* Operations Manual (номер за каталогом 09K20, версія 6 або вища).

За одну процедуру можна обробити всього до 96 зразків. Під час кожної процедури використовуються негативний, низькопозитивний і високопозитивний контрольні зразки (контролі); це означає, що за одну процедуру можна обробити до 93 зразків DBS (коли не використовуються калібратори). Калібратори й контролі обробляються як зразки рідини; етапи 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 оброблення зразка має використовуватися одна пробірка Abbott Master Mix Tube. Простежте за маркуванням зразків DBS під час оброблення.

- Залийте в пробірку Abbott Master Mix Tube 1,3 mL буфера *mDBS* з Abbott *mSample Preparation System DBS Buffer Kit* (номер за каталогом 09N02-001).

ПРИМІТКА. На цьому етапі не використовуйте лізисний буфер *mLysis Buffer* або інші реагенти.

- Тримайте перфоровану паперову DBS-картку над пробіркою Abbott Master Mix Tube.
- Видавіть коло DBS з картки чистим наконечником піпетки (по одному колу DBS на кожну пробірку Master Mix Tube). Кожна крапля DBS має бути приблизно 12 мм у діаметрі.

ПРИМІТКА. ДЛЯ КОЖНОГО ЗРАЗКА DBS ВИКОРИСТОВУЙТЕ НОВИЙ НАКОНЕЧНИК ПІПЕТКИ, ЩОБ УНИКНУТИ ПЕРЕХРЕСНОГО ЗАБРУДНЕННЯ.

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 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.

- 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.

- Вручну потрясіть 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.
- Протягом цього часу розморозьте тестові та внутрішні контролі за температури 15–30 °C або 2–8 °C. Розморозьте калібратори за температури 15–30 °C або 2–8 °C, лише якщо ви використовуєте їх у процедурі.

ПРИМІТКА. Після розморожування тестові контролі, внутрішні контролі й калібратори можна зберігати перед використанням за температури від 2 °C до 8 °C протягом 24 годин.

- 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 постукайте по флаконам на стенді, 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).

- Розморозьте реагенти ампліфікації за температури 15–30 °C або 2–8 °C і зберігайте їх за температури 2–8 °C, доки вони не знадобляться для процедури ампліфікації з використанням master mix.
- Виберіть нові та/або часткові Amplification Reagent Packs, що будуть використовувати в процедурі. Інструкції щодо поводження із запасом Amplification Reagent Packs див. в посібнику користувача Abbott *m2000sp* Operations Manual (номер за каталогом 09K20, версія 6 або вища), розділ інструкцій з використання. В Amplification Reagent Packs має бути однаковий номер партії. Розморозьте нові реагенти ампліфікації за температури 15–30 °C або 2–8 °C і зберігайте їх за температури 2–8 °C, доки вони не знадобляться для процедури ампліфікації з використанням master mix.

ПРИМІТКА. Після розморожування нові реагенти ампліфікації можуть зберігатися за температури від 2 °C до 8 °C протягом 24 годин, якщо ви не використовуєте їх негайно. Часткові Amplification Reagent Packs 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 додання master mix. Загальний час перебування за кімнатної температури після витягнення з морозильника не має перевищувати 25 хвилин, включаючи ситуації, коли набори виймаються з морозильника, але не використовуються. Якщо термін у 25 хвилин перевищено, часткові Amplification Reagent Packs слід викинути.

У таблиці нижче показано потрібну кількість реагентів для підготування зразків і флаконів із внутрішнім контролем залежно від кількості реакцій.

Вимоги до реагентів для підготування 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
Мікрочастки <i>mMicroparticles</i>	1 пляшка	2 пляшки	2 пляшки	2 пляшки
Лізис <i>mLysis</i>	1 пляшка	2 пляшки	3 пляшки	4 пляшки
Промивання <i>mWash 1</i>	1 пляшка	2 пляшки	3 пляшки	4 пляшки
Промивання <i>mWash 2</i>	1 пляшка	2 пляшки	3 пляшки	4 пляшки
Буфер <i>mElution Buffer</i>	1 пляшка	2 пляшки	3 пляшки	4 пляшки
Внутрішній контроль ^a	1 новий флакон або 1 частковий флакон	1 новий флакон або 2 часткових флакони	2 нових флакони або 3 часткових флакони	2 нових флакони або 4 часткових флакони

^a Можна скористатися комбінацією нових і часткових флаконів із внутрішнім контролем.

- Обережно перегорніть пляшки для підготування зразків Abbott *mSample Preparation*, щоб створити однорідний розчин. Якщо після відкриття в будь-якій пляшці з реагентом є кристали, залиште реагент за кімнатної температури, доки кристали не зникнуть. Не використовуйте реагент, доки кристали в ньому не розчиняться.
- Перемішайте кожен внутрішній контроль три рази по 2–3 секунди за допомогою вортекс-міксера перед використанням.
- За допомогою відкаліброваної прецизійної піпетки **СПЕЦІАЛЬНО ДЛЯ ВНУТРІШНЬОГО КОНТРОЛЮ** додайте 500 μ L внутрішнього контролю до кожної пляшки з буфером *mLysis Buffer*. Перемішайте розчин, обережно перегорнувши контейнер 5–10 разів, намагаючись уникнути утворення піни. Часткові флакони з внутрішнім контролем можна закрити й помістити на зберігання за температури –10 °C або нижче для повторного використання.
- Установіть низько- й високопозитивні контролі, негативний контроль і калібратори (якщо вони застосовуються) у штативи для зразків Abbott *m2000sp*.
- 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 HCV для DBS.

- Завантажуйте штативи для зразків обережно, що уникнути пролиття. За наявності штрих-кодів на наліпках пробірок вони мають бути розташовані справа для простішого сканування. Надійно встановіть кожну пробірку в штатив, щоб її нижня частина спиралася на дно штатива.
- Послідовно завантажте заповнені штативи для зразків в систему Abbott *m2000sp* у відповідні місця: перший штатив має бути розташований з правого краю від робочого столу, наступні встановлюються послідовно ліворуч від першого.
- Установіть реакційні посудини 5 mL Reaction Vessels в носій підсистеми Abbott *m2000sp* на 1 mL.
- Установіть реагенти системи Abbott *mSample Preparation System* та пласку Abbott 96 Deep-Well Plate на робочий стіл Abbott *m2000sp*, як описано в посібнику користувача Abbott *m2000sp* Operations Manual (розділ інструкцій з використання).
- На екрані Protocol (Процедура) виберіть файл програми HCV RNA DBS. Запустіть процедуру витягнення зразка, як описано в посібнику користувача Abbott *m2000sp* Operations Manual (розділ інструкцій з використання).
- Введіть значення для партій калібровача (потрібно, якщо графік значень калібровача не збережено в системі Abbott *m2000rt*) і контролю в поля Calibrator (Калібровач) і Control (Контроль) у розділі Sample Extraction: Worktable Setup (Витягнення зразка: конфігурація робочого столу). Значення для конкретної партії вказано в кожній картці комплексу калібровачів і контролів Abbott RealTime HCV Calibrator та Control Kit Card.
- Протягом 1 години після завершення процедури підготування зразків має бути запущена процедура додавання Abbott *m2000sp* Master Mix Addition (етап 28).

ПРИМІТКА. Перед початком роботи з реагентами ампліфікації змініть рукавички.

- Після завершення процедури підготування зразків установіть реагенти ампліфікації та Master Mix Tube (якщо потрібно) на робочий стіл Abbott *m2000sp*. У таблиці нижче показано потрібну кількість Amplification Reagent Packs залежно від кількості реакцій. Якщо використовується лише один Amplification Reagent Pack, Master Mix Tube не потрібна.

Вимоги до кількості Amplification Reagent Pack

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 часткових наборів	2 нових або до 4 часткових наборів	3 нових або до 4 часткових наборів	4 нових або часткових наборів

^a Інструкції щодо керування запасом наборів для визначення кількості реакцій, які можна протестувати з використанням часткових наборів, див. в посібнику користувача Abbott *m2000sp* Operations Manual (номер за каталогом 09K20, версія 6 або вища).

- Часткові Amplification Reagent Packs можна використовувати лише з тією ж самою системою Abbott *m2000sp*, що застосовувалася для початкового підготування цього набору. Повторне використання Amplification Reagent Pack з іншою системою призведе до помилки, що може затримати виконання процедури.
- Часткові й нові Amplification Reagent Packs можна використовувати в комбінації.

ВАЖЛИВО! Часткові Amplification Reagent Packs мають зберігатися за температури -10°C або нижче безпосередньо до їхнього повторного використання. Перш ніж встановлювати часткові набори на робочий стіл Abbott *m2000sp*, переконайтеся, що master mix розморожений. Після виймання з морозильника, де вони зберігалися за температури -10°C або нижче, часткові Amplification Reagent Packs мають бути використані вдруге протягом 25 хвилин. Це загальний термін перебування за кімнатної температури, включаючи ситуації, коли набір виймається з морозильника, але не використовується.

- Вміст нових Amplification Reagent Packs має бути на дні флакона: для цього перед відкриттям постукайте 5–10 разів по флакону, встановленому на стенді вертикально.

- Не стукайте по частковим Amplification Reagent Packs перед їхнім використанням удруге. Це може призвести до втрати об'єму master mix в кришці.

- Зніміть кришки. Перед зберіганням нового Amplification Reagent Pack для використання вдруге кришку слід встановити на місце. Якщо ви плануєте закривати флакони оригінальними кришками, збережіть їх. Якщо ви закриватимете флакони з реагентами новими кришками, старі можна викинути.

Якщо для боротьби із забрудненням використовуватиметься урацил-N-глікозілаза (UNG), дотримуйтеся інструкцій нижче.

- За допомогою ПІПЕТКИ, ПРИЗНАЧЕНОЇ СПЕЦІАЛЬНО ДЛЯ РОБОТИ З РЕАГЕНТОМ, додайте UNG (номер за каталогом 6L87-02) зазначеним об'ємом 1 U/μL у флакон з реагентом у позиції 3 нового або часткового Amplification Reagent Pack. Вручну перемішайте розчин, обережно працюючи піпеткою вгору й вниз в усіх часткових 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 часткового Amplification Reagent Pack. Флакон з реагентом у позиції 3 нового набору реагенту містить термостійкий фермент полімерази rTth. Флакон з реагентом у позиції 3 часткового набору реагенту містить master mix.

Об'єм UNG, який слід додавати до флакона з реагентом у позиції 3 кожного Amplification Reagent Pack

Кількість 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 реагенту, а не від кількості зразків, для яких проводиться процедура. Інструкції щодо керування запасом Amplification Reagent Packs та визначення кількості тестів, що залишаються в наборі, див. в посібнику користувача Abbott *m2000sp* Operations Manual.

26. Часткові Amplification Reagent Packs встановлюються на робочий стіл Abbott *m2000sp* ліворуч від нових наборів.
27. Набори Amplification Reagent Packs мають бути надійно встановлені в системі.
28. Виберіть належну пляшку з лунками для процедури підготування зразків. Запустіть процедуру додання Abbott *m2000sp* Master Mix Addition. Дотримуйтеся інструкцій в посібнику користувача Abbott *m2000sp* Operations Manual (розділ інструкцій з використання).

ПРИМІТКА. Оператор не повинен вручну заповнювати порожні/незаповнені лунки на пляшці Abbott 96-Well Optical Reaction Plate.

- Коли взяття зразків буде завершено, система Abbott *m2000sp* автоматично заповнить порожні лунки на пляшці Abbott 96-Well Optical Reaction Plate буфером *mElution* (якщо у процедурі бере участь понад 48 зразків). Якщо в процедурі використовується 48 або менше зразків, заповнення пляшки не відбувається.
- За наявності відповідних інструкцій від системи носіїв для реагенту Reagent Carrier 2 має залишатися на місці [у ньому має бути принаймні Reagent Vessel для буфера *mElution* Buffer (носій для реагенту Reagent Carrier 2, позиція 6)]. Якщо цей Reagent Vessel було витягнуто, установіть у позицію 6 носія для реагенту 2 новий Reagent Vessel з наліпкою буфера *mElution* Buffer. У посуд для реагенту буде залито системну рідину, яка потім заповнить порожні лунки. Після завершення цієї процедури система продовжить додання master mix.

ПРИМІТКА. Інструкції до системи з використання функції автоматичного заповнення пляшки наведено в посібнику користувача Abbott *m2000sp* Operations Manual (номер за каталогом 09K20, версія 6 або вища), розділ 5 «Інструкції з використання —взяття зразків: закритий режим».

- Протягом 50 хвилин після запуску процедури додання Master Mix Addition (етап 28) має бути запущено процедуру Abbott *m2000rt* (етап 33).

ПРИМІТКА. Якщо процедуру було перервано з будь-якої причини після етапу 28, для повторного виконання процедури додання Abbott *m2000sp* Master Mix Addition (етап 28) необхідно використати нову пляшку 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 підготування зразків одягніть рукавички.
30. Коли системи Abbott *m2000sp* завершить додання зразків і master mix відповідно до посібника користувача Abbott *m2000sp* Operations Manual (розділ інструкцій з використання), закрийте пляшку Abbott 96-Well Optical Reaction Plate.
31. Установіть закриту оптичну реакційну пляшку на підставку Abbott Splash-Free Support Base для її перенесення в систему Abbott *m2000rt*.

Якщо використовуватиметься урацил-N-глікозілаза (UNG), дотримуйтеся інструкцій нижче.

32. Установіть закриту оптичну реакційну пляшку на підставку Abbott Splash-Free Support Base і проводьте інкубацію за кімнатної температури (15–30 °C) протягом 10 хвилин. Після інкубації за кімнатної температури перенесіть пляшку Abbott 96-Well Optical Reaction Plate на підставці Abbott Splash-Free Support Base в систему Abbott *m2000rt*.
33. Установіть пляшку 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 посібнику користувача Abbott *m2000rt* Operations Manual (розділ інструкцій з використання).

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 PCR відповідно до таблиці Wells for Selected Plate (Лунки для вибраної пляшки) на екрані з докладними відомостями PCR Plate Results (Результати для пляшки PCR) в системі Abbott *m2000sp*.

Див. розділ 5 посібника користувача Abbott *m2000sp* Operations Manual.

34. Якщо ви використовуватимете вдруге підготований частковий Amplification Reagent Pack, закрийте 3 флакони з реагентом збереженими або новими кришками (номер за каталогом 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 Amplification Reagent Packs.

ВАЖЛИВО! Реагенти ампліфікації, що використовуватимуться вдруге, мають бути поміщені на зберігання за температури –10 °C або нижче протягом 50 хвилин після початку процедури додання Master Mix Addition.

ПРОЦЕДУРИ ПІСЛЯ ОБРОБЛЕННЯ

1. Зніміть пляшку Abbott 96 Deep-Well Plate з робочого столу та утилізуйте її відповідно до інструкцій у посібнику користувача Abbott *m2000sp* Operations Manual.
2. Покладіть пляшку Abbott 96-Well Optical Reaction Plate в герметичний пластиковий пакет та утилізуйте її відповідно до інструкцій у посібнику користувача Abbott *m2000rt* Operations Manual разом з рукавичками, що використовувалися для роботи з нею.
3. Очистіть підставку Abbott Splash-Free Support Base перед наступним використанням відповідно до інструкцій у посібнику користувача Abbott *m2000rt*.

ПРОЦЕДУРИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ

Оптичне калібрування системи Abbott *m2000rt*

Див. інформацію з медичного застосування для тесту Abbott RealTime HCV (номер за каталогом 4J86).

Калібрування тесту

Див. інформацію з медичного застосування для тесту Abbott RealTime HCV (номер за каталогом 4J86).

Для процедури DBS з використанням систем *m2000sp* та *m2000rt*: прийняті та збережені параметри калібрування 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 реагенту ампліфікації Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit з новим номером партії;
- використання системи Abbott *mSample* Preparation System (4 × 24 препарати) з новим номером партії;
- установлення нового файлу програми Abbott RealTime HCV RNA DBS.

Виявлення інгібування

Див. інформацію з медичного застосування для тесту Abbott RealTime HCV (номер за каталогом 4J86).

Негативні й позитивні контролю

Див. інформацію з медичного застосування для тесту Abbott RealTime HCV (номер за каталогом 4J86).

Контроль лабораторії на наявність забруднення

Див. інформацію з медичного застосування для тесту Abbott RealTime HCV (номер за каталогом 4J86).

РЕЗУЛЬТАТИ ДЛЯ ЗРАЗКІВ DBS

Отримане за допомогою процедури *m2000rt* DBS результуюче значення концентрації для зразка DBS визначає концентрацію вірусу HCV 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 (лог. IU/mL).

Інтерпретація результатів

Результат	Інтерпретація
Не виявлено	Ціль не виявлена
<2,66 лог. IU/mL ^a	Виявлено
Від 2,66 до 8,00 лог. IU/mL	
>8,00 лог. IU/mL	>ULOQ ^b

^a 462 IU/mL

^b ULOQ = верхня межа кількісного визначення

ОБМЕЖЕННЯ ПРОЦЕДУРИ

- **ДЛЯ ДІАГНОСТИЧНОГО ВИКОРИСТАННЯ IN VITRO**
- Для найефективнішого використання цього тесту має бути забезпечено належне збирання, зберігання й транспортування зразків на місце проведення аналізу (див. розділ **ЗБИРАННЯ, ЗБЕРІГАННЯ Й ТРАНСПОРТУВАННЯ ЗРАЗКІВ НА МІСЦЕ ПРОВЕДЕННЯ ТЕСТУ** цієї інформації з медичного застосування).
- Для створення зразків DBS, що аналізуватимуться за допомогою тесту Abbott RealTime HCV для DBS, можна використовувати зразки цільної крові, зібрані в ЕДТК-пробірки. Використання інших антикоагулянтів з тестом Abbott RealTime HCV для DBS не перевірялося.
- Використовувати тест Abbott RealTime HCV для DBS мають лише спеціалісти, що пройшли навчання з процедур підготовки та попереднього оброблення зразків DBS, а також з роботи з діагностичними тестами й системою Abbott m2000.
- Процедури належного використання інструментів і тестів знижують ризик забруднення ампліфікованим продуктом. У той же час необхідно забезпечити контроль забруднення нуклеїнової кислотою від калібраторів, позитивних контролів і зразків за допомогою належних лабораторних методів, а також шляхом суворого дотримання процедур, наведених в цій інформації з медичного застосування.
- Як і для будь-якого діагностичного тесту, результати тесту 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 HCV.
- Порушення процедур збирання зразків, сушіння, 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 тестом Abbott RealTime HCV не перевірялося.

ХАРАКТЕРИСТИКИ DBS-ЗРАЗКІВ

Ліміт виявлення (limit of detection, LOD)

Значення LOD для тесту Abbott RealTime HCV для зразків DBS становить 462 IU/mL. Значення LOD було визначено шляхом тестування зразків DBS, підготованих з розчину РНК вірусу гепатиту С відповідно до міжнародного стандарту BOO3 в HCV-негативній цільній крові. Перевірка кожного зразка на концентрацію РНК HCV проводилася з використанням 4 партій реагенту ампліфікації протягом 3 днів. Результати, що представляють аналітичні характеристики чутливості тесту Abbott RealTime HCV для DBS, наведено в **таблиці 1**.

Таблиця 1. Ліміт виявлення (LOD) тесту Abbott RealTime HCV для DBS

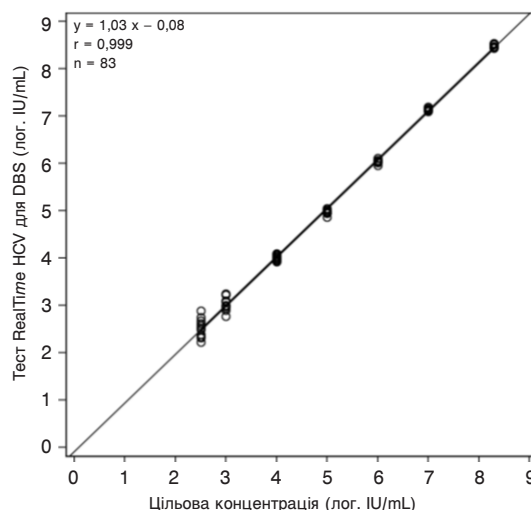
РНК (IU/mL)	HCV	Кількість тестів	Кількість виявлень	Відсоток виявлень
500		84	83	99
400		84	80	95
350		84	75	89
300		84	73	87
150		84	54	64
50		84	26	31

Пробіт-аналіз даних визначив, що концентрація РНК HCV, визначена з використанням сухих крапель крові, з ймовірністю 95 % становила 462 IU/mL (95 % CI, від 381 до 593 IU/mL).

Лінійний діапазон

Верхній ліміт кількісного визначення (ULOQ) для тесту Abbott RealTime HCV становить 100 мільйонів IU/mL; нижній ліміт є еквівалентним значенню LOD (462 IU/mL) для зразка DBS. На основі захищеної РНК HCV, розчиненої з концентрацією від 200 мільйонів IU/mL до 316 IU/mL у HCV-негативній цільній крові, було створено 7-елементну панель зразків DBS. Результати, що представляють лінійний розподіл для тесту Abbott RealTime HCV для DBS, наведено на **рис. 1**.

Рис. 1. Лінійність результатів тесту Abbott RealTime HCV для DBS



Результати тесту Abbott RealTime HCV для DBS є лінійними в діапазоні перевірених значень концентрації РНК HCV (від 316 до 200 мільйонів IU/mL, від 2,5 до 8,3 лог. IU/mL).

Специфічність

Цільова специфічність тесту Abbott RealTime HCV для DBS є не меншою за 99,5 %. Специфічність була визначена шляхом аналізу 119 серонегативних зразків HCV з використанням 2 партій реагенту ампліфікації. Загальна специфічність склала 100 % (119/119).

Точність

Точність була визначена шляхом тестування 6-елементної панелі DBS, що охоплювала діапазон значень концентрації РНК HCV від 316 IU/mL до 200 мільйонів IU/mL. Елементи панелі з концентрацією, нижчою за 5 лог. IU/mL (100 000 IU/mL), були підготовані з використанням HCV-позитивних клінічних зразків, розчинених у HCV-негативній цільній крові; елементи панелі з концентрацією, вищою за 5 лог. IU/mL (100 000 IU/mL), були підготовані з використанням захищеної РНК HCV, розчиненої в HCV-негативній цільній крові. Кожен елемент панелі перевірявся в 5 зразках один раз на день протягом 5 днів на 3 парах m2000sp/rt з використанням 3 партій реагенту ампліфікації. Було визначено стандартне відхилення у межах процедури, між процедурами та між тестами (у межах процедури та між процедурами) Тест Abbott RealTime HCV для DBS має забезпечувати стандартне відхилення між тестами не вище за 0,25 лог. IU/mL РНК HCV для зразків із концентрацією HCV від 10 000 до 100 мільйонів IU/mL. Результати, що представляють точність тесту Abbott RealTime HCV для DBS, наведено в **таблиці 2**.

Таблиця 2. Точність тесту Abbott RealTime HCV для DBS

Елемент панелі	N	Середня концентрація (IU/mL)	Середня концентрація (лог. IU/mL)	Стандартне відхилення у межах однієї процедури ^{a,e}	Стандартне відхилення між процедурами ^a	Стандартне відхилення між тестами ^{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	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 Стандартне відхилення вказано в лог. IU/mL.

^b Значення між тестами містить компоненти відхилення у межах однієї процедури та між процедурами.

^c Загальне значення містить компоненти відхилення у межах однієї процедури, між процедурами та між партіями/системами.

^d Середня концентрація елемента панелі 1 нижча за LOD. Оцінка точності зроблена на основі зразків, для яких було проведено кількісне визначення.

^e Стандартне відхилення у межах однієї процедури також зветься повторюваністю. Загальне значення стандартного відхилення також зветься відтворюваністю.

Повторюваність і відтворюваність для елемента панелі 1 (біля LLOQ) склали відповідно 0,26 лог. IU/mL і 0,27 лог. IU/mL, для елемента панелі 2 (біля LLOQ) — відповідно 0,23 лог. IU/mL і 0,25 лог. IU/mL. Повторюваність і відтворюваність для елемента панелі 5 (біля ULQ) склали відповідно 0,12 лог. IU/mL і 0,14 лог. IU/mL, для елемента панелі 6 (біля ULQ) — відповідно 0,04 лог. IU/mL і 0,07 лог. IU/mL.

Кореляція

Було порівняно кількісні значення концентрації PHK HCV, отримані за допомогою тесту Abbott RealTime HCV з використанням сухих крапель крові й за допомогою CE-сертифікованого еталонного тесту Abbott RealTime HCV з використанням плазми крові людини. В аналіз було включено зразки плазми й DBS 346 суб'єктів (зібраних і протестованих у Грузії, Камеруні та Греції). За допомогою тесту Abbott RealTime HCV для DBS було перевірено зразки DBS, підготовані 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: N = 346, венозна кров DBS у порівнянні з плазмою: N = 346, капілярна кров DBS у порівнянні з венозною кров'ю DBS: N = 345). Коефіцієнт кореляції для капілярної крові DBS і плазми склав 0,843, нахил склав 0,91 (95 % CI, від 0,85 до 0,97), відрізок відтину — 0,48 лог. IU/mL (95 % CI, від 0,12 до 0,84) (**рис. 2**). Коефіцієнт кореляції для венозної крові DBS і плазми склав 0,840, нахил склав 0,94 (95 % CI, від 0,88 до 1,00), відрізок відтину — 0,31 лог. IU/mL (95 % CI, 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 % CI, від 0,87 до 0,94), відрізок відтину — 0,53 лог. IU/mL (95 % CI, 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 лог. IU/mL. Середня різниця для венозної крові DBS і плазми склала — 0,04 лог. IU/mL. Середня різниця для капілярної і венозної крові DBS склала -0,02 лог. IU/mL. Прогнозована різниця для капілярної крові DBS та плазми була оцінена на цільових рівнях LLOQ та ULOQ. Крім того, прогнозована різниця для венозної та капілярної крові DBS була оцінена на цільових рівнях LLOQ та ULOQ. 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 ULOQ

Порівняння	Рівень	Цільовий рівень вірусного навантаження (лог. IU/mL)	Прогнозована різниця (лог. IU/mL)
Капілярна кров DBS та плазма	LLOQ	2,66	0,24
	ULOQ	8,00	-0,26
Венозна кров DBS та плазма	LLOQ	2,66	0,15
	ULOQ	8,00	-0,17

Рис. 2. Капілярна кров DBS і плазма

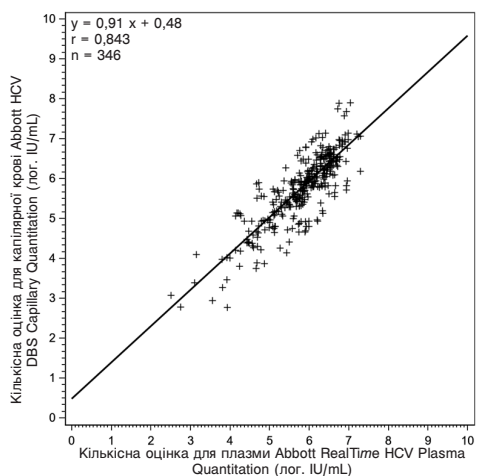


Рис. 3. Венозна кров DBS і плазма

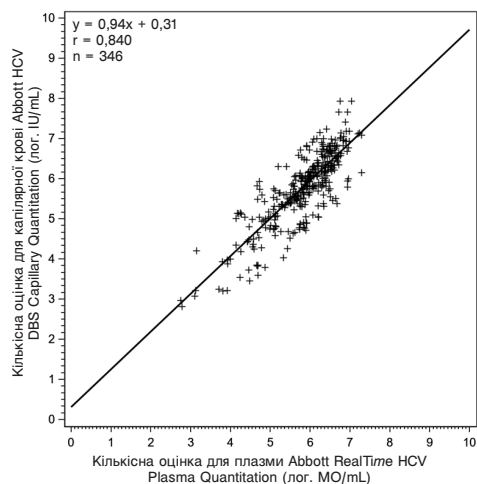


Рис. 4. Капілярна й венозна кров DBS

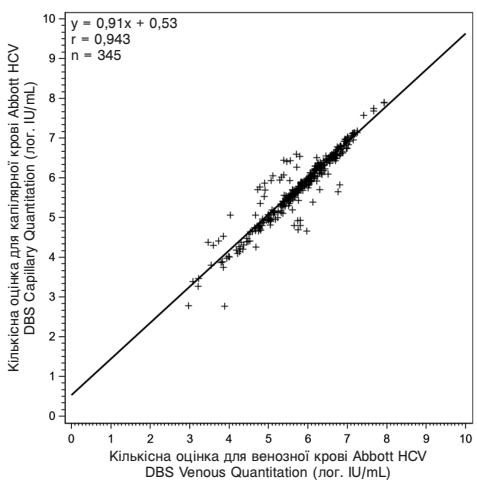


Рис. 5. Капілярна кров DBS/плазма

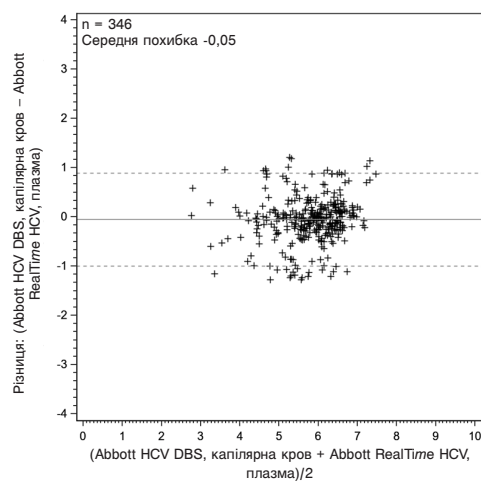


Рис. 6. Венозна кров DBS/плазма

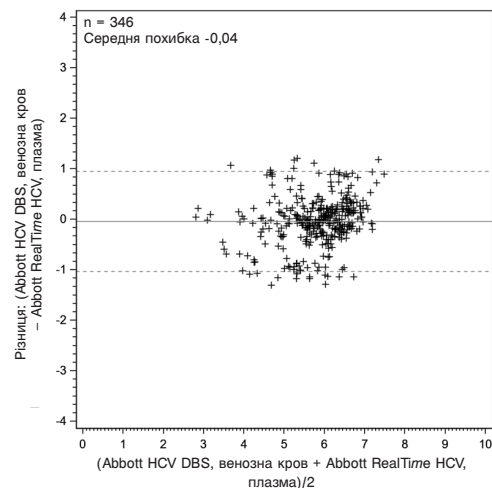
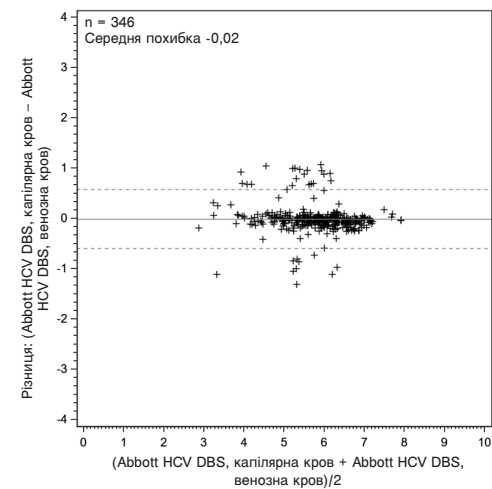


Рис. 7. Капілярна/венозна кров DBS



ЛІТЕРАТУРА

1. Gower E, Estes C, Blach S та ін. Global epidemiology and genotype distribution of the hepatitis C virus infection (Глобальна епідеміологія і розподілення генотипів вірусу гепатиту С). *J Hepatol*. 2014; 61(1):S45-S57.
2. Всесвітня організація охорони здоров'я, оновлена версія від квітня 2016 р.: стандарти скринінгу, догляду й лікування осіб з вірусом гепатиту С. <http://www.who.int/hepatitis/publications/hepatitis-c-guidelines-2016/en/>.
3. Рекомендації AASLD/IDSA щодо тестування, терапії та лікування гепатиту С, оновлення від квітня 2017 р. www.hcvguidelines.org.
4. Європейська асоціація досліджень печінки. Рекомендації щодо лікування гепатиту С, 2018 р.. *J. Hepatology* (2018).
5. Miller MH, Agarwal K, Austin A та ін. Стаття-рецензування: 2014 UK consensus guidelines - hepatitis C management and direct-acting anti-viral therapy (Узгоджені правила й рекомендації для Великобританії за 2014 р.: лікування гепатиту С та антивірусна терапія прямої дії). *Aliment Pharmacol Ther*. 2014;39:1363-75.
6. Davis GL, Esteban-Mur R, Rustgi V та ін. Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin for the treatment of relapse of chronic hepatitis C (Використання інтерферону альфа-2b незалежно чи в поєднанні з рибавирином для лікування рецидивів хронічного гепатиту С). *N Engl J Med* 1998;339(21):1493-9.
7. Manns MP, McHutchison JG, Gordon SC та ін. Peginterferon alfa- 2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial (Використання пегінтерферону альфа-2b з рибавирином у порівнянні з інтерфероном альфа-2b з рибавирином для початкового лікування гепатиту С: рандомізоване дослідження). *Lancet* 2001;358(9286):958-65.
8. Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR та ін. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection (Використання пегінтерферону альфа-2a і рибавіріну для лікування вірусної інфекції хронічного гепатиту С). *N Engl J Med* 2002;347(13):975-82.
9. Hadziyannis SJ, Sette H Jr., Morgan TR та ін. Peginterferon-[alpha]2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose (Комбінована терапія пегінтерферону альфа-2a з рибавирином для лікування хронічного гепатиту С: рандомізоване дослідження тривалості лікування й дози рибавіріну). *Ann Intern Med* 2004;140(5):346-55.
10. Orlent H, Deltenre P, Francque S та ін. Update of the Belgian Association for the Study of Liver Guidelines for the Treatment of Chronic Hepatitis C Genotype 1 with Protease Inhibitors (Оновлені правила й рекомендації Бельгійської асоціації дослідження печінки щодо лікування хронічного гепатиту С генотипу 1 з використанням інгібіторів протеази). *Acta Gastro- Enterologica Belgica* 2012;LXXV:245-259.
11. Halfon P, Bourliere M, Penaranda G, Khiri H та Ouzin D. Real-time PCR assays for hepatitis C virus (HCV) RNA quantitation are adequate for clinical management of patients with chronic HCV infection (PCR-тести реального часу для кількісного визначення РНК вірусу гепатиту С (HCV) підходять для клінічного лікування пацієнтів з хронічною інфекцією HCV). *J. Clin Microbiology* 2006;44(7): 2507-2511.
12. Kowdley KV, Nelson DR, Lalezari JP та ін. On-treatment HCV RNA as a predictor of sustained virological response in HCV genotype 3 infected patients treated with daclatasvir and sofosbuvir (РНК HCV у процесі лікування як параметр прогнозування стійкого вірусологічного відгуку для HCV генотипу 3 в пацієнтів, для яких проводилася терапія з використанням даклатасвіру та софосбувіру). *Liver Int* 2016 36(11):1611-8.
13. Yoshida EM, Sulkowski MS, Gane EJ та ін. Concordance of sustained virological response 4, 12, and 24 weeks post-treatment with sofosbuvir-containing regimens for hepatitis C virus (Узгодженість стійкого вірусологічного відгуку через 4, 12 і 24 тижнів після лікування на вірусу гепатиту С з використанням препаратів, що містять софосбувір). *Hepatology* 2015 61(1):41-5.
14. Правила й рекомендації ВООЗ щодо тестування на гепатит В і С. Geneva: World Health Organization; 2017.

15. Saldanha J, Heath A. та ін. Спільне дослідження Всесвітньої організації охорони здоров'я з метою підготування нового міжнародного стандарту ВООЗ для технології тестів з ампліфікацією нуклеїнової кислоти РНК вірусу гепатиту С. *Vox Sanguinis* 2005 Apr; 88 (3):202-204.

ТЕХНІЧНА ДОПОМОГА

Якщо вам потрібна технічна допомога, телефонуйте до компанії Abbott Molecular Technical Services за номером 1-800-553-7042 (у межах США) або +49-6122-580 (за межами США). Ви також можете відвідати веб-сайт Abbott Molecular за адресою www.molecular.abbott/portal.

Тести Abbott RealTime HCV імпортуються на територію Європейського Союзу компанією Abbott Diagnostics GmbH, що зареєстрована за адресою Max-Planck- Ring 2, 65205 Wiesbaden, Germany (Німеччина)



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



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



© Abbott, 2020. Усі права захищені.

www.abbottmolecular.com

51-608440/R1

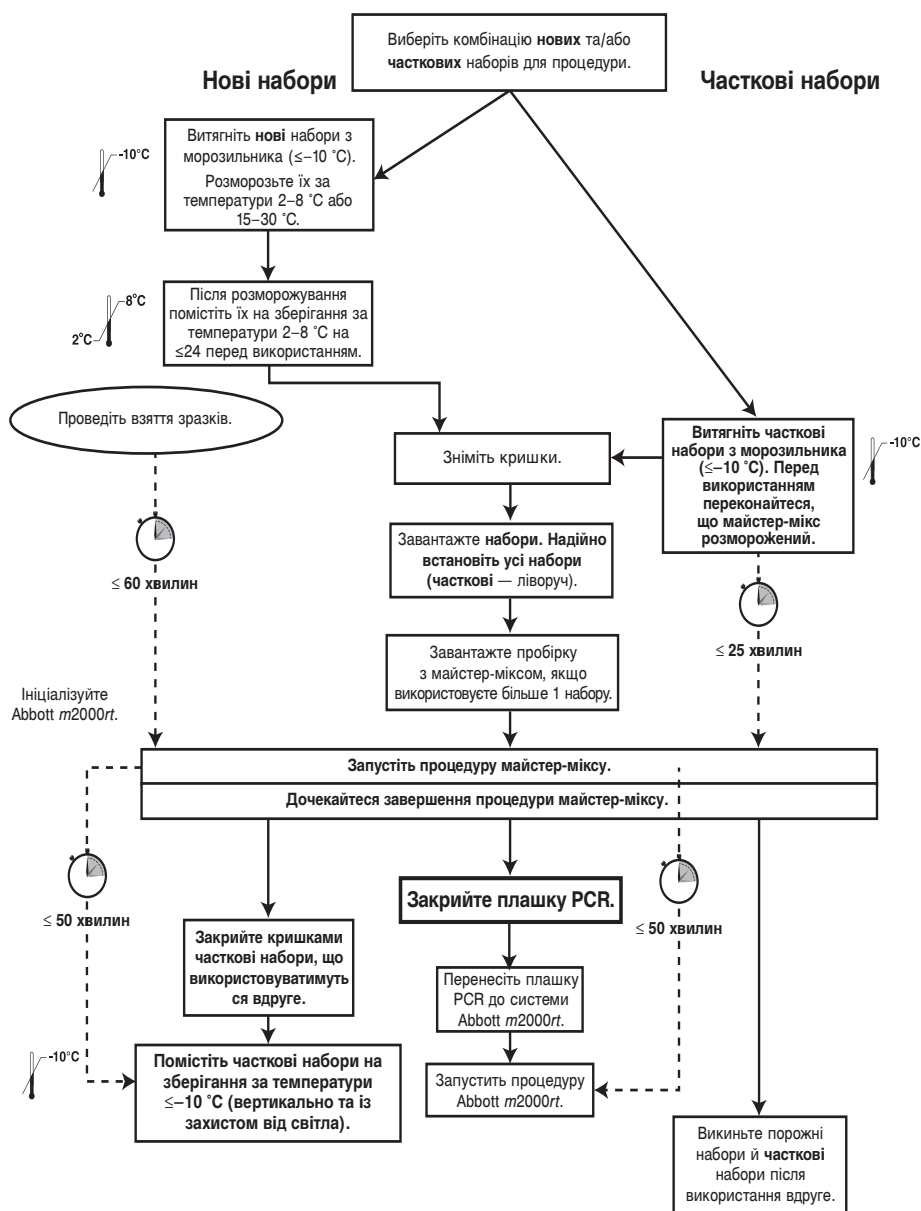
Липень 2020 р.

ДОДАТОК 1. ОГЛЯД МОЖЛИВОСТІ ПОДОВЖЕНОГО ВИКОРИСТАННЯ РЕАГЕНТУ АБВОТТ REALTIME HCV AMPLIFICATION REAGEN

Набір Amplification Reagent Pack та Internal Control (IC) можна використовувати до двох разів. Набори Amplification Reagent Packs, які ще не використовувалися для виготовлення master mix, називаються **новими** Amplification Reagent Packs. Набори Amplification Reagent Packs, які вже було використано та які містять підготований master mix, називаються **частковими** Amplification Reagent Packs. Додаткові відомості див. в інструкціях в цьому посібнику.

Умови збереження (для Amplification Reagent Pack та флаконів Internal Control)		
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
Часткові набори	-10 °C або нижче (із захистом від світла)	До 14 днів після першого використання
Часткові внутрішні контролю	-10 °C або нижче	До 14 днів після першого використання

- Якщо для боротьби із забрудненням використовується UNG, докладні інструкції див. на етапах 25 і 32 процедури тестування.



- Набори Amplification Reagent Packs, що придатні до подовженого використання, повинні мати 6-значний серійний номер над штрих-кодом.
- **Часткові** Amplification Reagent Packs можна використовувати вдруге лише з тією ж системою, що й вперше. Їхнє використання з іншою системою призведе до помилки оброблення, що може затримати виконання процедури.
- **Часткові** й **нові** Amplification Reagent Packs можна використовувати в комбінації. Усі Amplification Reagent Packs, що використовуються в системі в межах однієї процедури, повинні мати однаковий номер партії.

Abbott RealTime HCV

Completare la picătura uscată de sânge (DBS)

ro

GTIN

REF

04J86-010

IVD

51-608440/R1

REF 04J86-010

51-608440/R1

Semnificația simbolurilor utilizate

GTIN

Cod articol internațional

REF

Număr de referință

IVD

Dispozitiv medical de diagnosticare in vitro



Durată maximă permisă



Limită de temperatură superioară



Limitare temperatură

EC REP

Reprezentant autorizat în Comunitatea europeană



Producător

SERVICIU CLIENȚI INTERNAȚIONAL: CONTACTAȚI REPREZENTANTUL ABBOTT

Citiți cu atenție prezentul prospect de pe ambalaj înainte de utilizare. Urmăriți întocmai instrucțiunile de pe prospectul de pe ambalaj. Fiabilitatea rezultatelor testului nu poate fi garantată dacă există abateri de la instrucțiunile din prezentul prospect de pe ambalaj.

Aceste instrucțiuni de utilizare sunt o completare la prospectul de pe ambalajul Abbott RealTime HCV assay (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 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 integral 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.

UTILIZATORUL VIZAT

Utilizatorii vizati ai Abbott RealTime HCV assay sunt profesioniștii din domeniul asistenței medicale și al laboratoarelor.

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 carcinoamelor 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 terapiilor 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 integral 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 (UI/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 speciemenle 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 speciemenul în sistemul m2000sp. După tratamentul DBS înainte de efectuarea analizei, toate etapele ulterioare sunt executate automat de către sistemul m2000sp și m2000rt. Consultați prospectul de pe ambalajul 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 de pe ambalajul Abbott RealTime HCV assay (Ref. 4J86).

REACTIVI

Consultați prospectul de pe ambalajul Abbott RealTime HCV assay (Ref. 4J86).

AVERTIZĂRI ȘI MĂSURI DE PRECAUȚIE

IVD

Pentru diagnosticare **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 PRECAUȚIE PRIVIND SIGURANȚA

Consultați prospectul de pe ambalajul Abbott RealTime HCV assay (Ref. 4J86). RealTime HCV assay for DBS utilizează numai instrumentele *m2000sp* și *m2000rt*

MĂSURI DE PRECAUȚIE SPECIALE

Măsurile de precauție pentru manipularea specimenelor DBS

Abbott RealTime HCV assay for DBS este destinat utilizării numai cu specimene de sânge integral sau DBS care au fost manipulate și depozitate așa cum s-a descris în secțiunea **RECOLTAREA, DEPOZITAREA ȘI TRANSPORTUL SPECIMENELOR LA UNITATEA DE TESTARE**.

Consultați prospectul de pe ambalajul Abbott RealTime HCV assay (Ref. 4J86).

Măsurile 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 de pe ambalajul Abbott RealTime HCV assay (Ref. 4J86).

Contaminarea prin aerosoli

Consultați prospectul de pe ambalajul Abbott RealTime HCV assay (Ref. 4J86).

Contaminarea și inhibarea

Consultați prospectul de pe ambalajul Abbott RealTime HCV assay (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 de pe ambalajul Abbott RealTime HCV assay (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 DE DEPOZITARE

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 amplificare și 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 amplificare 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 amplificare 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 EXPEDIERE

Consultați prospectul de pe ambalajul Abbott RealTime HCV assay (Ref. 4J86).

INDICIU PRIVIND INSTABILITATEA SAU DETERIORAREA REACTIVILOR

Consultați prospectul de pe ambalajul Abbott RealTime HCV assay (Ref. 4J86).

PROCEDURĂ PRIVIND INSTRUMENTELE

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 (Ref. 1L69-040 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*.

RECOLTAREA, DEPOZITAREA ȘI TRANSPORTUL SPECIMENELOR LA UNITATEA DE TESTARE

Recoltarea și depozitarea specimenelor

- Pentru a pregăti DBS, utilizați sângele integral EDTA sau obținut prin înțeparea degetului. Păstrați sângele integral 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 integral 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 specimene DBS pot fi depozitate în condițiile specificate în tabelul de mai jos înainte de a prelucra testul.

Depozitarea fișelor cu specimene 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 specimenelor

Expediați speciemenele conform temperaturii și duratei de timp recomandate pentru depozitare menționate în secțiunea **Recoltarea și depozitarea specimenelor** de mai sus. În ceea ce privește expedierile pe plan național și internațional, speciemenele trebuie ambalate și etichetate în conformitate cu reglementările de stat, federale și internaționale aplicabile care acoperă transportul specimenelor clinice, de diagnosticare sau biologice.

PROCEDURĂ ABBOTT REALTIME HCV ASSAY 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. 9K14-01, 9K14-02)
- 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. 1L69-040 sau mai recentă)
- m2000 System 13mm DBS-PoS Set (Ref. 09N03-001)
- 1.4 mL Micro Vial 15mm Caps (Ref. 3N20-01) 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. 1L69-040 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 TFN și/sau Whatman 903
- Pungă de plastic etanșabilă pentru eliminarea plăcii de reacție cu 96 de sonde
- 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

^b**Notă:** Aceste trei articole sunt utilizate pentru procedura de monitorizare a laboratorului privind prezența contaminării. Consultați secțiunea **PROCEDURI PRIVIND CONTROLUL CALITĂȚII** din prospectul de pe ambalajul Abbott RealTime HCV assay (Ref. 4J86).

Măsurile de precauție procedurale

- Citiți aceste instrucțiuni de utilizare înainte de a prelucra speci-menele.
- 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 speci-menele 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 PRIVIND CONTROLUL CALITĂȚII**.
- Pentru a reduce riscul de contaminare cu acid nucleic, curățați și dezinfectați scurgerile de speci-mene cu ajutorul unui dezinfectant tuberculocid, cum ar fi 1 % hipoclorit de sodiu sau alți dezinfectanți adecvați.
- Abbott RealTime HCV Calibrators și Controls trebuie pregătite împreună cu speci-menele de testat. Utilizarea Abbott RealTime HCV Controls și Calibrators este parte integrantă din performanța testului Abbott RealTime HCV. Consultați secțiunea **PROCEDURI PRIVIND CONTROLUL CALITĂȚII**.
- 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 m2000rt în decurs de 50 de minute de la inițializarea protocolului Master Mix Addition. Dacă nu ați inițializat rularea cu instrumentul Abbott m2000rt în decurs de 50 de minute sau aceasta este întreruptă sau anulată, etanșați placa de reacție cu 96 de sonde Abbott într-o pungă de plastic etanșabilă și eliminați-o conform manualului de operare a Abbott m2000rt împreună cu mănușile 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 rulări se poate procesa un număr total de 96 de probe. Fiecare rulare include un ser de control negativ, un ser de control slab pozitiv și un ser de control intens pozitiv, prin urmare, se permite prelucrarea unui număr maxim de 93 de speci-mene DBS per rulare 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 speci-menele de plasmă sau ser în cadrul rulărilor 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 DBS mdin 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 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 speci-men și transferați pe un Master Mix Tube (tub cu amestec principal).

NOTĂ: Evitați contactul direct al speci-menelor DBS cu suprafața de tăiere. Decontaminați instrumentul utilizat pentru a tăia DBS între speci-mene, 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, decongelați 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. Decongelați calibratorii la o temperatură cuprinsă între 15 °C și 30 °C sau între 2 °C și 8 °C numai dacă efectuați o rulare a calibrării.

NOTĂ: Odată decongelate, serurile de control pentru test, CI și calibratorii pot fi depozitate la o temperatură cuprinsă între 2 a°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. Decongelați 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 rulării. 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.

Decongelați 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 decongelați, 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
mMicroparticles (microparticule)	1 sticlă	2 sticle	2 sticle	2 sticle
mLysis (liză)	1 sticlă	2 sticle	3 sticle	4 sticle
mWash 1 (clătire 1)	1 sticlă	2 sticle	3 sticle	4 sticle
mWash 2 (clătire 2)	1 sticlă	2 sticle	3 sticle	4 sticle
mElution 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 mSample 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 mLysis 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 răsucliti 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 sistemul de pregătirea a probelor Abbott mși 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 rularea.
- 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 pachetul 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.

- Pachetele parțiale de amplificare sunt încărcate în partea stângă a pachetelor noi cu reactivi de amplificare pe masa de lucru Abbott *m2000sp*.
- Asigurați-vă că pachetele cu reactivi de amplificare sunt așezate ferm pe instrument.
- Selecția plăci corectă cu sonde profunde care se potrivește cu extracția corespunzătoare de pregătire a probei. Inițializați protocolul Abbott *m2000sp* Master Mix Addition. Urmați 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 sondele goale/neumplute din Abbott 96-Well Optical Reaction Plate.

- După finalizarea extracției probei, Abbott *m2000sp* umple automate orice sondă goală din Abbott 96-Well Optical Reaction Plate *mElution* (eluție) atunci când se prelucrează mai mult de 48 de probe în cadrul unei rulări. Placa nu se umple pentru rulări 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 sondele 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 rulare din orice motiv după pasul 28, trebuie să utilizați o nouă placă de reacție optică cu 96 de sonde Abbott dacă protocolul Abbott *m2000sp* Master Mix Addition (pasul 28) trebuie repetat.

- 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.

- Etanșați placa de reacție optică cu 96 de sonde 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*.
- 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:

- Transferați placa optică etanșată în Abbott Splash-Free Support Base (bază suport cu protecție împotriva stropirii) și incubați 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 sonde Abbott pe Abbott Splash-Free Support Base (bază suport cu protecție împotriva stropirii) din instrumentul *m2000rt*.
- 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” (Sonde 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*.

- 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

- Scoateți Abbott 96 Deep-Well Plate de pe masa de lucru și eliminați în conformitate cu manualul de operare a Abbott *m2000sp*.
- 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.
- Curățați Abbott Splash-Free Support Base înainte de următoarea utilizare, conform manualului de operare a Abbott *m2000rt*.

PROCEDURI PRIVIND CONTROLUL CALITĂȚII

Calibrarea optică Abbott *m2000rt*

Consultați prospectul de pe ambalajul Abbott RealTime HCV assay (Ref. 4J86).

Calibrarea testului

Consultați prospectul de pe ambalajul Abbott RealTime HCV assay (Ref. 4J86). Pentru testarea DBS cu ajutorul *m2000sp* și *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 de pe ambalajul Abbott RealTime HCV assay (Ref. 4J86).

Seruri de control pozitive și negative

Consultați prospectul de pe ambalajul Abbott RealTime HCV assay (Ref. 4J86).

Monitorizarea laboratorului privind prezența contaminării

Consultați prospectul de pe ambalajul Abbott RealTime HCV assay (Ref. 4J86).

REZULTATELE SPECIMENELOR DBS

Rezultatul raportat privind concentrația probei DBS din rularea protocolului DBS *m2000rt* reprezintă concentrația virală HCV din plasma specimenului de sânge integral 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 UI/mL, sau UI înregistrate/mL.

Interpretarea rezultatelor

Rezultat	Interpretare
Nu este detectat	Ținta nu este detectată
< 2,66 UI înregistrate/mL ^a	Detectată
Între 2,66 și 8,00 UI înregistrate/mL	
> 8,00 UI înregistrate/mL	> ULQ ^b

^a 462 UI/mL
^b ULQ = limita superioară a determinării cantitative

LIMITĂRILE PROCEDURII

- PENTRU DIAGNOSTICARE IN VITRO**
- Performanța optimă a acestui test impune recoltarea, depozitarea și transportul corespunzător al specimenelor la unitatea de testare (consultați secțiunea **RECOLTAREA, DEPOZITAREA ȘI TRANSPORTUL SPECIMENELOR LA UNITATEA DE TESTARE** din acest prospect de pe ambalaj).
- Specimenele de sânge integral recoltate în tuburi EDTA pot fi utilizate pentru a genera DBS care sunt testate cu Abbott RealTime HCV assay for DBS. Utilizarea de alte anticoagulate 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 specimene trebuie să fie controlată prin intermediul bunelor practici de laborator și cu atenția respectare a procedurilor specificate în acest prospect de pe ambalaj.
- 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” (Nedectat) 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 SPECIMENELE DBS

Limita detecției (LOD)

LOD a Abbott RealTime HCV assay este de 462 UI/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 integral negativ 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**.

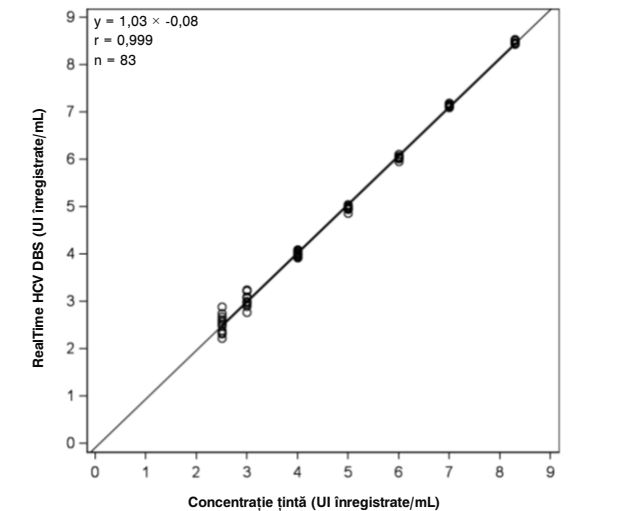
Tabelul 1. Limita detecției (LOD) a Abbott RealTime HCV for DBS			
ARN HCV (UI/mL)	Număr testat	Număr detectat	Procent detectat
500	84	83	99
400	84	80	95
350	84	75	89
300	84	73	87
150	84	54	64
50	84	26	31

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 UI/mL (95 % I.Î. între 381 și 593 UI/mL).

Interval liniar

Limita superioară a determinării cantitative (ULQ) pentru Abbott RealTime HCV assay este de 100 milioane UI/mL, iar limita inferioară a determinării cantitative este echivalentă cu LOD (462 UI/mL) pentru revendicarea DBS. S-a pregătit un panou DBS cu șapte membri cu HCV Armored RNA diluat în concentrații cuprinse între 200 de milioane UI/mL și 316 UI/mL în sângele integral negativ 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 UI/mL, între 2,5 și 8,3 UI înregistrate/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 specimene 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 panou DBS din șase membri țintă pentru a acoperi intervalul de concentrație a ARN-ului HCV cuprins între 316 UI/mL și 200 de milioane UI/mL. Panoul cu membri cu concentrații mai mici de 5 UI înregistrate/mL (100.000 UI/mL) a fost pregătit cu specimene clinice pozitive HCV diluate în sânge integral negativ HCV, în timp ce panoul cu membri cu concentrații mai mari de 5 UI înregistrate/mL (100.000 UI/mL) a fost pregătit cu HCV Armored RNA diluat în sânge integral negativ HCV. Fiecare panou cu membri a fost testat în cinci replicare, o dată pe zi, timp de cinci zile, în cadrul a trei perechi *m2000sp/rt* a câte trei loturi de reactivi de amplificare. Abaterile standard (SD) au fost determinate în cadrul rulării, între rulări și de la un test la altul (în cadrul rulării și între rulări). 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 UI înregistrate/mL de ARN HCV pentru probele care conțin concentrații de HCV cuprinse între 10.000 și 100 de milioane UI/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

Panou cu membri	N	Concentrație medie (UI/mL)	Concentrație medie (UI înregistrate/mL)	Componentă SD în cadrul rulării ^{a,e}	Componentă SD între rulări ^a	SD de la un test la altul ^{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 Abaterii standard (SD) sunt redată în UI înregistrate/mL.

^b De la un test la altul conține componente în cadrul rulării și între rulări.

^c Total include componente în cadrul rulării, între rulări și între loturi/instrumente.

^d Concentrația medie a panoului cu membri 1 este sub LOD. Estimările preciziei se bazează pe replicatele care sunt determinate cantitativ.

^e SD în cadrul rulării, denumită și repetabilitate. SD total, denumită și reproductibilitate.

Repetabilitatea și reproductibilitatea pentru panoul cu membri 1 (aproape LLOQ) au fost de 0,26 UI înregistrate/mL și respectiv, 0,27 UI înregistrate/mL, iar pentru panoul cu membri 2 (aproape LLOQ) au fost de 0,23 UI înregistrate/mL și respectiv, 0,25 UI înregistrate/mL. Repetabilitatea și reproductibilitatea pentru panoul cu membri 5 (aproape ULOQ) au fost de 0,12 UI înregistrate/mL și respectiv, 0,14 UI înregistrate/mL, iar pentru panoul cu membri 6 (aproape ULOQ) au fost de 0,04 UI înregistrate/mL și respectiv, 0,07 UI înregistrate/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 speciamele 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 speciamelelor care s-au încadrat în intervalele dinamice ale testelor au fost analizate prin metoda de regresie liniară cu cele mai puține pătrate și metoda tendințelor Bland-Altman (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 (I.Î. de 95 % cuprins între 0,85 și 0,97), iar segmentul a fost de 0,48 UI înregistrate/mL (I.Î. de 95 % 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 (I.Î. de 95 % cuprins între 0,88 și 1,00), iar segmentul a fost de 0,31 UI înregistrate/mL (I.Î. de 95 % 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 (I.Î. de 95 % cuprins între 0,87 și 0,94), iar segmentul a fost de 0,53 UI înregistrate/mL (I.Î. de 95 % 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 tendință medie dintre DBS capilar și plasmă a fost de -0,05 UI înregistrate/mL. Diferența de tendință medie dintre DBS venos și plasmă a fost de -0,04 UI înregistrate/mL. Diferența de tendință medie dintre DBS capilar și DBS venos a fost de -0,02 UI înregistrate/mL.

Tendința așteptată între DBS capilar și plasmă a fost evaluată la niveluri țintă LLOQ și ULOQ. În plus, tendința așteptată între DBS venos și plasmă a fost evaluată la niveluri țintă LLOQ și ULOQ. Consultați **tabelul 3** privind rezumatul tendinței așteptate.

Tabelul 3. Tendința așteptată între DBS (capilar sau venos) și plasmă la LLOQ ULOQ

Comparație	Nivel	Nivel țintă sarcină virală (UI înregistrate/mL)	Tendință așteptată (UI înregistrate/mL)
DBS capilar versus plasmă	LLOQ	2,66	0,24
	ULOQ	8,00	-0,26
DBS venos versus plasmă	LLOQ	2,66	0,15
	ULOQ	8,00	-0,17

Figura 2. DBS capilar și plasmă

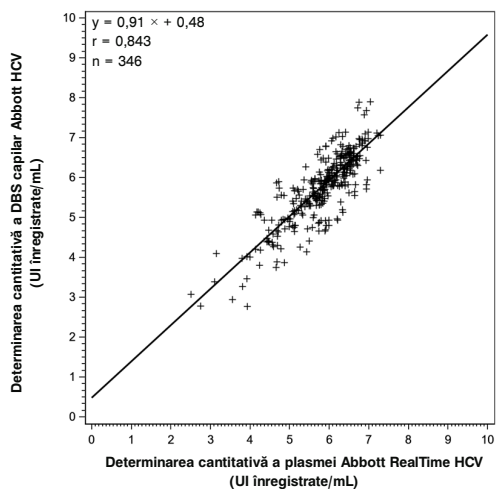


Figura 5. DBS capilar versus plasmă

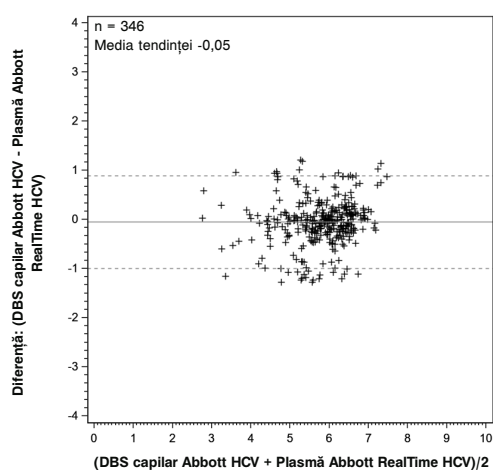


Figura 3. DBS venos și plasmă

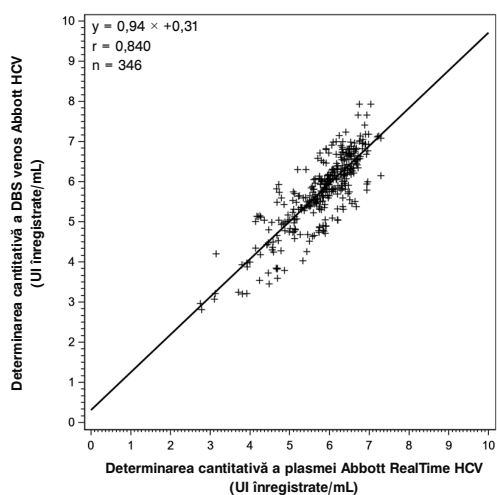


Figura 6. DBS venos versus plasmă

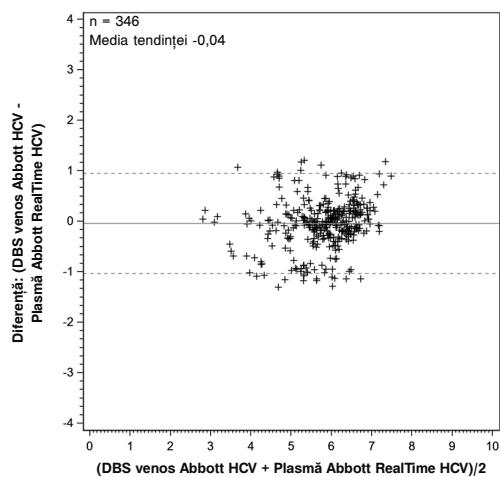


Figura 4. DBS capilar și DBS venos

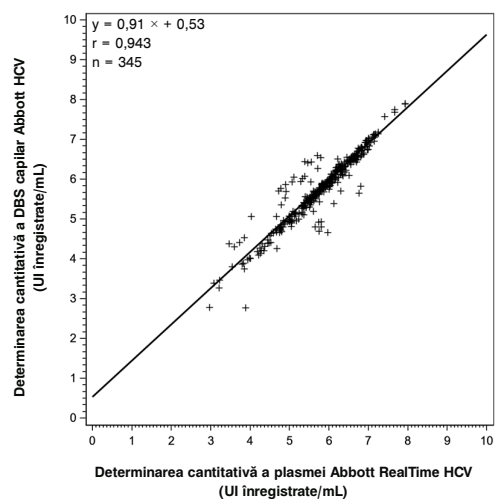
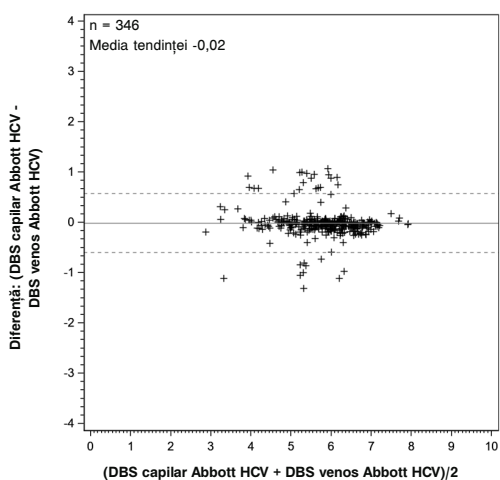


Figura 7. DBS capilar versus DBS venos



BIBLIOGRAFIE

1. Gower E, Estes C, Blach S, et al. Global epidemiology and genotype distribution of the hepatitis C virus infection. *J Hepatol*. 2014; 61(1):S45-S57.
2. World Health Organization Updated Version April 2016: Guidelines for the screening, care and treatment of persons with hepatitis C infection. <http://www.who.int/hepatitis/publications/hepatitis-c-guidelines-2016/en/>.
3. AASLD/IDSA Recommendations for testing, managing and treating hepatitis C, revised April, 2017. www.hcvguidelines.org.
4. European Association of the Study of the Liver. Recommendation on Treatment of Hepatitis C 2018. *J. Hepatology* (2018).
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;39:1363-75.
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. *N Engl J Med* 1998;339(21):1493-9.
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):958-65.
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):975-82.
9. Hadziyannis SJ, Sette H Jr., Morgan TR, et al. Peginterferon- [alpha]2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose. *Ann Intern Med* 2004;140(5):346-55.
10. Orlent H, Deltenre P, Francque S, et al. Update of the Belgian Association for the Study of Liver Guidelines for the Treatment of Chronic Hepatitis C Genotype 1 with Protease Inhibitors. *Acta Gastro-Enterologica Belgica* 2012;LXXV:245-259.
11. Halfon P, Bourliere M, Penaranda G, Khiri H, and OuzinD. Real-time PCR assays for hepatitis C virus (HCV) RNA quantitation are adequate for clinical management of patients with chronic HCV infection. *J. Clin Microbiology* 2006;44(7): 2507-2511.
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):1611-8.
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):41-5.
14. WHO guidelines on hepatitis B and C testing. Geneva: World Health Organization; 2017.
15. Saldanha J, Heath A., 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 Sanguinis* 2005 Apr; 88 (3):202-204.

ASISTENȚĂ TEHNICĂ

În ceea ce privește asistența tehnică, contactați serviciile tehnice Abbott Molecular 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 Molecular la adresa www.molecular.abbott/portal.

Abbott RealTime HCV este importat pe teritoriul Uniunii Europene de către Abbott Diagnostics GmbH, cu sediul la adresa 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 Abbott. Toate drepturile rezervate.

www.abbottmolecular.com

51-608440/R1

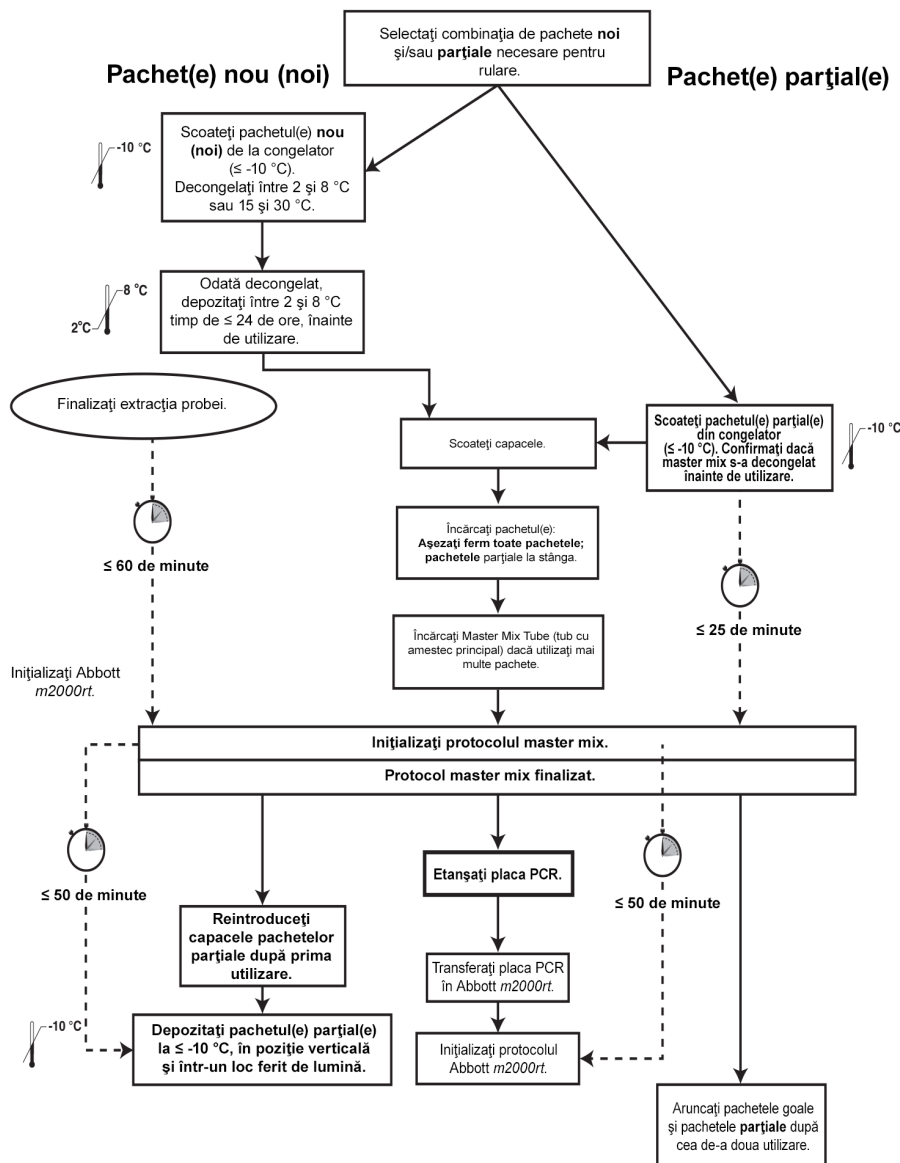
Iulie 2020

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 rularea.
- Pachetele **parțiale** și **noi** cu reactivi de amplificare pot fi utilizate împreună. Toate pachetele cu reactivi de amplificare utilizate pe instrument pentru o rulare trebuie să aibă același număr de lot.

Abbott RealTime HCV

Bổ sung cho xét nghiệm vết máu khô (DBS)

vi

GTIN

REF

04J86-010

IVD

51-608440/R1

REF 04J86-010

51-608440/R1

Giải thích các biểu tượng được sử dụng

GTIN

Mã thương phẩm toàn cầu

REF

Mã tham chiếu

IVD

Thiết bị y tế chẩn đoán in vitro
(trong ống nghiệm)



Thời gian tối đa cho phép



Giới hạn nhiệt độ trên



Giới hạn nhiệt độ

EC REP

Đại diện được ủy quyền tại Cộng đồng châu Âu



Nhà sản xuất

DỊCH VỤ KHÁCH HÀNG QUỐC TẾ: GỌI CHO ĐẠI DIỆN ABBOTT CỦA BẠN

Phải đọc tờ hướng dẫn sử dụng này trước khi sử dụng. Phải tuân theo chỉ dẫn trong tờ hướng dẫn sử dụng. Không thể đảm bảo độ tin cậy của kết quả xét nghiệm nếu có bất kỳ sai lệch nào với chỉ dẫn trong tờ hướng dẫn sử dụng này.

Hướng dẫn sử dụng (IFU) này có mục đích bổ sung cho tờ hướng dẫn sử dụng của xét nghiệm Abbott RealTime HCV (Mã danh sách 4J86), đặc biệt với loại mẫu Vết máu khô (DBS).

LƯU Ý CHO NGƯỜI DÙNG

Nếu sự cố nghiêm trọng xảy ra liên quan đến thiết bị này thì phải báo cáo sự cố cho nhà sản xuất và cơ quan có thẩm quyền thích hợp của tiểu bang mà ở đó người dùng và/hoặc bệnh nhân nhận dịch vụ. Để biết cách báo cáo cho nhà sản xuất, hãy xem thông tin liên hệ được cung cấp trong phần hỗ trợ kỹ thuật của hướng dẫn này.

TÊN

Abbott RealTime HCV

MỤC ĐÍCH SỬ DỤNG CHO DBS

Xét nghiệm Abbott RealTime HCV là xét nghiệm phản ứng chuỗi polymerase sao chép ngược (RT-PCR) in vitro (trong ống nghiệm) nhằm định lượng phát hiện RNA virus viêm gan C (HCV RNA) trong máu toàn phần phân được phát hiện trên thẻ dưới dạng vết máu khô (DBS) (nghĩa là lấy bằng chích đầu ngón tay hoặc máu mao mạch) từ các cá nhân nhiễm HCV. Xét nghiệm Abbott RealTime HCV được thiết kế để sử dụng như là phương pháp hỗ trợ quản lý bệnh nhân nhiễm HCV đang điều trị bằng thuốc kháng virus. Xét nghiệm Abbott RealTime HCV không được dùng để sàng lọc HCV trong máu, huyết tương, huyết thanh hoặc mô hiến hoặc dùng như xét nghiệm chẩn đoán để xác nhận sự hiện diện của nhiễm HCV.

NGƯỜI DÙNG MỤC TIÊU

Người dùng mục tiêu cho xét nghiệm Abbott RealTime HCV là chuyên viên phòng thí nghiệm và chuyên gia chăm sóc sức khỏe.

TÓM TẮT VÀ GIẢI THÍCH XÉT NGHIỆM

Virus viêm gan C (HCV) là một trong những nguyên nhân chính gây bệnh gan. Ước tính khoảng 1,1% dân số bị nhiễm viêm gan C

mạn tính¹ và khoảng 700.000 người chết hàng năm do bệnh gan liên quan đến viêm gan C.² HCV là virus RNA chuỗi dương và lây truyền chủ yếu qua việc sử dụng thuốc tiêm mạch và thông qua các sản phẩm máu. Khoảng 55 đến 85% người nhiễm HCV phát triển viêm gan mạn tính, với đến 30% cá nhân bị nhiễm mạn tính phát triển bệnh xơ gan.¹ Ở các bệnh nhân xơ gan, tỷ lệ mắc ung thư gan nguyên phát là 2 đến 4% mỗi năm.¹

Việc đo định lượng mức HCV RNA trong máu ngoại vi đã chứng minh là tham số thiết yếu để quản lý nhiều phương pháp điều trị chống HCV khác nhau.⁶⁻¹³ Với sự ra đời của các chế độ chống virus tác dụng trực tiếp, việc điều trị nhiễm HCV đã tiến bộ đáng kể. Mục tiêu của các liệu pháp chống HCV là đạt được tỉ lệ đáp ứng virus bền vững (SVR), được biểu hiện ở việc liên tục không phát hiện thấy HCV RNA.²⁻⁵ Việc đo tải lượng virus HCV đã được sử dụng để cá nhân hóa thời gian điều trị và liệu pháp điều trị theo tỉ lệ đáp ứng hoặc để xác định và dự đoán đáp ứng virus bền vững hoặc không bền vững của liệu pháp chống virus.²⁻⁵ Phần lớn trường hợp nhiễm HCV trên toàn cầu xảy ra ở các nước thu nhập thấp và trung bình (LMIC).¹⁴ Việc xác định bệnh nhân nhiễm HCV rất hạn chế ở những khu vực hạn chế về tài nguyên này. Máu toàn phần được thu thập dưới dạng Vết máu khô (DBS) có thể được sử dụng như mẫu phẩm thay thế cho huyết thanh hoặc huyết tương để xét nghiệm HCV RNA. DBS cho thấy đây là một lựa chọn khả thi giúp loại bỏ nhiều hạn chế về kỹ thuật và hậu cần liên quan đến việc thu thập, xử lý, bảo quản và vận chuyển huyết thanh hoặc huyết tương. Hướng dẫn của Tổ chức Y tế Thế giới (WHO) về xét nghiệm viêm gan C bao gồm những đề xuất sử dụng DBS trong xét nghiệm virus HCV ở các khu vực hạn chế về tài nguyên.¹⁴

Xét nghiệm Abbott RealTime HCV cho DBS sử dụng công nghệ phản ứng chuỗi polymerase sao chép ngược (RT-PCR) kết hợp với việc phát hiện huỳnh quang thời gian thực đồng nhất cho số lượng HCV RNA trong DBS. Việc lựa chọn một khu vực được bảo tồn của bộ gen HCV cung cấp cho việc phát hiện các kiểu gen từ 1 đến 6. Xét nghiệm được chuẩn hóa theo Tiêu chuẩn quốc tế thứ 2 của WHO về RNA virus viêm gan C (NIBSC Mã 96/798)¹⁵ và kết quả được báo cáo theo đơn vị quốc tế/mL (IU/mL) hoặc log cơ số 10 tương đương của đơn vị.

NGUYÊN TẮC SINH HỌC CỦA QUY TRÌNH

Xét nghiệm Abbott RealTime HCV cho DBS cần 3 kit thuốc thử:

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

Xét nghiệm Abbott RealTime HCV cho DBS sử dụng RT-PCR để tạo sản phẩm được khuếch đại từ bộ gen HCV RNA trong mẫu DBS ở người. Các bước của Xét nghiệm Abbott RealTime HCV cho DBS bao gồm điều trị DBS phân tích trước, chuẩn bị mẫu, gắn RT-PCR, khuếch đại, phát hiện và báo cáo kết quả. Điều trị DBS phân tích trước được thực hiện bằng cách sử dụng Abbott mSample Preparation System DBS Buffer Kit, trước khi đặt mẫu phẩm lên hệ thống m2000sp. Sau khi thực hiện điều trị DBS phân tích trước, tất cả các bước theo sau được tiến hành tự động bởi hệ thống m2000sp và m2000rt.

Tham khảo tờ hướng dẫn sử dụng của xét nghiệm Abbott RealTime HCV (Mã danh sách 4J86) để biết thêm thông tin về chuẩn bị mẫu, gắn RT-PCR, khuếch đại và phát hiện.

SỬ DỤNG MỞ RỘNG THUỐC THỬ KHUẾCH ĐẠI

Tính năng sử dụng mở rộng thuốc thử khuếch đại tùy chọn cho phép sử dụng các gói thuốc thử khuếch đại và IC tổng cộng 2 lần. Các gói thuốc thử khuếch đại chứa hỗn hợp master mix chuẩn bị sẵn có thể được bảo quản ở nhiệt độ -10°C hoặc lạnh hơn, đậy nắp và để xa ánh sáng, trong tối đa 14 ngày trước lần sử dụng thứ hai. Chất kiểm chuẩn nội bộ (IC) có thể được bảo

quản với tình trạng đầy nắp ở nhiệt độ -10°C hoặc lạnh hơn trong tối đa 14 ngày trước lần sử dụng thứ hai. Lần sử dụng thứ hai không được vượt quá ngày hết hạn của thuốc thử.

Tổng quan về tính năng này được cung cấp trong Phụ lục 1 của IFU này.

Xuýt suốt IFU này, các gói thuốc thử khuếch đại và IC vẫn chưa được sử dụng sẽ được tham chiếu là các gói thuốc thử khuếch đại và IC mới (nghĩa là sử dụng lần đầu). Các gói thuốc thử khuếch đại đã được sử dụng một lần và chứa hỗn hợp master mix chuẩn bị sẵn sẽ được tham chiếu là các gói thuốc thử khuếch đại một phần. Các lọ IC đã được sử dụng một lần sẽ được tham chiếu là lọ IC một phần.

NGĂN NHIỄM BẮN AXIT NUCLEIC

Tham khảo tờ hướng dẫn sử dụng của xét nghiệm Abbott RealTime HCV (Mã danh sách 4J86).

THUỐC THỬ

Tham khảo tờ hướng dẫn sử dụng của xét nghiệm Abbott RealTime HCV (Mã danh sách 4J86).

CẢNH BÁO VÀ CHÚ Ý

IVD

Dùng cho chẩn đoán **in vitro** (trong ống nghiệm)

Xét nghiệm Abbott RealTime HCV cho DBS không được dùng để sàng lọc HCV trong máu, huyết tương, huyết thanh hoặc mô miễn hoặc dùng như xét nghiệm chẩn đoán để xác nhận sự hiện diện của nhiễm HCV.

BIỆN PHÁP PHÒNG NGỪA

Tham khảo tờ hướng dẫn sử dụng của xét nghiệm Abbott RealTime HCV (Mã danh sách 4J86). Xét nghiệm RealTime HCV cho DBS chỉ sử dụng thiết bị m2000sp và m2000rt

BIỆN PHÁP ĐẶC BIỆT

Biện pháp phòng ngừa khi xử lý mẫu phẩm DBS

Xét nghiệm Abbott RealTime HCV cho DBS chỉ được sử dụng với mẫu phẩm DBS hoặc máu toàn phần đã được xử lý và bảo quản như mô tả trong phần **THU THẬP, BẢO QUẢN VÀ VẬN CHUYỂN MẪU ĐẾN CƠ SỞ XÉT NGHIỆM**.

Tham khảo tờ hướng dẫn sử dụng của xét nghiệm Abbott RealTime HCV (Mã danh sách 4J86).

Các biện pháp phòng ngừa xử lý cụ thể cho DBS:

- Đảm bảo các thẻ DBS được để khô hoàn toàn trước khi bảo quản trong túi có túi hút ẩm. Phát hiện, để khô, bảo quản và xử lý DBS không thích hợp có thể dẫn đến kết quả xét nghiệm không chính xác.
- Để tránh nhiễm bẩn lan truyền, hãy sử dụng đầu pipette mới cho mỗi mẫu DBS khi lấy giọt máu ra khỏi thẻ DBS được đục lỗ. Nếu sử dụng thẻ DBS không đục lỗ, hãy đảm bảo dụng cụ dùng để thao tác mẫu được khử nhiễm trước và sau khi tiếp xúc với mẫu DBS.

Khu vực làm việc

Chỉ hai khu vực dành riêng, Khu vực chuẩn bị mẫu và Khu vực khuếch đại được khuyến nghị khi Abbott m2000sp và Abbott m2000rt được sử dụng.

Tham khảo tờ hướng dẫn sử dụng của xét nghiệm Abbott RealTime HCV (Mã danh sách 4J86).

Nhiễm bẩn sol khí

Tham khảo tờ hướng dẫn sử dụng của xét nghiệm Abbott RealTime HCV (Mã danh sách 4J86).

Nhiễm bẩn và ức chế

Tham khảo tờ hướng dẫn sử dụng của xét nghiệm Abbott RealTime HCV (Mã danh sách 4J86).

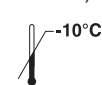
Nhiễm bẩn từ sản phẩm được khuếch đại chứa dU bên ngoài

Các phòng thí nghiệm sử dụng hoặc đã sử dụng xét nghiệm khuếch đại HCV bao gồm xử lý trước PCR sản phẩm được khuếch đại có thể bị nhiễm bẩn bởi sản phẩm được khuếch đại chứa dU. Nhiễm bẩn như vậy có thể gây ra kết quả không chính xác trong xét nghiệm Abbott RealTime HCV cho DBS. Tham khảo phần **Giám sát sự hiện diện của chất nhiễm bẩn trong phòng thí nghiệm** của tờ hướng dẫn sử dụng xét nghiệm Abbott RealTime HCV (Mã danh sách 4J86). Khi chất kiểm chuẩn âm tính phản ứng liên tục hoặc khi việc nhiễm bẩn với sản phẩm được khuếch đại HCV chứa dU có khả năng xảy ra, chúng tôi khuyến phòng thí nghiệm nên sử dụng quy trình kiểm chuẩn

nhiễm bẩn uracil-N-glycosylase (UNG) nếu khử nhiễm phòng thí nghiệm không thành công.

CHỈ DẪN BẢO QUẢN

Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit (Mã danh sách 4J86-90)



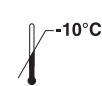
- Các gói Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Packs **mới** và **một phần** và các lọ Internal Control (IC) phải được bảo quản ở nhiệt độ -10°C hoặc lạnh hơn khi không sử dụng. Phải cẩn thận khi tách Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Pack đang sử dụng để tránh tiếp xúc trực tiếp với mẫu, mẫu chuẩn và chất kiểm chuẩn.
- Các gói thuốc thử khuếch đại và IC **một phần** phải được bảo quản ở nhiệt độ -10°C hoặc lạnh hơn, được đầy nắp, dựng thẳng và tránh ánh sáng, sau khi sử dụng lần đầu. Nếu được bảo quản theo cách này, các gói thuốc thử khuếch đại **một phần** với hỗn hợp master mix chuẩn bị sẵn có thể được dùng lần thứ hai trong vòng 14 ngày sau khi sử dụng lần đầu. IC cũng có thể được sử dụng lần hai trong vòng 14 ngày sau khi sử dụng lần đầu, nếu được bảo quản trong tình trạng đầy nắp ở nhiệt độ -10°C hoặc lạnh hơn. Sau hai lần sử dụng, các gói thuốc thử khuếch đại và IC một phần nên được thải bỏ. Lần sử dụng thứ hai không được vượt quá ngày hết hạn của thuốc thử.

Abbott RealTime HCV Control Kit (Mã danh sách 4J86-80)



- Abbott RealTime HCV Negative and Positive Controls phải được bảo quản ở nhiệt độ -10°C hoặc lạnh hơn.

Abbott RealTime HCV Calibrator Kit (Mã danh sách 4J86-70)



- Abbott RealTime HCV Calibrator A and Calibrator B phải được bảo quản ở nhiệt độ -10°C hoặc lạnh hơn.

ĐIỀU KIỆN VẬN CHUYỂN

Tham khảo tờ hướng dẫn sử dụng của xét nghiệm Abbott RealTime HCV (Mã danh sách 4J86).

DẤU HIỆU THUỐC THỬ KHÔNG ỔN ĐỊNH HOẶC XUỐNG CẤP

Tham khảo tờ hướng dẫn sử dụng của xét nghiệm Abbott RealTime HCV (Mã danh sách 4J86).

QUY TRÌNH THIẾT BỊ

Tập tin ứng dụng Abbott RealTime HCV for DBS phải được cài đặt trên hệ thống Abbott m2000sp và Abbott m2000rt từ Abbott RealTime HCV m2000 ROW System Combined Application CD-ROM (Mã danh sách 1L69-040 hoặc cao hơn) trước khi thực hiện xét nghiệm. Để biết thông tin chi tiết về việc cài đặt tập tin ứng dụng, hãy tham khảo Hướng dẫn vận hành Abbott m2000sp và Abbott m2000rt, phần Hướng dẫn vận hành.

THU THẬP, BẢO QUẢN VÀ VẬN CHUYỂN MẪU ĐẾN CƠ SỞ XÉT NGHIỆM

Thu thập và bảo quản mẫu phẩm

- Để chuẩn bị DBS, hãy sử dụng kim chích đầu ngón tay hoặc máu toàn phần EDTA. Máu toàn phần EDTA nên được duy trì dưới điều kiện nhiệt độ được kiểm soát trong khi bảo quản và vận chuyển (2°C đến 8°C trong tối đa 48 giờ, hoặc nhiệt độ xung quanh không vượt 30°C trong tối đa 24 giờ).
- Máu toàn phần EDTA được thu thập trong ống nên được trộn kỹ bằng cách đảo ngược nhẹ nhàng trước khi lấy giọt. Lấy giọt máu lên vòng tròn 1/2 inch (12 mm) trên thẻ giấy Ahlstrom-Munktell TFN hoặc Whatman 903, đảm bảo phủ toàn bộ vòng tròn. Chúng tôi khuyến nên sử dụng ít nhất 70 µL máu (khoảng 3 đến 5 giọt máu) cho mỗi vòng tròn để đảm bảo phủ hoàn toàn.
- Để khô thẻ ở nhiệt độ xung quanh trong tối thiểu 3 giờ. Đóng gói từng thẻ vào túi dán kín có túi chống ẩm (ít nhất 2 đến 3 gói chống ẩm).
- Thẻ mẫu DBS có thể được bảo quản dưới điều kiện đã định trong bảng bên dưới trước quy trình xét nghiệm.

Bảo quản thẻ mẫu DBS	
Điều kiện	Thời gian bảo quản tối đa
2°C đến 30°C ở độ ẩm môi trường	18 tuần
≤37°C ở độ ẩm môi trường	12 tuần
≤45°C ở độ ẩm môi trường	8 tuần
≤38°C ở độ ẩm cao (≤ 85%)	4 tuần
-25°C đến -15°C ở độ ẩm môi trường	18 tuần
-70°C hoặc lạnh hơn ở độ ẩm môi trường	18 tuần

Vận chuyển mẫu phẩm

Vận chuyển mẫu phẩm theo nhiệt độ và thời gian bảo quản đề xuất được liệt kê trong phần **Thu thập và bảo quản mẫu phẩm** ở trên. Để vận chuyển trong nước và quốc tế, nên đóng gói và dán nhãn mẫu phẩm theo tình trạng áp dụng, quy định của liên bang và quốc tế đề cập đến việc vận chuyển mẫu phẩm lâm sàng, chẩn đoán hoặc sinh học.

QUY TRÌNH XÉT NGHIỆM ABBOTT REALTIME HCV CHO DBS

Các vật liệu không đi kèm nhưng cần thiết

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

Đối với khu vực chuẩn bị mẫu của Abbott m2000sp Instrument

- Abbott mSample Preparation System DBS Buffer Kit (Mã danh sách 09N02-001)
- Abbott m2000sp instrument (Mã danh sách 9K14-01, 9K14-02)
- Abbott mSample Preparation System (4 × 24 Preps) (Mã danh sách 04J70-24)
- Pipette được hiệu chuẩn chính xác có khả năng cung cấp 20 đến 1000 µL (Pipette được hiệu chuẩn chính xác có khả năng cung cấp 20 µL có thể cần nếu sử dụng UNG.)
- Đầu pipette màng ngăn sol khí cho pipette 20 đến 1000 µL (Đầu pipette màng ngăn sol khí có khả năng cung cấp < 20 µL có thể cần nếu sử dụng UNG.)
- Máy trộn mẫu vortex
- Master Mix Tube (Mã danh sách 04J71-80)
- Abbott 96-Deep-Well Plate (Mã danh sách 04J71-30)
- 5 mL Reaction Vessels (Mã danh sách 04J71-20)
- 200 mL reagent vessels (Mã danh sách 04J71-60)
- Abbott 96-Well Optical Reaction Plate (Mã danh sách 04J71-70)
- Abbott Optical Adhesive Covers (Mã danh sách 04J71-75)
- Abbott Adhesive Cover Applicators (Mã danh sách 9K32-01)
- Abbott Splash-Free Support Base (Mã danh sách 9K31-01)
- Abbott RealTime HCV m2000 ROW System Combined Application CD-ROM (Mã danh sách 1L69-040 hoặc cao hơn)
- m2000 System 13mm DBS-PoS Set (Mã danh sách 09N03-001)
- 1.4 mL Micro Vial 15mm Caps (Mã danh sách 3N20-01) tùy chọn
- Uracil N-Glycosylase (UNG)^a (Mã danh sách 6L87-02)

^a Nếu cần, theo **Nhiễm bẩn từ sản phẩm được khuếch đại chứa DU bên ngoài** của IFU này.

Đối với Khu vực khuếch đại Abbott m2000rt Instrument

- Abbott m2000rt instrument (Mã danh sách 9K15-01)
- Abbott RealTime HCV m2000 ROW System Combined Application CD-ROM (Mã danh sách 1L69-040 hoặc cao hơn)
- Abbott m2000rt Optical Calibration Kit (Mã danh sách 04J71-93)

Các vật liệu khác

- Tủ an toàn sinh học được phê duyệt để làm việc với các vật liệu lây nhiễm
- Túi dán kín cho thẻ DBS
- Gối chống ẩm cho thẻ DBS
- Thẻ giấy Ahlstrom-Munktell TFN và/hoặc Whatman 903
- Túi nhựa dán kín để thải bỏ đĩa phản ứng 96 giếng

- Nước không có RNase (Eppendorf hoặc tương đương)^b
- 1,7 mL ống ly tâm cấp sinh học phân tử (Dot Scientific, Inc. hoặc tương đương)^b
- Cotton Tip Applicators (Puritan hoặc tương đương)^b

^b Lưu ý: 3 vật này được sử dụng trong quy trình Giám sát sự hiện diện của chất nhiễm bẩn trong phòng thí nghiệm. Tham khảo phần QUY TRÌNH KIỂM SOÁT CHẤT LƯỢNG trong tờ hướng dẫn sử dụng của xét nghiệm Abbott RealTime HCV (Mã danh sách 4J86).

Biện pháp phòng ngừa quy trình

- Đọc chỉ dẫn trong IFU này cẩn thận trước khi xử lý mẫu phẩm.
- Thuốc thử khuếch đại và chất kiểm chuẩn nội bộ có thể được sử dụng tối đa 2 lần, như mô tả trong IFU này. Các lọ Abbott RealTime HCV Calibrators, Negative Control, Low Positive Control, và High Positive Control được thiết kế để sử dụng một lần và nên thải bỏ sau khi sử dụng.
- Chỉ sử dụng 1 lần đầu pipette màng ngăn sol khí hoặc pipette dùng một lần khi pipet mẫu phẩm hoặc IC. Để ngăn nhiễm bẩn màng ngăn pipette trong khi pipet, hãy cẩn thận để tránh chạm màng ngăn pipette vào bên trong ống mẫu hoặc vật chứa. Việc sử dụng mở rộng đầu pipette màng ngăn sol khí được khuyến nghị.
- Quy trình giám sát sự hiện diện của sản phẩm khuếch đại có trong phần **QUY TRÌNH KIỂM SOÁT CHẤT LƯỢNG**.
- Để giảm rủi ro nhiễm bẩn axit nucleic, hãy lau và khử trùng mẫu phẩm đổ tràn bằng cách sử dụng chất khử trùng lao chẳng hạn như 1,0% sodium hypochlorite hoặc chất khử trùng thích hợp khác.
- Abbott RealTime HCV Calibrators and Controls phải được chuẩn bị cùng với mẫu phẩm sẽ được xét nghiệm. Việc sử dụng Abbott RealTime HCV Controls và Calibrators là thiết yếu cho tính hiệu quả của xét nghiệm Abbott RealTime HCV. Tham khảo phần **QUY TRÌNH KIỂM SOÁT CHẤT LƯỢNG**.
- Quy trình thêm Abbott m2000sp Master Mix phải được bắt đầu trong vòng 1 giờ sau khi hoàn tất việc Chuẩn bị mẫu.
- Nếu quy trình thêm Abbott m2000sp Master Mix được hủy, thì hãy thải bỏ thuốc thử khuếch đại được sử dụng lần thứ hai. Các gói thuốc thử mới được sử dụng lần đầu tiên có thể được lưu lại và bảo quản để sử dụng sau theo mô tả trong hướng dẫn này.
- Quy trình m2000rt phải được bắt đầu trong vòng 50 phút sau khi bắt đầu quy trình Thêm hỗn hợp master mix. Nếu Abbott m2000rt instrument không được bắt đầu trong vòng 50 phút hoặc bị ngắt quãng hoặc hủy bỏ, đặt kín Abbott 96-Well Optical Reaction Plate trong túi nhựa dán kín và thải bỏ theo Hướng dẫn vận hành Abbott m2000rt cùng với găng tay được dùng để xử lý đĩa.

QUAN TRỌNG: Thuốc thử khuếch đại sẽ được sử dụng lần thứ hai phải được bảo quản ở nhiệt độ -10°C hoặc lạnh hơn trong vòng 50 phút sau khi bắt đầu quy trình thêm hỗn hợp master mix.

QUY TRÌNH XÉT NGHIỆM: MẪU DBS SỬ DỤNG ABBOTT m2000sp VÀ ABBOTT m2000rt INSTRUMENTS

Để biết mô tả chi tiết cách thực hiện quy trình Abbott m2000sp instrument và Abbott m2000rt instrument, hãy tham khảo Hướng dẫn vận hành Abbott m2000sp and Abbott m2000rt, phần Hướng dẫn vận hành. Quy trình DBS cần Abbott m2000sp Software phiên bản 6.0 hoặc cao hơn. Vui lòng làm theo Hướng dẫn vận hành Abbott m2000sp (Mã danh sách 09K20 phiên bản 6 hoặc cao hơn).

Tổng cộng 96 mẫu có thể được xử lý mỗi lần chạy. Chất kiểm chuẩn âm tính, chất kiểm chuẩn dương tính thấp và chất kiểm chuẩn dương tính cao được bao gồm mỗi lần chạy, vì vậy, cho phép xử lý tối đa 93 mẫu DBS mỗi lần chạy khi không có mẫu chuẩn. Xử lý mẫu chuẩn và chất kiểm chuẩn trực tiếp như mẫu chất lỏng; bước 1 đến bước 5 chỉ dành cho DBS. Không được xử lý mẫu huyết tương hoặc huyết thanh trên mọi lần chạy khi sử dụng quy trình DBS. Với mỗi mẫu DBS, nên sử dụng một Abbott Master Mix Tube duy nhất cho toàn bộ quy trình xử lý mẫu. Đảm bảo mẫu DBS được dán nhãn xuyên suốt quy trình xử lý.

- Nạp đầy Abbott Master Mix Tube với 1,3 mL dung dịch đệm mDBS từ hệ thống Abbott mSample DBS Buffer Kit (Mã danh sách 09N02-001).

LƯU Ý: Không sử dụng mLysis Buffer hoặc bất kỳ thuốc thử nào khác cho bước này

- Cầm thẻ giấy DBS được đục lỗ trên Abbott Master Mix Tube.
- Đẩy vòng DBS ra khỏi thẻ bằng đầu pipette sạch, 1 vòng DBS mỗi Master Mix Tube. Mỗi DBS nên có đường kính khoảng 1/2 inch (12 mm).

LƯU Ý: SỬ DỤNG ĐẦU PIPETTE MỚI CHO MỖI MẪU DBS ĐỂ NGĂN NHIỄM BÀN CHÉO.

Hoặc, cắt từ giấy DBS không đục lỗ ra 1 DBS toàn bộ (đường kính xấp xỉ 1/2 inch) cho mỗi mẫu phẩm và chuyển vào Master Mix Tube.

LƯU Ý: Tránh tiếp xúc trực tiếp mẫu phẩm DBS với bề mặt cắt. Khi nhuộm dụng cụ dùng để cắt DBS giữa các mẫu phẩm DBS nếu cần, theo phương pháp tốt trong phòng thí nghiệm.

- Đảm bảo vòng DBS hoàn toàn chìm vào mDBS Buffer bằng cách vỗ nhẹ vào ống hoặc dùng đầu pipette đẩy DBS vào dung dịch đệm.

LƯU Ý: Nếu đầu pipette được dùng để đẩy DBS vào dung dịch đệm, hãy đảm bảo đầu pipette không làm dung dịch đệm DBS hao thể tích do dung dịch chứa trong đầu và/hoặc bộ phận lọc của đầu hấp thụ dung dịch đệm.

- Lắc hoặc xoay ống mẫu theo cách thủ công. Không tạo xoáy mẫu. Ủ trong 30 phút (± 2 phút) ở nhiệt độ xung quanh.
- Trong khi đó, rửa đồng chất kiểm chuẩn xét nghiệm và chất kiểm chuẩn nội bộ (IC) từ 15°C đến 30°C hoặc từ 2°C đến 8°C. Rửa đồng mẫu chuẩn từ 15°C đến 30°C hoặc từ 2°C đến 8°C chỉ khi thực hiện chạy mẫu chuẩn.

LƯU Ý: Sau khi rửa đồng, chất kiểm chuẩn xét nghiệm, IC và mẫu chuẩn có thể được bảo quản từ 2°C đến 8°C trong tối đa 24 giờ trước khi sử dụng.

- Tạo xoáy mỗi mẫu chuẩn xét nghiệm và mỗi chất kiểm chuẩn 3 lần trong 2 đến 3 giây trước khi sử dụng. Đảm bảo chất kiểm chuẩn cho mỗi lọ nằm ở đáy bằng cách gõ nhẹ lọ lên bàn để chất lỏng lắng xuống đáy lọ. Đảm bảo không tạo bọt hoặc bong bóng; nếu có, hãy loại bỏ bằng đầu pipette khử trùng, bằng đầu mới cho mỗi lọ.
- Rửa đồng thuốc thử khuếch đại từ 15°C đến 30°C hoặc từ 2°C đến 8°C và bảo quản từ 2°C đến 8°C đến khi cần cho quy trình hỗn hợp master mix khuếch đại.
- Chọn các gói thuốc thử khuếch đại mới và/hoặc một phần sẽ sử dụng trong lần chạy. Tham khảo Hướng dẫn vận hành Abbott m2000sp (Mã danh sách 09K20 phiên bản 6 hoặc cao hơn), phần Hướng dẫn vận hành, để biết chỉ dẫn về quản lý tồn kho gói thuốc thử khuếch đại. Các gói thuốc thử khuếch đại phải có cùng số lô. Rửa đồng thuốc thử khuếch đại mới từ 15°C đến 30°C hoặc từ 2°C đến 8°C và bảo quản từ 2°C đến 8°C đến khi cần cho quy trình hỗn hợp master mix khuếch đại.

LƯU Ý: Sau khi rửa đồng, thuốc thử khuếch đại mới có thể được bảo quản từ 2°C đến 8°C trong tối đa 24 giờ nếu không sử dụng ngay. Các gói thuốc thử khuếch đại một phần được sử dụng lần thứ hai KHÔNG nên được bảo quản từ 2°C đến 8°C trước khi sử dụng. Nên giữ chúng ở nhiệt độ -10°C hoặc lạnh hơn đến khi cần để thêm hỗn hợp master mix. Sau khi lấy ra khỏi tủ đông, không nên tiếp xúc với nhiệt độ phòng tích lũy quá 25 phút, bao gồm các chất trong gói được lấy ra khỏi nơi bảo quản nhưng không được sử dụng. Nếu qua 25 phút, hãy thải bỏ các gói thuốc thử khuếch đại một phần.

Bảng sau cho thấy số thuốc thử chuẩn bị mẫu và lọ chất kiểm chuẩn nội bộ cần dựa trên số phản ứng.

Yêu cầu đối với chất kiểm chuẩn nội bộ và thuốc thử chuẩn bị mẫu				
Thuốc thử	1 đến 24 phản ứng	25 đến 48 phản ứng	49 đến 72 phản ứng	73 đến 96 phản ứng
mMicroparticles	1 chai	2 chai	2 chai	2 chai
mLysis	1 chai	2 chai	3 chai	4 chai
mWash 1	1 chai	2 chai	3 chai	4 chai
mWash 2	1 chai	2 chai	3 chai	4 chai
mElution Buffer	1 chai	2 chai	3 chai	4 chai
Internal Control ^a	1 lọ mới hoặc 1 lọ một phần	1 lọ mới hoặc 2 lọ một phần	2 lọ mới hoặc 3 lọ một phần	2 lọ mới hoặc 4 lọ một phần

^a Có thể sử dụng kết hợp các lọ Chất kiểm chuẩn nội bộ mới và một phần.

- Nhẹ nhàng đảo các chai Abbott mSample Preparation để đảm

bảo có dung dịch đồng nhất. Nếu nhìn thấy tinh thể trong bất kỳ chai thuốc thử nào sau khi mở, hãy để thuốc thử cân bằng ở nhiệt độ phòng đến khi tinh thể biến mất. Không sử dụng thuốc thử đến khi tinh thể tan hết.

- Tạo xoáy mỗi IC 3 lần trong 2 đến 3 giây trước khi sử dụng.
- Sử dụng pipette chính xác chuẩn **CHỈ DÀNH CHO CHẤT KIỂM CHUẨN NỘI BỘ** để thêm 500 μ L IC vào từng chai mLysis Buffer. Trộn nhẹ bằng cách đảo vật chứa 5 đến 10 lần để tạo ít bọt nhất có thể. Có thể đóng nắp lại và bảo quản các lọ IC một phần ở -10°C hoặc lạnh hơn để sử dụng lần hai.
- Cho chất kiểm chuẩn dương tính cao và thấp, chất kiểm chuẩn âm tính và mẫu chuẩn, nếu có, vào giá để mẫu Abbott m2000sp.
- Sau khi ủ hoàn tất, lắc hoặc xoay theo cách thủ công các ống mẫu DBS rồi đặt vào giá để mẫu Abbott m2000sp.
- LƯU Ý: Đảm bảo giá để mẫu Abbott m2000sp đã được kiểm chuẩn đặc biệt cho quy trình Abbott RealTime HCV cho DBS.**
- Đặt giá để mẫu cẩn thận để tránh bắn ra. Nếu sử dụng, mã vạch của nhãn ống phải hướng thẳng để quét. Đảm bảo từng ống được đặt chắc chắn vào giá để mẫu sao cho đáy ống chạm vào đáy trong của giá.
- Đặt mẫu đã đổ đầy lên Abbott m2000sp theo vị trí giá để mẫu liên tiếp, với giá đầu tiên nằm xa nhất về bên phải trên bàn làm việc và mọi giá bổ sung xếp dần về phía bên trái của giá đầu tiên.
- Đặt 5 mL Reaction Vessels vào giá hệ thống con Abbott m2000sp 1 mL.
- Đặt thuốc thử Abbott mSample Preparation System và Abbott 96 Deep-Well Plate vào bàn làm việc Abbott m2000sp như mô tả trong Hướng dẫn vận hành Abbott m2000sp, phần Hướng dẫn vận hành.
- Từ màn hình Protocol, chọn tập tin ứng dụng HCV RNA DBS. Khởi chạy quy trình chiết xuất mẫu như mô tả trong Hướng dẫn vận hành Abbott m2000sp, phần Hướng dẫn vận hành.
- Nhập mẫu chuẩn (nếu đường cong chuẩn không được lưu trên m2000sp) và kiểm soát giá trị cụ thể theo lô trong Sample Extraction: các trường Worktable Setup, Calibrator và Control. Giá trị cụ thể theo lô được xác định trong từng Abbott RealTime HCV Calibrator and Control Kit Card.
- Quy trình thêm Abbott m2000sp Master Mix (bước 28) phải được bắt đầu trong vòng 1 giờ sau khi hoàn tất Sample Preparation.

LƯU Ý: Đeo găng tay trước khi xử lý thuốc thử khuếch đại.

- Đặt thuốc thử khuếch đại và ống hỗn hợp master mix (nếu cần) vào bàn làm việc Abbott m2000sp sau khi hoàn tất chuẩn bị mẫu. Bảng sau cho thấy số gói thuốc thử khuếch đại cần thiết dựa trên số phản ứng. Nếu chỉ sử dụng 1 gói thuốc thử khuếch đại thì không cần ống hỗn hợp master mix.

Yêu cầu đối với gói 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 nếu mới; tối đa 4 với các gói một phần	2 nếu mới; tối đa 4 với các gói một phần	3 nếu mới; tối đa 4 với các gói một phần	4 gói mới hoặc một phần

^a Tham khảo Hướng dẫn sử dụng Abbott m2000sp (Mã danh sách 09K20 phiên bản 6 hoặc cao hơn) để biết chỉ dẫn quản lý tồn kho nhằm xác định số phản ứng tối đa có thể được xét nghiệm bằng các gói một phần đã chọn.

- Chỉ có thể sử dụng các gói thuốc thử khuếch đại một phần trên Abbott m2000sp instrument dùng để chuẩn bị gói thuốc thử ban đầu. Dùng gói thuốc thử khuếch đại lần thứ hai trên thiết bị khác sẽ gặp lỗi, làm chậm việc chạy.
- Các gói thuốc thử khuếch đại một phần và mới có thể được sử dụng cùng nhau.

QUAN TRỌNG: Nên bảo quản các gói thuốc thử khuếch đại một phần ở -10°C hoặc lạnh hơn ngay trước khi sử dụng lần hai. Xác nhận hỗn hợp master mix được rửa đồng trước khi đặt (các) gói một phần lên bàn làm việc Abbott m2000sp. Sau khi lấy ra khỏi nơi bảo quản -10°C hoặc lạnh hơn, các gói thuốc thử khuếch đại một phần được sử dụng lần hai phải được dùng trong vòng 25 phút hoặc thải bỏ. Điều này áp dụng cho tiếp xúc nhiệt độ phòng tích lũy, bao gồm các chất trong gói được lấy ra khỏi nơi bảo quản nhưng không được sử dụng.

23. Đảm bảo thành phần trong các gói thuốc thử khuếch đại mới nằm ở đáy lọ trước khi mở thuốc thử khuếch đại bằng cách vỗ nhẹ lọ theo vị trí thẳng đứng trên bàn 5 đến 10 lần.
- Không được vỗ các gói thuốc thử khuếch đại một phần được sử dụng lần hai. Làm vậy có thể làm hao thể tích hỗn hợp master mix vì dính trong nắp.
24. Tháo nắp. Nếu gói thuốc thử khuếch đại mới được bảo quản để sử dụng lần hai thì cần đóng nắp lọ lại để bảo quản. Nếu định tái sử dụng nắp ban đầu để đậy lọ thuốc thử, hãy giữ lại nắp ban đầu. Nếu định sử dụng nắp mới để đậy lọ thuốc thử thì có thể tháo bỏ nắp ban đầu.
- Nếu uracil N-glycosylase (UNG) được dùng để kiểm chuẩn nhiễm bản, hãy làm theo chỉ dẫn bên dưới.**
25. Sử dụng PIPETTE DÀNH RIÊNG CHO THUỐC THỬ để thêm 1 U/μL UNG cụ thể (Mã danh sách 6L87-02) vào lọ thuốc thử ở vị trí 3 của gói thuốc thử khuếch đại mới và một phần. Trộn thủ công bằng cách nhúng pipette lên và xuống cho tất cả các gói một phần. Không được trộn gói mới.
- Sử dụng bảng bên dưới để xác định lượng UNG sẽ thêm vào lọ thuốc thử ở vị trí 3 của gói thuốc thử khuếch đại mới và một phần. Lọ thuốc thử ở vị trí 3 của gói thuốc thử mới chứa rTth polymerase enzyme bền nhiệt. Lọ thuốc thử ở vị trí 3 của gói thuốc thử một phần chứa hỗn hợp master mix.

Lượng UNG để thêm vào lọ thuốc thử ở vị trí 3 của từng gói thuốc thử khuếch đại	
Số test thử còn trong gói	Thêm lượng UNG này (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 (gói mới)	27

- LƯU Ý:** Lượng UNG được thêm vào lọ thuốc thử ở vị trí 3 phụ thuộc vào số test thử còn lại trong gói thuốc thử chứ không phải số mẫu đang được chạy. Tham khảo Hướng dẫn vận hành Abbott m2000sp để biết chỉ dẫn về quản lý tồn kho gói thuốc thử khuếch đại và cách xác định số test thử còn lại trong gói thuốc thử.
26. Các gói thuốc thử khuếch đại một phần được đặt vào bên trái của các gói thuốc thử khuếch đại mới trên bàn làm việc Abbott m2000sp.
27. Đảm bảo các gói thuốc thử khuếch đại nằm chắc chắn trong thiết bị.
28. Chọn đĩa sâu lòng thích hợp khớp với chiết xuất chuẩn bị mẫu tương ứng. Khởi chạy quy trình thêm Abbott m2000sp Master

Mix. Làm theo chỉ dẫn được mô tả trong Hướng dẫn vận hành Abbott m2000sp, phần Hướng dẫn vận hành.

LƯU Ý: Người vận hành không được đổ đầy bằng cách thủ công bất kỳ giếng trống/chưa đổ nào trong Abbott 96-Well Optical Reaction Plate.

- Sau khi hoàn tất chiết xuất mẫu, Abbott m2000sp tự động đổ đầy mọi giếng trống trong Abbott 96-Well Optical Reaction Plate với m dung dịch đệm rửa trôi nhiều hơn 48 mẫu được xử lý trong một lần chạy. Đĩa đầy không được thực hiện chứa 48 mẫu hoặc ít hơn.
- Nếu được thiết bị nhắc, Reagent Carrier 2 nên giữ nguyên vị trí, tối thiểu chứa bình đựng thuốc thử cho mElution Buffer (Reagent Carrier 2, vị trí 6). Nếu bình đựng thuốc thử này được lấy ra, hãy đặt bình đựng thuốc thử mới với nhãn mElution Buffer và Reagent Carrier 2, vị trí 6. Dung dịch hệ thống sẽ được thêm vào bình đựng thuốc thử và được dùng để đổ đầy giếng trống. Sau khi quy trình hoàn tất, hệ thống sẽ tiếp tục với quy trình thêm hỗn hợp master mix.

LƯU Ý: Chỉ dẫn hệ thống để sử dụng tính năng nạp đĩa tự động có trong Hướng dẫn vận hành Abbott m2000sp (Mã danh sách 09K20 phiên bản 6 hoặc cao hơn), phần 5, Hướng dẫn vận hành, Chế độ chiết xuất mẫu 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 hủy bỏ vì bất kỳ lý do nào sau bước 28, Abbott 96-Well Optical Reaction Plate mới phải được sử dụng nếu quy trình thêm Abbott m2000sp Master Mix (bước 28) được lặp lại.

29. Bật và khởi chạy thiết bị Abbott m2000rt trong Khu vực khuếch đại.

LƯU Ý: Abbott m2000rt cần 15 phút để làm nóng.

LƯU Ý: Tháo găng tay trước khi trở lại khu vực chuẩn bị mẫu

30. Đóng kín Abbott 96-Well Optical Reaction Plate sau khi thiết bị Abbott m2000sp đã hoàn tất thêm mẫu và hỗn hợp master mix theo Hướng dẫn vận hành Abbott m2000sp, phần Hướng dẫn vận hành.
31. Đặt đĩa phản ứng quang đầy kín vào Abbott Splash-Free Support Base để chuyển sang thiết bị Abbott m2000rt.

Nếu uracil N-glycosylase (UNG) được dùng, hãy làm theo chỉ dẫn bên dưới:

32. Chuyển đĩa quang đầy kín vào 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 Abbott 96-Well Optical Reaction Plate vào thiết bị Abbott Splash-Free Support Base to the Abbott m2000rt.
33. Đặt Abbott 96-Well Optical Reaction Plate trong thiết bị Abbott m2000rt. Từ màn hình Protocol, chọn tập tin ứng dụng HCV RNA DBS. Khởi chạy quy trình được mô tả trong Hướng dẫn vận hành m2000rt, phần Hướng dẫn vận hành.

LƯU Ý: Chuyển thử tự test thử thông qua việc sử dụng CD-ROM hoặc kết nối mạng với tính năng xuất và nhập của phần mềm m2000sp và m2000rt được khuyến nghị. Nếu đang tạo thử tự xét nghiệm Abbott m2000rt thủ công, hãy nhập ID mẫu trong vị trí khay PCR tương ứng theo lưới "Wells for Selected Plate", có trong màn hình chi tiết của "PCR Plate Results" trên Abbott m2000sp. Xem Phần 5 của Hướng dẫn vận hành Abbott m2000sp.

34. Nếu sử dụng gói thuốc thử khuếch đại một phần đã chuẩn bị lần thứ hai, hãy đậy 3 lọ thuốc thử với nắp đã giữ lại hoặc nắp mới (Mã danh sách 3N20-01) và bảo quản kịp thời thuốc thử ở -10°C hoặc lạnh hơn, tránh ánh sáng, và ở vị trí thẳng đứng. Loại bỏ bất kỳ gói thuốc thử khuếch đại đã cạn hoặc đã được sử dụng hai lần.

QUAN TRỌNG: Thuốc thử khuếch đại sẽ được sử dụng lần thứ hai phải được bảo quản ở nhiệt độ -10°C hoặc lạnh hơn trong vòng 50 phút sau khi bắt đầu quy trình thêm hỗn hợp master mix.

QUY TRÌNH SAU KHI XỬ LÝ

- Lấy Abbott 96 Deep-Well Plate khỏi bàn làm việc và tháo bỏ theo Hướng dẫn vận hành Abbott m2000sp.
- Đặt Abbott 96-Well Optical Reaction Plate vào túi nhựa dán kín và thải bỏ theo Hướng dẫn vận hành Abbott m2000rt cùng với găng tay được dùng để xử lý đĩa.
- Vệ sinh Abbott Splash-Free Support Base trước lần sử dụng tiếp theo, theo Hướng dẫn vận hành Abbott m2000rt.

QUY TRÌNH KIỂM SOÁT CHẤT LƯỢNG

Abbott m2000rt Optical Calibration

Tham khảo tờ hướng dẫn sử dụng của xét nghiệm Abbott RealTime HCV (Mã danh sách 4J86).

Hiệu chuẩn xét nghiệm

Tham khảo tờ hướng dẫn sử dụng của xét nghiệm Abbott RealTime HCV (Mã danh sách 4J86).

Đối với xét nghiệm DBS sử dụng m2000sp và m2000rt: Sau khi mẫu chuẩn Abbott RealTime HCV được chấp nhận và bảo quản, nó có thể được sử dụng trong 6 tháng. Trong thời gian này, tất cả các mẫu tiếp theo có thể được xét nghiệm mà không cần hiệu chuẩn thêm trừ khi:

- Abbott RealTime HCV Amplification Reagent Kit với số lô mới được sử dụng.
- Abbott mSample Preparation System (4 x 24 Preps) với số lô mới được sử dụng.
- Tập tin ứng dụng Abbott RealTime HCV RNA DBS mới được cài đặt.

Phát hiện ức chế

Tham khảo tờ hướng dẫn sử dụng của xét nghiệm Abbott RealTime HCV (Mã danh sách 4J86).

Chất kiểm chuẩn dương tính và âm tính

Tham khảo tờ hướng dẫn sử dụng của xét nghiệm Abbott RealTime HCV (Mã danh sách 4J86).

Giám sát sự hiện diện của chất nhiễm bẩn trong phòng thí nghiệm

Tham khảo tờ hướng dẫn sử dụng của xét nghiệm Abbott RealTime HCV (Mã danh sách 4J86).

KẾT QUẢ CHO MẪU PHẨM DBS

Kết quả nồng độ mẫu DBS được báo cáo từ quy trình chạy m2000rt DBS đại diện cho nồng độ virus HCV trong huyết tương của mẫu máu toàn phần mà mẫu DBS được lấy từ đó. Thiết bị Abbott m2000rt tự động báo cáo kết quả trên trạm máy Abbott m2000rt. Kết quả xét nghiệm có thể được báo cáo theo Đơn vị quốc tế IU/mL hoặc Log IU/mL.

Diễn giải kết quả

Diễn giải	kết quả
Không phát hiện	Không phát hiện mục tiêu
<2,66 Log IU/mL ^a	Phát hiện được
2,66 đến 8,00 Log IU/mL	
>8,00 Log IU/mL	> ULQ ^b

^a 462 IU/mL

^b ULQ = giới hạn số lượng trên

HẠN CHẾ CỦA QUY TRÌNH

- DÙNG CHO CHẨN ĐOÁN IN VITRO (TRONG ống NGHIỆM)**
- Hiệu suất tối ưu của xét nghiệm này yêu cầu thu thập, bảo quản và vận chuyển mẫu thích hợp đến cơ sở xét nghiệm (tham khảo phần **THU THẬP, BẢO QUẢN VÀ VẬN CHUYỂN MẪU ĐẾN CƠ SỞ XÉT NGHIỆM** của tờ hướng dẫn sử dụng này).
- Mẫu máu toàn phần được thu thập trong các ống EDTA có thể được sử dụng để tạo DBS được xét nghiệm bằng xét nghiệm Abbott RealTime HCV cho DBS. Việc sử dụng các thuốc chống đông máu khác chưa được xác thực bằng xét nghiệm Abbott RealTime HCV cho DBS.
- Việc sử dụng xét nghiệm Abbott RealTime HCV cho DBS chỉ giới hạn ở nhân viên đã được đào tạo về quy trình chuẩn bị và xử lý trước DBS, xét nghiệm chẩn đoán phân tử và hệ thống Abbott m2000.
- Các thiết bị và quy trình xét nghiệm làm giảm nguy cơ nhiễm bẩn bởi sản phẩm khuếch đại. Tuy nhiên, nhiễm bẩn axit nucleic từ các mẫu chuẩn, chất kiểm chuẩn dương tính hoặc mẫu thử phải được kiểm soát bằng các phương pháp tốt trong phòng thí nghiệm và tuân thủ cẩn thận các quy trình quy định trong tờ hướng dẫn sử dụng này.
- Như với bất kỳ xét nghiệm chẩn đoán nào, kết quả từ xét nghiệm Abbott RealTime HCV cho DBS nên được diễn giải cùng với các kết quả lâm sàng và xét nghiệm khác. Một mẫu phẩm có kết quả là “Không phát hiện được” có thể được coi là âm tính với HCV RNA.

- Thu thập, để khô, bảo quản và xử lý thẻ DBS không thích hợp có thể dẫn đến kết quả xét nghiệm không chính xác.
- Có thể sử dụng thẻ Ahlstrom-Munktel TFN và Whatman 903 DBS. Việc sử dụng các thẻ khác chưa được xác thực với xét nghiệm Abbott RealTime HCV.

ĐẶC TÍNH HIỆU QUẢ CỤ THỂ CHO MẪU PHẨM DBS

Giới hạn phát hiện (LOD)

LOD của xét nghiệm Abbott RealTime HCV là 462 IU/mL với loại mẫu DBS. LOD được xác định bằng cách xét nghiệm các mẫu DBS được chuẩn bị với một loạt dung dịch pha loãng theo Tiêu chuẩn quốc tế của WHO về RNA virus viêm gan C được pha loãng trong mẫu toàn phần âm tính HCV. Xét nghiệm cho từng nồng độ HCV RNA được thực hiện với 4 thuốc thử khuếch đại trong 3 ngày. Kết quả đại diện cho độ nhạy phân tích của xét nghiệm Abbott RealTime HCV cho DBS, được tóm tắt trong **Bảng 1**.

Bảng 1. Giới hạn phát hiện (LOD) của Abbott RealTime HCV cho DBS

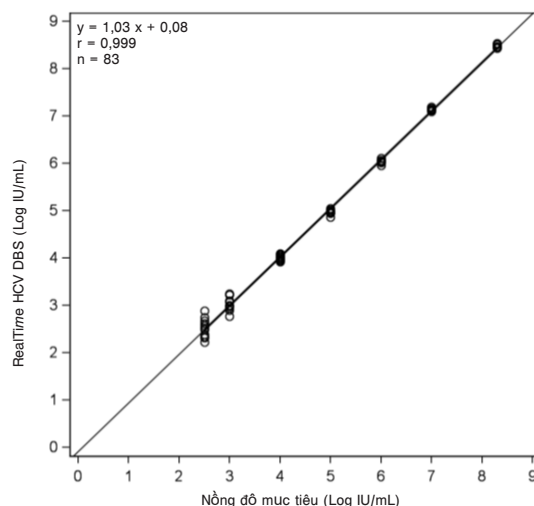
HCV RNA (IU/mL)	Số lượng được xét nghiệm	Số lượng được phát hiện	Phần trăm phát hiện
500	84	83	99
400	84	80	95
350	84	75	89
300	84	73	87
150	84	54	64
50	84	26	31

Phân tích probit của dữ liệu xác định rằng nồng độ HCV RNA được phát hiện từ vết máu khô với xác suất 95% là 462 IU/mL (95% CI từ 381 đến 593 IU/mL).

Khoảng tuyến tính

Giới hạn định lượng trên (ULQ) cho xét nghiệm Abbott RealTime HCV là 100 triệu IU/mL và giới hạn định lượng dưới tương đương với LOD (462 IU/mL) cho tuyên bố DBS. Một bảng DBS gồm 7 chất đã được chuẩn bị với RNA bọc HCV được pha loãng với nồng độ từ 200 triệu IU/mL đến 316 IU/mL trong mẫu toàn phần âm tính HCV. Kết quả đại diện cho tính tuyến tính của xét nghiệm Abbott RealTime HCV cho DBS, được trình bày trong **Hình 1**.

Hình 1. Độ tuyến tính của xét nghiệm Abbott RealTime HCV cho DBS



Xét nghiệm Abbott RealTime HCV cho DBS được trình bày tuyến tính trong toàn phạm vi 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 DBS lớn hơn hoặc bằng 99,5%. Độ đặc hiệu được xác định bằng cách phân tích 119 mẫu huyết thanh âm tính HCV, trên 2 lô thuốc thử khuếch đại. Độ đặc hiệu tổng thể là 100% (119/119).

Độ chính xác

Độ chính xác được đánh giá bằng cách xét nghiệm bằng DBS gồm 6 chất được nhắm mục tiêu bao phủ phạm vi nồng độ HCV RNA từ 316 IU/mL đến 200 triệu IU/mL. Các chất trong bảng có nồng độ thấp hơn 5 Log IU/mL (100.000 IU/mL) đã được chuẩn bị với mẫu bệnh phẩm dương tính HCV được pha loãng trong máu toàn phần âm tính HCV, trong khi các chất trong bảng có nồng độ lớn hơn 5 Log IU/mL (100.000 IU/mL) chuẩn bị với RNA bọc HCV pha loãng trong máu toàn phần âm tính HCV. Mỗi chất trong bảng được xét nghiệm trong 5 mẫu lặp, mỗi 5 ngày một lần, trên cặp 3 *m2000sp/rt* với 3 lô thuốc thử khuếch đại. Trong một lần chạy, độ lệch chuẩn (SD) giữa các lần chạy và độ chính xác ngẫu nhiên lặp (trong một lần chạy và giữa các lần chạy) đã được xác định. Xét nghiệm Abbott RealTime HCV cho DBS được thiết kế để đạt độ lệch chuẩn (SD) chính xác ngẫu nhiên lặp 0,25 Log IU/mL của HCV RNA cho mẫu chứa nồng độ HCV từ 10.000 đến 100 triệu IU/mL. Kết quả đại diện cho độ chính xác của xét nghiệm Abbott RealTime HCV cho DBS, được tóm tắt trong **Bảng 2**.

Bảng 2. Độ chính xác của Abbott RealTime HCV Assay for DBS

Chất trong bảng	N	Nồng độ trung bình (IU/mL)	Nồng độ trung bình (Log IU/mL)	SD thành phần ^{a,e} trong một lần chạy	SD thành phần ^{a,e} giữa các lần chạy	Độ chính xác ngẫu nhiên lặp SD ^{a,b}	SD thành phần ^a giữa lô/thiết bị	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

^a Độ lệch chuẩn (SD) theo đơn vị Log IU/mL.

^b Độ chính xác ngẫu nhiên lặp chứa các thành phần trong một lần chạy và giữa các lần chạy.

^c Tổng bao gồm các thành phần trong một lần chạy, giữa các lần chạy và giữa các lô/thiết bị.

^d Nồng độ trung bình của chất trong bảng 1 dưới LOD. Độ chính xác được ước tính dựa trên các mẫu lặp được định lượng.

^e SD giữa các lần chạy còn được gọi là Khả năng lặp lại. Tổng SD còn được gọi là Khả năng tái tạo.

Khả năng lặp lại và Khả năng tái tạo cho các chất trong bảng 1 (gần LLOQ) là 0,26 Log IU/mL và 0,27 Log IU/mL tương ứng, và cho các chất trong bảng 2 (gần LLOQ) là 0,23 Log IU/mL và 0,25 Log IU/mL tương ứng. Khả năng lặp lại và khả năng tái tạo cho các chất trong bảng 5 (gần ULOQ) là 0,12 Log IU/mL và 0,14 Log IU/mL tương ứng, và cho các chất trong bảng 6 (gần ULOQ) là 0,04 Log IU/mL và 0,07 Log IU/mL tương ứng.

Kết quả

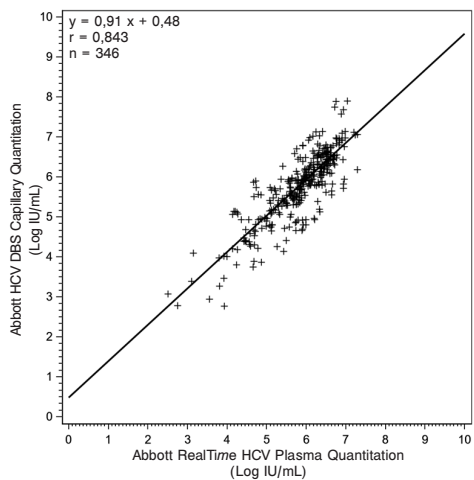
Định lượng HCV RNA được so sánh giữa xét nghiệm Abbott RealTime HCV sử dụng vết máu khô và xét nghiệm của đối thủ cạnh tranh có dấu CE, xét nghiệm Abbott RealTime HCV sử dụng huyết tương người. Các mẫu huyết tương và DBS từ tổng 346 đối tượng (thu thập và xét nghiệm ở Georgia, Cameroon, và Hy Lạp) được bao gồm trong phân tích. Cả hai DBS được chuẩn bị từ máu tĩnh mạch và DBS được chuẩn bị từ máu mao mạch (chích ngón tay) được xét nghiệm bằng xét nghiệm Abbott RealTime HCV cho DBS. Các kết quả định lượng từ các mẫu nằm trong phạm vi động của các xét nghiệm được phân tích bằng phương pháp hồi quy tuyến tính bình phương nhỏ nhất và phương pháp sai lệch 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 tương quan giữa DBS mao mạch và huyết tương, hệ số tương quan là 0,843, độ nghiêng 0,91 (95% CI 0,85 đến 0,97) và phần bị chắn là 0,48 Log IU/mL (95% CI 0,12 đến 0,84)(**Hình 2**). Đối với tương quan giữa DBS tĩnh mạch và huyết tương, hệ số tương quan là 0,840, độ nghiêng 0,94 (95% CI 0,88 đến 1,00) và phần bị chắn là 0,31 Log IU/mL (95% CI -0,07 đến 0,69)(**Hình 3**). Đối với tương quan giữa DBS mao mạch và DBS tĩnh mạch, hệ số tương quan là 0,943, độ nghiêng 0,91 (95% CI 0,87 đến 0,94) và phần bị chắn là 0,53 Log IU/mL (95% CI 0,33 đến 0,72)(**Hình 4**). Ngoài ra, sơ đồ Bland-Altman cho những so sánh tương tự được trình bày trong **Hình 5**, **Hình 6**, và **Hình 7**. Khác biệt lệch trung bình giữa DBS mao mạch và huyết tương là -0,05 Log IU/mL. Khác biệt lệch trung bình giữa DBS tĩnh mạch và huyết tương là -0,04 Log IU/mL. Khác biệt lệch trung bình giữa DBS mao mạch và DBS tĩnh mạch là -0,02 Log IU/mL.

Lệch dự đoán giữa DBS mao mạch và huyết tương được đánh giá ở mức mục tiêu LLOQ và ULOQ. Ngoài ra, lệch dự đoán giữa DBS tĩnh mạch và huyết tương được đánh giá ở mức mục tiêu LLOQ và ULOQ. Tham khảo **Bảng 3** để biết tóm tắt độ lệch dự đoán.

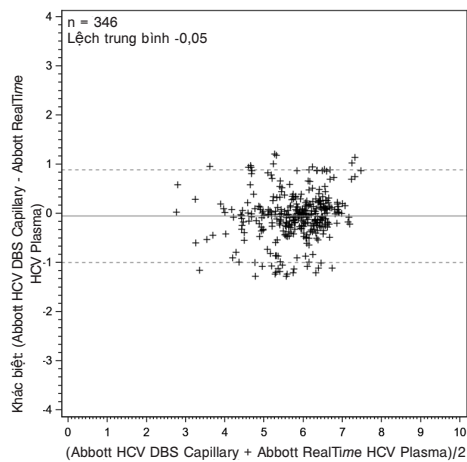
Bảng 3. Độ lệch dự đoán giữa DBS (mao mạch hoặc tĩnh mạch) và huyết tương ở LLOQ và ULOQ

So sánh	Mức	Mức mục tiêu tải virus (Log IU/mL)	Lệch dự đoán (Log IU/mL)
DBS mao mạch so với huyết tương	LLOQ	2,66	0,24
	ULOQ	8,00	-0,26
DBS tĩnh mạch so với huyết tương	LLOQ	2,66	0,15
	ULOQ	8,00	-0,17

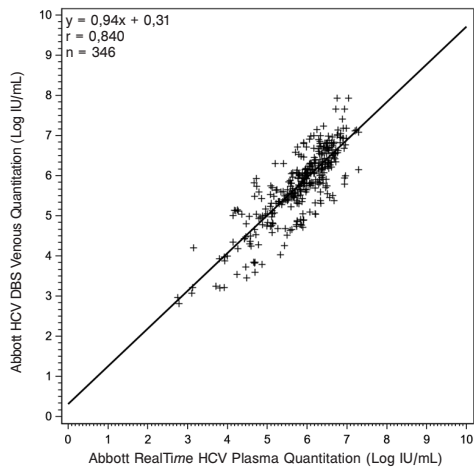
Hình 2. DBS mao mạch và huyết tương



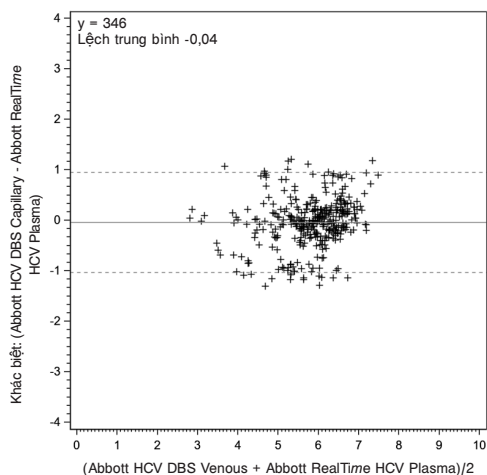
Hình 5. DBS mao mạch so với huyết tương



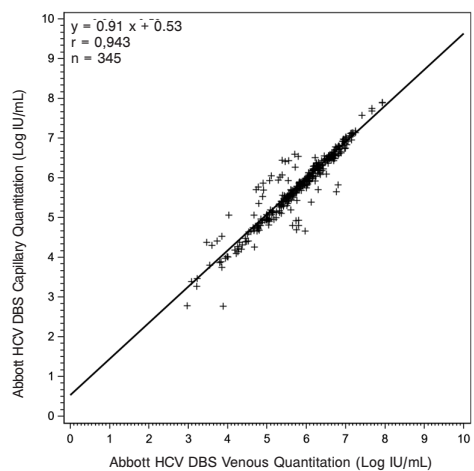
Hình 3. DBS tĩnh mạch và huyết tương



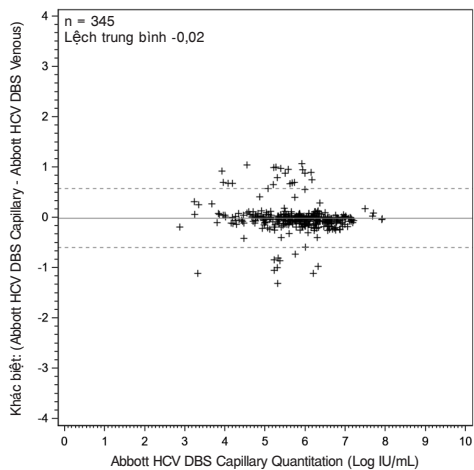
Hình 6. DBS tĩnh mạch so với huyết tương



Hình 4. DBS mao mạch và DBS tĩnh mạch



Hình 7. DBS mao mạch so với DBS tĩnh mạch



MỤC LỤC THAM KHẢO

1. Gower E, Estes C, Blach S, et al. Global epidemiology and genotype distribution of the hepatitis C virus infection. *J Hepatol*. 2014; 61(1):S45-S57.
2. World Health Organization Updated Version April 2016: Guidelines for the screening, care and treatment of persons with hepatitis C infection. <http://www.who.int/hepatitis/publications/hepatitis-c-guidelines-2016/en/>.
3. AASLD/IDSA Recommendations for testing, managing and treating hepatitis C, revised April, 2017. www.hcvguidelines.org.
4. European Association of the Study of the Liver. Recommendation on Treatment of Hepatitis C 2018. *J. Hepatology* (2018).
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;39:1363-75.
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. *N Engl J Med* 1998;339(21):1493-9.
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):958-65.
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):975-82.
9. Hadziyannis SJ, Sette H Jr., Morgan TR, et al. Peginterferon-[alpha]2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose. *Ann Intern Med* 2004;140(5):346-55.
10. Orlent H, Deltenre P, Francque S, et al. Update of the Belgian Association for the Study of Liver Guidelines for the Treatment of Chronic Hepatitis C Genotype 1 with Protease Inhibitors. *Acta Gastro-Enterologica Belgica* 2012;LXXV:245-259.
11. Halfon P, Bourliere M, Penaranda G, Khiri H, and Ouzin 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 Microbiology* 2006;44(7): 2507-2511.
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):1611-8.
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):41-5.
14. WHO guidelines on hepatitis B and C testing. Geneva: World Health Organization; 2017.
15. Saldanha J, Heath A., 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 Sanguinis* 2005 Apr; 88 (3):202-204.

HỖ TRỢ KỸ THUẬT

Để nhận hỗ trợ kỹ thuật, hãy gọi Dịch vụ kỹ thuật Abbott Molecular theo số 1-800-553-7042 (trong phạm vi Hoa Kỳ) hoặc +49-6122-580 (bên ngoài Hoa Kỳ) hoặc truy cập trang web Abbott Molecular theo địa chỉ www.molecular.abbott/portal.

Abbott RealTime HCV được nhập vào Liên minh châu Âu bởi Abbott Diagnostics GmbH, located ở Max-Planck- Ring 2, 65205 Wiesbaden, Đức



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



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



© 2020 Abbott. Bảo lưu mọi quyền.

www.abbottmolecular.com

51-608440/R1

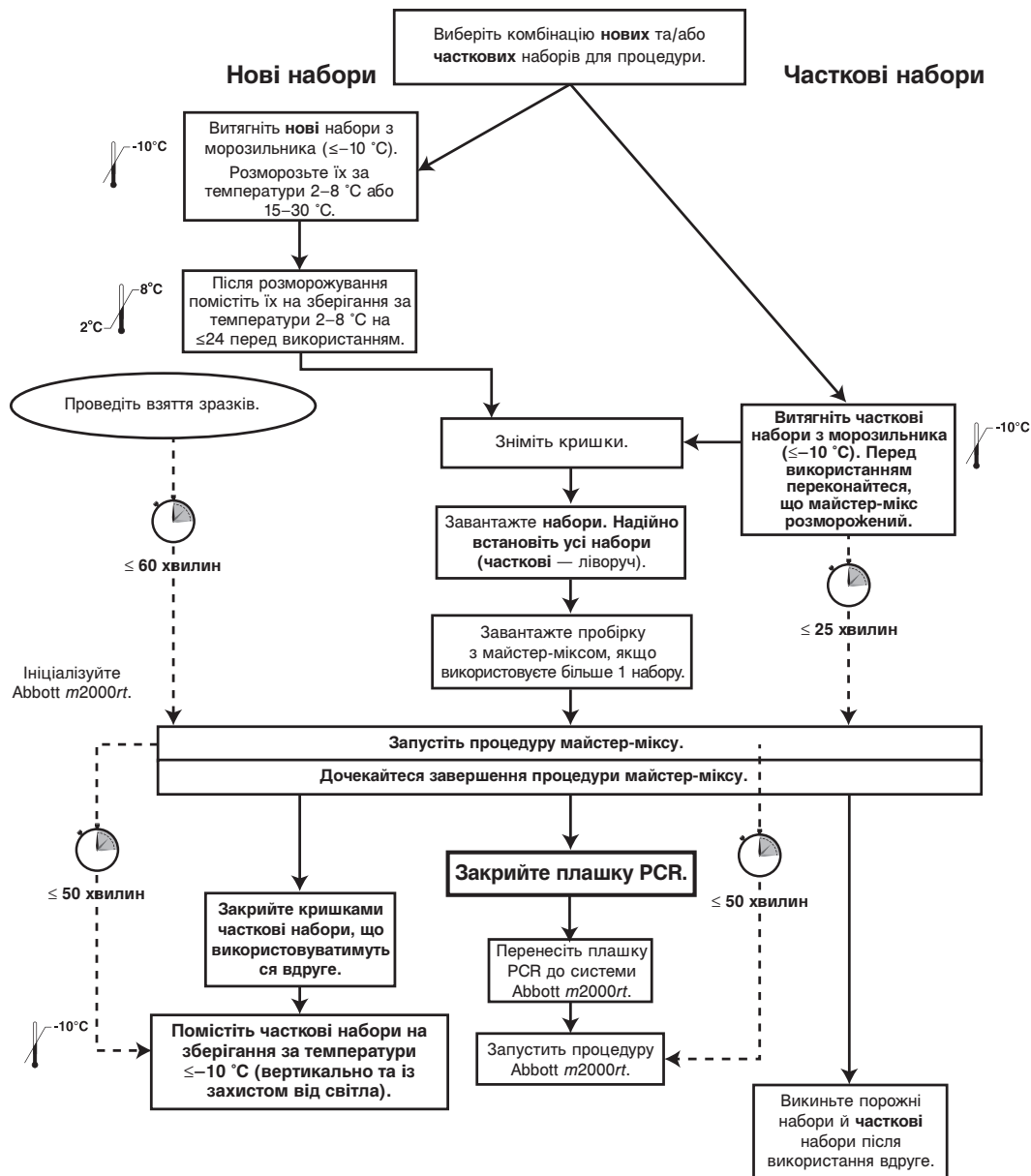
Tháng 7 năm 2020

PHỤ LỤC 1. TỔNG QUAN VỀ TÍNH NĂNG SỬ DỤNG MỞ RỘNG ABBOTT REALTIME HCV AMPLIFICATION REAGENT

Tính năng sử dụng mở rộng thuốc thử khuếch đại cho phép sử dụng gói thuốc thử khuếch đại và chất kiểm chuẩn nội bộ (IC) tổng cộng 2 lần. Các gói thuốc thử khuếch đại chưa được sử dụng để chuẩn bị hỗn hợp master mix sẽ được tham chiếu là các gói thuốc thử khuếch đại **mới**. Các gói thuốc thử khuếch đại đã được sử dụng một lần và chứa hỗn hợp master mix chuẩn bị sẵn được tham chiếu là các gói thuốc thử khuếch đại **một phần**. Tham khảo hướng dẫn được cung cấp trong hướng dẫn này để biết chi tiết bổ sung.

Điều kiện bảo quản (gói thuốc thử khuếch đại và lọ chất kiểm chuẩn nội bộ)		
Loại gói	Nhiệt độ bảo quản	Thời gian bảo quản
(Các) Gói mới	-10°C hoặc lạnh hơn	Đến ngày hiển thị trên nhãn
IC mới	-10°C hoặc lạnh hơn	Đến ngày hiển thị trên nhãn
(Các) Gói một phần	-10°C hoặc lạnh hơn (được bảo vệ tránh ánh sáng)	Tối đa 14 ngày sau khi sử dụng lần đầu
IC một phần	-10°C hoặc lạnh hơn	Tối đa 14 ngày sau khi sử dụng lần đầu

- Nếu sử dụng UNG cho quy trình kiểm soát nhiễm bẩn, hãy tham khảo Quy trình xét nghiệm bước 25 và 32 để biết chi tiết cụ thể.



- Самі набори для розширеного використання повинні мати 6-значний серіальний номер на етикетці.
- Лише можна використовувати набори для розширеного використання **один раз** на другому запуску на тому ж апараті. Використання наборів на іншому апараті може призвести до помилок, тому не рекомендується.
- Самі набори для розширеного використання та **нові** набори можна використовувати разом. Всі набори для розширеного використання повинні мати один і той же номер.

Abbott RealTime HCV

Suplemento para mancha de sangue seco (DBS)

br

GTIN

REF

04J86-010

IVD

51-608440/R1

REF 04J86-010

51-608440/R1

Legenda dos símbolos utilizados

GTIN

Número de artigo comercial global

REF

Número de referência

IVD

Dispositivo médico de diagnóstico *in vitro*



Tempo máximo permitido



Limite superior de temperatura



Limite de temperatura

EC REP

Representante autorizado na Comunidade 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 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 profissionais de laboratório e de saúde.

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 morrem 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 m2000sp. Após o tratamento pré-analítico de DBS, todas as etapas subsequentes são executadas automaticamente pelos sistemas m2000sp e 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 PROLONGADO 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 RealTime HCV para DBS usa somente instrumentos *m2000sp* e *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 EXAME**.

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 (desoxiuridina)

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 por HCV contendo dU tiver grandes chances de ter ocorrido, recomenda-se que o laboratório use o procedimento de controle de contaminação por 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 do aplicativo 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 (Lista 1L69-040 ou superior) antes de realizar o ensaio. Para obter informações detalhadas sobre a instalação do arquivo do aplicativo, 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 de 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 de 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 TFFN 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 9K14-01, 9K14-02)
- 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 vortex
- 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 1L69-040 ou superior)
- m2000 System 13mm DBS-PoST Set (nº de lista 09N03-001)
- 1.4 mL Micro Vial 15mm Caps (nº de lista 3N20-01) 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 1L69-040 ou superior)
- Abbott m2000rt Optical Calibration Kit (kit de calibração óptica) (nº de lista 04J71-93)

Outros materiais

- Armário de segurança biológica aprovado para trabalhar com materiais infecciosos
- Bolsa vedável para cartão de DBS
- Embalagem dessecante para cartão de DBS
- Cartão de papel TFM Ahlstrom-Munkell 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 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 instrumento Abbott m2000sp e um protocolo do instrumento 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 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.

- 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
- Segure o cartão de papel de DBS perfurado acima do Abbott Master Mix Tube.
- Empurre o círculo de DBS para fora do cartão usando uma ponteira de pipeta limpa, 1 círculo de DBS por 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 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.
- 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.
OBSERVAÇÃO: Se uma ponteira de pipeta for usada para empurrar a DBS para dentro do tampão, certifique-se de que a ponteira não cause perda de volume do tampão de DBS devido ao acúmulo de líquido na ponteira e/ou absorção do tampão pelo filtro da ponteira.
- Agite ou gire manualmente os tubos de amostra. Não agite as amostras em vórtice. Incube por 30 minutos ($\pm$ 2 minutos) em temperatura ambiente.
- 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.
- Antes do uso, agite em vórtice 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.
- 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.
- 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.

- 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.
- Antes do uso, agite em vórtice cada IC 3 vezes por 2 a 3 segundos.
- 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.
- Coloque os controles positivos baixo e alto, o controle negativo e os calibradores, se aplicável, nos racks de amostras Abbott *m2000sp*.
- Após a conclusão da incubação, agite ou gire manualmente os tubos de amostra de DBS e, em seguida, coloque-os nos racks de amostras Abbott *m2000sp*.
OBSERVAÇÃO: Certifique-se de que os racks de amostras Abbott m2000sp sejam calibrados especificamente para o procedimento do Abbott RealTime HCV para DBS.
- Carregue os 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 no rack de amostras, de modo que a parte inferior do tubo atinja a parte inferior interna do rack.
- Carregue racks de amostras cheios no Abbott *m2000sp* em posições consecutivas do rack, com o primeiro rack na extremidade direita da mesa de trabalho, e os demais racks sucessivamente à esquerda do primeiro rack.
- Coloque os recipientes de reação de 5 mL no transportador do subsistema Abbott *m2000sp* de 1 mL.
- 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.
- Na tela Protocol (Protocolo), selecione o arquivo do aplicativo HCV RNA DBS. Inicie o protocolo de extração da amostra, conforme descrito no Manual de Operações do Abbott *m2000sp*, seção Instruções de operação.
- 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).
- 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 for nova; até 4 com embalagens parciais	3 se for nova; 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 forem 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 toque nas 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 do aplicativo 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 *m2000sp* e *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 do aplicativo Abbott RealTime HCV RNA DBS esteja instalado.

Detecção 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 *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-Munktell 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**.

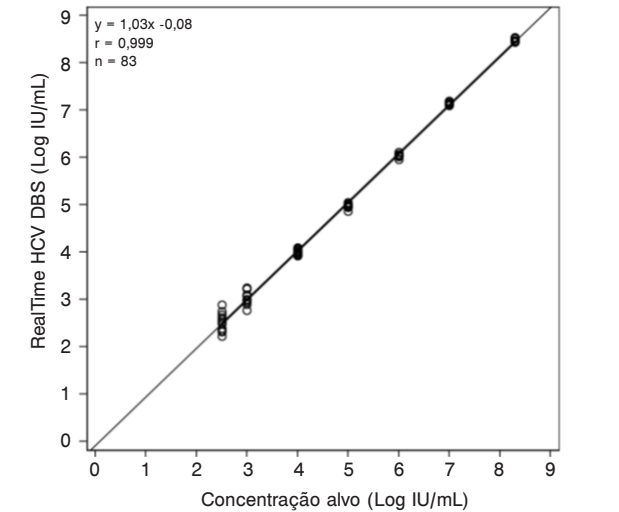
Tabela 1. Limite de detecção (LOD) do Abbott RealTime HCV para DBS			
RNA do HCV (IU/mL)	Número testado	Número detectado	Porcentagem detectada
500	84	83	99
400	84	80	95
350	84	75	89
300	84	73	87
150	84	54	64
50	84	26	31

A análise probatória 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 alegação 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 *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 LOD. 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 capilar) 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

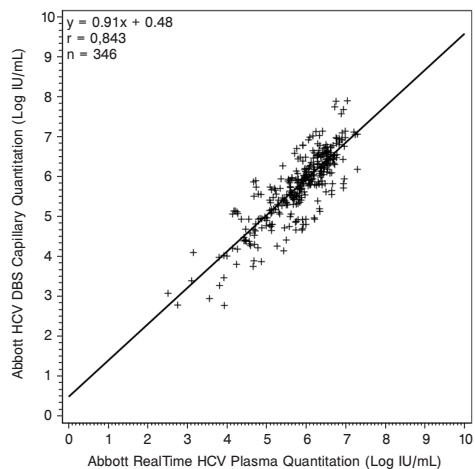


Figura 5. DBS capilar vs. plasma

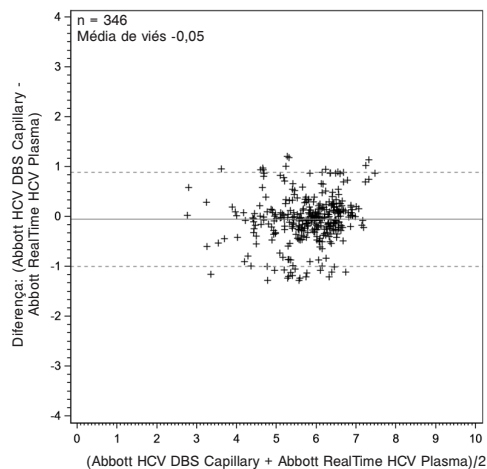


Figura 3. DBS venosa e plasma

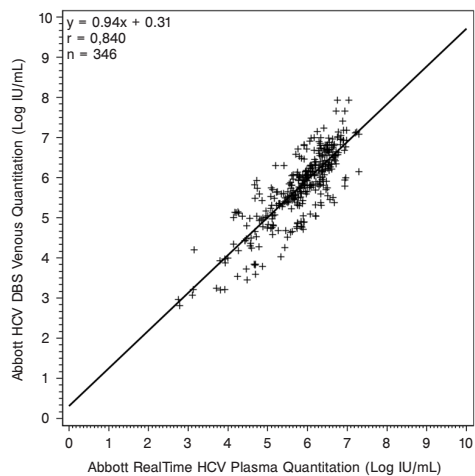


Figura 6. DBS venosa vs. plasma

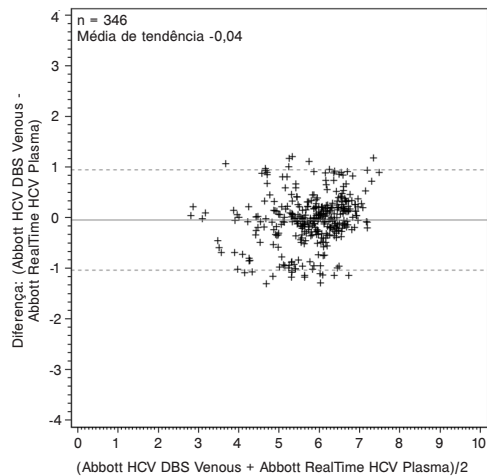


Figura 4. DBS capilar e DBS venosa

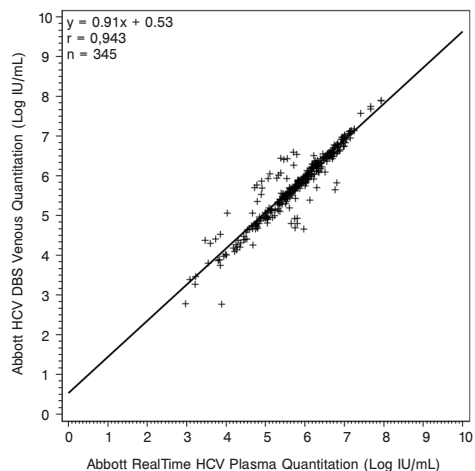
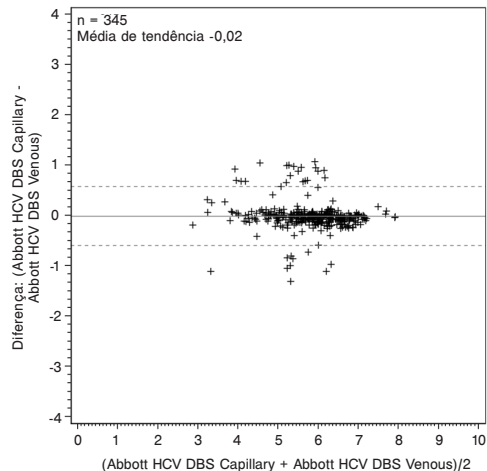


Figura 7. DBS capilar vs. DBS venosa



BIBLIOGRAFIA

1. Gower E, Estes C, Blach S, et al. Global epidemiology and genotype distribution of the hepatitis C virus infection. *J Hepatol*. 2014; 61(1):S45-S57.
2. World Health Organization Updated Version April 2016: Guidelines for the screening, care and treatment of persons with hepatitis C infection. <http://www.who.int/hepatitis/publications/hepatitis-c-guidelines-2016/en/>.
3. AASLD/IDSA Recommendations for testing, managing and treating hepatitis C, revised April, 2017. www.hcvguidelines.org.
4. European Association of the Study of the Liver. Recommendation on Treatment of Hepatitis C 2018. *J. Hepatology* (2018).
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;39:1363-75.
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. *N Engl J Med* 1998;339(21):1493-9.
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):958-65.
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):975-82.
9. Hadziyannis SJ, Sette H Jr., Morgan TR, et al. Peginterferon-[alpha]2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose. *Ann Intern Med* 2004;140(5):346-55.
10. Orlent H, Deltenre P, Francque S, et al. Update of the Belgian Association for the Study of Liver Guidelines for the Treatment of Chronic Hepatitis C Genotype 1 with Protease Inhibitors. *Acta Gastro-Enterologica Belgica* 2012;LXXV:245-259.
11. Halfon P, Bourliere M, Penaranda G, Khiri H, and OuzinD. Real-time PCR assays for hepatitis C virus (HCV) RNA quantitation are adequate for clinical management of patients with chronic HCV infection. *J. Clin Microbiology* 2006;44(7): 2507-2511.
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):1611-8.
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):41-5.
14. WHO guidelines on hepatitis B and C testing. Geneva: World Health Organization; 2017.
15. Saldanha J, Heath A., 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 Sanguinis* 2005 Apr; 88 (3):202-204.

ASSISTÊNCIA TÉCNICA

Para obter assistência técnica, ligue para a Abbott Molecular Technical Services pelo telefone 1-800-553-7042 (nos EUA) ou +49-6122-580 (fora dos EUA), ou visite o site da Abbott Molecular em www.molecular.abbott/portal.

O Abbott RealTime HCV é importado para a União Europeia pela Abbott Diagnostics GmbH, localizada em 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 Abbott. Todos os direitos reservados.

www.abbottmolecular.com

51-608440/R1

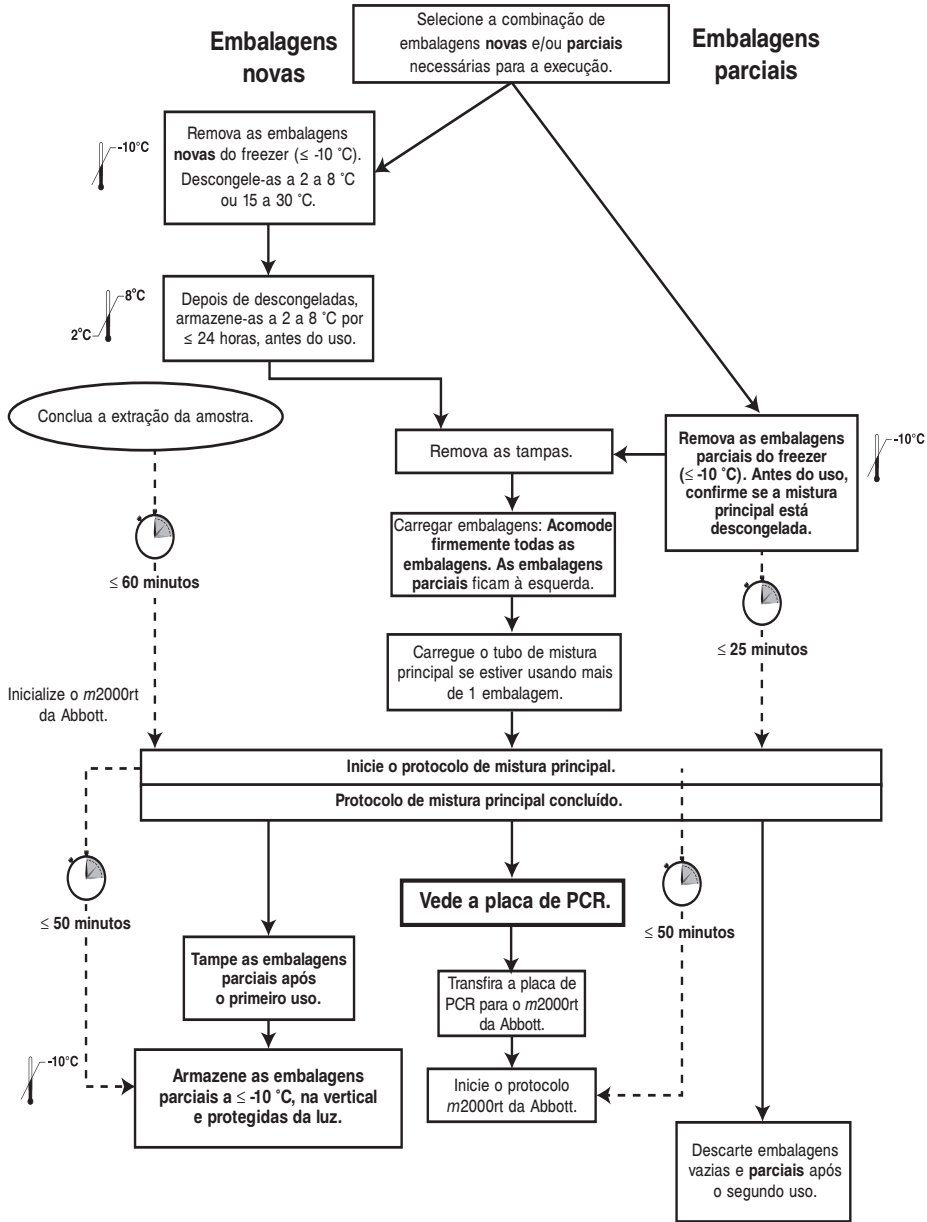
Julho de 2020

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 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 prolongado 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.