

INNO-LIA HCV ScoreVýrobce:

Fujirebio Europe N.V.
Technologiepark 6
9052 Gent
Belgium
Tel. +32 9 329 13 29
BTW BE 0427.550.660
RPR Gent

POZOR ZMĚNY ZVÝRAZNĚNYDistribuce ČR:

ASCO-MED s.r.o
Pod Cihelnou 6/664
160 00 Praha 6
Česká republika
☎+420-233-313-578

**www.e-labeling.eu/FRI16393****☎EUROPE**

GR	+800 135 79 135
IS	00 800 161 220 577 99
LT	800 8996
RO	880 030 728
SK	0800 895 084
TR	0800 606 287
LI	0800 142 064 866
MT	+31 20 796 5692
EE	+31 20 796 5693
	0800-0100 567

☎non-EUROPE

US	+31 20 794 7071
CA	+1 855 236 0910
AR, BR, CO, UY, AU, NZ, RU	+1 855 805 8539
	+800 135 79 135







8:00 – 17:00 GMT+1

M	T	W	T	F	S	S
☒	☒	☒	☒	☒	☐	☐

OBSAH

Použité symboly	2
Použití	3
Princip testu	3
Reagencie /Činidla	3
<i>Popis, příprava k použití, doporučené skladování</i>	3
Potřebné vybavení, které není součástí soupravy	4
Bezpečnost a životní prostředí	5
Vzorky (odběr a zpracování)	6
Poznámky a upozornění	6
Manuální postup	6
<i>Pokyny k promývání</i>	8
<i>Pokyny k inkubaci</i>	8
Automatizované postupy:	9
Výsledky	9
Odečítání	9
Validace	10
<i>Interpretace výsledků ...</i>	11
<i>Interpretační software: LiRAS pro Infekční onemocnění</i>	11
Omezení postupu	11
Parametry testu	12
Senzitivita /Citlivost	12
Specifická	13
Reprodukovatelnost	14
Ochranné známky	14

Použité symboly

	Výrobce
IVD	Diagnostické lékařské zařízení <i>In Vitro</i>
LOT	Číslo šarže
REF	Katalogové číslo
	Použití do
	Podívejte se na pokyny pro používání
	Omezení teploty
	Biologické nebezpečí
	Obsah vhodný pro <n> testů
CONJ	Konjugát (Conjugate) 100x
CONTROL -	Kontrolní vzorek - (Control -)
CONTROL +	Kontrolní vzorek + (Control +)
SAMP DIL	Roztok pro ředění vzorků (Sample Diluent)
STOP SOLN	Roztok na zastavení inkubace (Stop Solution)

STRIPS	Proužky
SUBS BCIP/NBT	Substrát BCIP/NBT (Substrate BCIP/NBT)
WASH SOLN 5x	Promývací roztok (Wash Solution) 5x
DANGER	NEBEZPEČÍ
WARNING	VAROVÁNÍ
LIA	Line ImmunoAssay

Použití

INNO-LIA™ HCV Score je metoda Line Immuno Assay k detekci protilátek proti lidskému hepatitidy C v lidském séru nebo lidské plazmě. Je určen jako doplňkový test na vzorcích, u kterých bylo zjištěno, že jsou anti-HCV reaktivní při screeningových testech.

Princip testu

INNO-LIA™ HCV Score je test Line Immuno Assay (LIA), který používá core antigeny; E2 hypervariabilní oblasti (HVR), NS3 helikázovou oblast, NS4A, NS4B a NS5A regiony.

Antigeny jsou navázané na 6 linií na nylonové membráně s plastovým pozadím. K těmto liniím jsou přidány 4 kontrolní linie kontroly pozadí, 3+ pozitivní kontrola (Ig proti lidskému Ig), který je také použit jako kontrola přidání vzorku; 1+ pozitivní kontrola (lidský IgG); a +/- cut-off kontrola.

INNO-LIA™ HCV Score je založen na principu enzymové immunoassay (EIA). Testovaný vzorek se inkubuje ve testovací misce spolu s testovacím proužkem (stripem). Konkrétní protilátky proti HCV, se navážou na příslušné linie antigenu na proužku. Následně se přidá konjugát - kozí anti-lidský IgG označený alkalickou fosfatázou a ten se naváže na jakýkoliv předtím vytvořený HCV komplex antigen-protilátka. Inkubace enzymovým substrátem vytváří hnědou barvu odpovídající intenzitou množství specifických protilátek přítomných ve vzorku na jednotlivých liniích. Vývoj barvy se zastaví kyselinou sírovou (obr. 1).

Činidla

Popis, příprava pro použití a doporučené podmínky uchování

- Pokud jsou uchovávány při 2 – 8 °C, otevřené nebo neotevřené, všechna činidla jsou stabilní do doby expirace. Všechna činidla chraňte před mrazem. Nepoužívejte soupravu po uplynutí doby použitelnosti.
- Všechna činidla a plastové zkumavky obsahující testovací proužky musí být vyjmuty z krabice a vytemperovány na pokojovou teplotu (18- 5 °C) 60 minut před použitím. Ihned po použití musí být vráceny do chladničky (2-8 °C).
- Změny fyzikálního vzhledu soupravy činidel mohou znamenat nestabilitu nebo poškození.
- Po otevření originální zkumavky se stripy jsou nepoužité stripy stabilní 16 týdnů v případě uchování v originální zkumavce při 2-8°C s pohlčovačem vlhkosti..

- Dodávaná činidla:

Složka	Množství	Ref.	Popis
Proužky	20	57329	Obsahuje 20 testovacích proužků INNO-LIA™ s HCV navázanými antigeny
Roztok pro ředění vzorků (Sample Diluent)	30 ml	57304	Obsahuje fosforečnanový pufr kódovaný barvou (zelená) obsahující chlorid sodný, detergent, hovězího protein jako stabilizátor a 0,3% chloracetamid (CAA) jako konzervační látku.
Konjugát připravený k použití (Ready-to-use Conjugate)	45 ml	57301	Obsahuje barvou kódované (červeně) kozí anti- lidské IgG značené alkalickou fosfatázou v Tris pufru obsahujícím hovězí stabilizátory, detergent a 0,01% methylisothiazolon (MIT)/<0,1% CAA jako konzervant.
Negativní kontrolní vzorek (Negative Control)	0,12 ml	57307	Obsahuje základní matrici lidského původu s 0,01% methylisothiazolonem (MIT)/0,1% CAA jako konzervační látkou.
Pozitivní kontrolní vzorek (Positive Control)	0,12 ml	57308	Obsahuje inaktivované lidské sérum obsahující protilátky proti HCV a 0,01% MIT/<0,1% CAA jako konzervant.
Substrát k použití (Ready-to-use Substrate)	45 ml	57302	Obsahující 5-bromo-4-chloro-3-indolyl fosfát/nitroblue tetrazolium v dimethylformamidu, 0,01% MIT/<0,1% CAA jako konzervant.
Roztok na zastavení (Stop Solution)	45 ml	57303	Obsahující 0,1 mol/l kyseliny sírové.
Promývací roztok (Wash Solution)	45 ml	57299	Obsahující barvou kódovaný (modrou) Tris pufr obsahující chlorid sodný, detergent a 0,02% bromo-nitrodioxan jako konzervační látku, 5x naředěný destilovanou vodou. Naředěný promývací roztok je stabilní po 2 týdny, pokud se uchovává při 2 – 8 °C.
Inkubační táč	2		Každý s 11 žlábků.
Přilnavé zátky	5	-	
Záznamy dat	1	-	ke skladování vyvinutých proužků.
Interpretační karta	1	-	K identifikaci linií reagujícího antigenu.

Požadovaný materiál, který není součástí soupravy

- Destilovaná nebo deionizovaná voda.
- Rukavice na 1 použití
- Přesné pipety s jednorázovými špičkami s dávkováním 10 ml, 20 - 200 µl a 200 - 1000 µl
- Orbitální mixer nebo třepačka (viz Pokyny pro inkubaci).
- Vortex (Vířivý mixér) nebo ekvivalent.
- Odměrné válce: 10, 25, 50 a 100 ml.
- Časovač.
- Plastové nebo nerezové pinzety pro manipulaci s proužky.
- Volitelně:
 - Horkovzdušný ventilátor (vysoušeč vlasů) nebo inkubátor na sušení při 37 °C.
 - Pipety pro opakované použití s lahvičkami pro jednorázové použití k přidání roztoku na zastavení inkubace (Stop Solution), konjugátu (Conjugate), substrátu (Substrate) a promývacího roztoku (Wash Solution).
 - Vakuová odsávačka, která obsahuje 5% roztoku chlornanu sodného v odpadní nádobce.

Bezpečnost a životní prostředí

V bezpečnostním listu (Safety Data Sheet -SDS) a na nálepce na výrobku naleznete informace o potenciálně nebezpečných složkách. Poslední verze bezpečnostního listu je k dispozici na webových stránkách www.fujirebio-europe.com.

Varování. SAMP DIL



Obsahuje 2-Chloroacetamide
H317 P261 P280 P302+P352 P333+P313 P362+P364

Nebezpečí. SUBS BCIP/NBT 100x



Obsahuje N,N-Dimethylformamid
H360D P280 P201 P308+P313 P303+P361+P353 P305+P351+P338

Rizikové údaje:

H317 Může způsobit alergickou kožní reakci

H360D Může poškodit nenarozené dítě

Preventivní údaje

P201 Vyžaduje zvláštní instrukce před použitím

P261 Nevdechujte páry/aerosoly

P280 Používejte vhodné ochranné rukavice/ ochranné oděvy/ ochranu očí/ ochranu obličeje

P303+P361+P353 **PŘI STYKU S KŮŽÍ (nebo s vlasy):** Veškeré kontaminované části oděvu okamžitě svlékněte. Opláchněte kůži vodou [nebo osprchujte]

P305+P351+P338 **PŘI ZASAŽENÍ OČÍ:** Několik minut opatrně vyplachujte vodou. Vyjměte kontaktní čočky, jsou-li nasazeny a pokud je lze vyjmout snadno. Pokračujte ve vyplachování.

P308+P313 V případě kontaktu nebo vystavení: Kontaktujte lékaře

P333+313 V případě podráždění kůže kontaktujte lékaře

P362+P364 Kontaminovaný oděv svlékněte a před opětovným použitím vyperte.

P302+352 **NA KŮŽI:** omyjte větším množstvím vody a mýdlem

- Pracovní postup by měla provádět pouze přiměřeně proškolená osoba

- Se vzorky, kontrolními vzorky pozitivními (Positive Control) a kontrolními vzorky negativními (Negative Control) by se mělo vždy zacházet jako s potenciálně infekčními.

- Kontrolní vzorky pozitivní (Positive Control) byly shledány negativní na anti-HIV a HbsAg. Kontrolní vzorky negativní (Negative Control) byly shledány negativní na anti-HIV 1/2, anti-HCV a HBsAg; ovšem žádná testovací metoda nemůže nabídnout komplexní jistotu, že výrobky z krve nebudou přenášet infekční látky. Proto by všechny složky krve a biologické materiály měly být považovány za potenciálně infekční a mělo by s nimi tak zacházet. Testovací postup by měl provádět pouze dostatečně vyškolený personál. Všechny složky krve a biologické materiály musí být likvidovány v souladu se zavedenými bezpečnostními postupy.

- V autoklávu po dobu nejméně 15 minut při 121 °C.
- Spálením spotřebního materiálu.

- Smísením kapalných odpadů s chlornan sodným tak, aby výsledná koncentrace byla $\pm 1\%$ chlornan sodný. Před likvidací se nechá stát přes noc. **UPOZORNĚNÍ:** Neutralizujte tekutý odpad, který obsahuje kyselinu před přidáním chlornanu sodného.
- Je nezbytné používat osobní ochranné prostředky: rukavice a ochranné brýle při manipulaci s nebezpečnými nebo infekčními čidly.
- S odpady by mělo být manipulováno v souladu s pokyny instituce pro nakládání s odpady. Měly by být dodržovány všechny federální, státní a místní předpisy o životním prostředí.
- Neodsávejte roztok na zastavení inkubace do nádoby, která obsahuje chlornan sodný.

Vzorky (odběr a zpracování)

- **INNO-LIA HCV Score** je určeno pro testování z lidského séra nebo plazmy odebrané do zkumavky obsahující citrát, heparin nebo EDTA jako antikoagulanty.
- Před uskladněním by měly být sérum nebo plazma odstředěním odděleny od krevní sraženiny nebo od krevních buněk.
- Vzorky skladujte při teplotě 2 - 8 °C. Pro skladování delší než jeden týden, je nutno vzorky zmrazit při teplotě -20 °C nebo nižší.
- Opakované (více než 3x) zmrazení a rozmrazení vzorků může způsobit chybu výsledku.

Poznámky a upozornění

- Nemíchejte čidla s různými čísly šarže.
- Zmrazená čidla, například skladovaná příliš blízko chladicího zařízení, mohou zapříčinit chybné výsledky!
- **Dodržujte správné objemy vzorku a dobu promývání pro příslušný postup**
- Zabraňte mikrobiální kontaminaci čidel.
- Ujistěte se, že před použitím jsou vzorky a kontrolní vzorky homogenní.
- Nedotýkejte se membrány proužku. S proužky manipulujte vždy plastovou pinzetou.
- Pro každý vzorek použijte novou špičku pipety.
- Ujistěte se, že testovací proužky jsou umístěny do žlábků **membránou nahoru**.
- Všechny kroky inkubace by měly být prováděny na třepačce s orbitálním pohybem nebo na třepačce s výkyvným pohybem (třepačka s výkyvným pohybem se použije pouze pro inkubaci přes noc). Přelévání roztoků přes proužky je důležité pro dosažení vybarvení linie a maximální citlivosti. Během třepání by měl být povrch proužku úplně ponořený.
- Žlábků musí být zakryty přilnavou folií, aby se zabránilo vysoušení proužků během noční inkubace vzorku.
- Nepoužité i vyvinuté proužky by měly uchovávat mimo silné světlo a teplo.
- Tato souprava by měla být používána pouze osobami vyškolenými v klinické laboratorní praxi.
- Opakované používání proužků nebo žlábků bude vést k chybným výsledkům.
- Řezání proužků bude mít za následek chybnou interpretaci výsledků.

Manuální pracovní postup

Prosím, před provedením testu si přečtěte poznámky a navrhovaná opatření.

16ti hodinová inkubace

1. Použijte potřebné množství testovacích misek,
2. Pro každý běh by měly být zařazeny pozitivní a negativní kontrolní vzorky jako interní kontroly kvality,
3. Označte testovací žlábků pro kontrolní vzorky i testované a umístěte je do zásobníku.
4. Ujistěte se, že nedochází ke zkřížené kontaminaci jednotlivých vzorků do ostatních žlábků
5. Přidejte **1 ml roztoku pro ředění vzorku (Sample Diluent)** do každé testovací misky.
6. Přidejte **10 µl** příslušného **vzorku** nebo **kontrolního vzorku** do odpovídajících žlábků.
7. Vyjměte ze zkumavky potřebné množství testovacích **proužků** a přidejte jeden proužek do každé z testovacích misek. Testovací proužek umístěte pomocí pinzety do misky stranou membrány směrem vzhůru. **PROUŽKY MUSÍ BÝT ZCELA PONOŘENY.**
8. Žlábků **zakryjte** přilnavou folií (viz poznámky a opatření). Inkubujte vzorky na vibrační třepačce nebo na třepačce s výkyvným pohybem (viz pokyny pro inkubaci) **PŘES NOC** (16 ± 2 h) při pokojové teplotě ($18 - 25$ °C).
POZNÁMKA: Při odstraňování přilnavé folie / krytu si počínejte opatrně, aby nedošlo ke kontaminaci.
9. **Promyjte** každý proužek **3krát** (5 minut) **1 ml promývacího roztoku (Wash Solution)** (viz. Pokyny pro promývání).
10. Přidejte **1 ml roztoku konjugátu (Conjugate Solution)** do každého testovacího žlábků
11. **Inkubujte** s konjugátem na vibrační třepačce nebo na třepačce s výkyvným pohybem a protřepávejte po dobu 30 minut při pokojové teplotě ($18 - 25$ °C).
12. **Promyjte** každý testovací proužek 3krát (5 minut) **1 ml promývacího roztoku (Wash Solution)** (viz. Pokyny pro promývání).
13. Přidejte **1 ml roztoku substrátu (Substrate Solution)** do každého testovacího žlábků.
14. **Inkubujte** se substrátem umístěným v testovacím zásobníku na vibrační třepačku nebo na třepačku s výkyvným pohybem a protřepávejte po dobu 30 minut při pokojové teplotě ($18 - 25$ °C).
15. Odsajte tekutinu. Přidejte **1 ml Stop roztoku (Stop solution)** do každého testovacího žlábků.
16. **Inkubujte se pro zastavení inkubace (Stop Solution)** na vibrační třepačce nebo na třepačce s výkyvným pohybem a protřepávejte po dobu 10 - 30 minut při pokojové teplotě ($18 - 25$ °C).
17. Odsajte **roztok na zastavení inkubace (Stop Solution)**.
18. **Vyjměte** proužky z testovacích misek a pomocí pinzety je umístěte stranou membrány nahoru na savý papír. Jakmile proužky zcela vyschnou, je možné výsledky interpretovat. Pro urychlení procesu sušení umístěte proužky na dobu 30 minut při teplotě 37 °C do inkubátoru na sušení nebo proužky fénujte po dobu 1 minuty. Vyvinuté proužky udrží svou barvu při skladování v temnotě.

2 a 3 hodinová inkubace

Pro 2 a 3 hodinovou inkubaci platí stejný 18-bodový pracovní postup jako pro 16-ti hodinovou inkubaci pouze dochází ke změnám v bodech 6 – 8 – 9 – 12.

Objem vzorku a kontroly se zdvojnásobí - z 10 na 20 µl (krok 6)

a změní se doba inkubace na 2 a 3 hodiny (krok 8)

Promývání po inkubaci po 2 hod. inkubaci vzorku bude 2x 10 minut a po 3 hod. inkubaci 3x 6 min.

Nakonec druhé promývání pro 2 hod. inkubaci vzorku je 3x 3 minuty a pro 3 hod. inkubaci 3x3 min.

Souhrn testovacího postupu je uveden v následující tabulce:

	16 hod. inkubace vzorku	2 hod. inkubace vzorku	3 hod. inkubace vzorku
Sample Diluent (Roztok na ředění vzorku)	1 ml	1 ml	1 ml
Vzorek	10 µl	20 µl	20 µl
Kontroly	10 µl	20 µl	20 µl
	16 hod.+/-2 hod.	2 hodiny	3 hodiny
Kontroly	10 µl	10 µl	10 µl
Testovací proužky LIA®	16 hodin ± 2 hod.	2 hodiny	3 hodiny
Promývání	1 ml/3 x 5 min	1 ml/3 x 10 min	1 ml/3 x 6 min
RTU* Konjugát	1 ml /30 min	1 ml /30 min	1 ml /30 min
Promývání	1 ml/3 x 5 min	1 ml/3 x 3 min	1 ml/3 x 3 min
RTU*Substrát	1 ml/30 min	1 ml/30 min	1 ml/30 min
Stop solution (roztok na zastavení inkubace)	1 ml/10 – 30 min	1 ml/10 – 30 min	1 ml/10 – 30 min

(*) RTU = Ready-to-use (připravený k použití)

Pokyny pro promývání

- Po inkubaci vzorku opatrně odstraňte přilnavou folii.
- Kapalina se odsaje z misky pipetou, nejlépe připojenou k vakuové odsávačce, která obsahuje 5% roztok chlornanu sodného v odpadní nádobě. Zásobník držte nakloněný tak, aby veškerá kapalina stekla na jednu stranu žlábků (na nepotaženou plastovou zadní část každého proužku).
- Přidejte 1 ml zředěného promývacího roztoku do každého žlábků a promíchejte na vibrační třepačce nebo třepačce s výkyvným pohybem. Doba protřepávání je uváděna v postupu testu.
- Opakujte tyto kroky tolikrát, jak je uvedeno v postupu testu.

POZNÁMKA:

- Nedovolte, aby proužky mezi promývacími kroky uschly.
- Dejte pozor, aby odsávání nedošlo k poškození povrchu testovacích proužků.
- Vždy používejte čisté odsávací zařízení s dezinfekčním vložkou, a zabraňte křížové kontaminaci.
- Ujistěte se, že celý proužek je důkladně promyt celkovým ponořením do promývacího roztoku.
- V případě potřeby přizpůsobte rychlost třepačky

- Vyvarujte se rozstříkávání promývacího roztoku (Wash Solution) přes okraje misek.

Pokyny pro inkubaci

- Všechny kroky inkubace (vzorku, konjugátu, substrátu, a roztoku na zastavení inkubace) a také kroky promývání by měly být prováděny na vibrační třepačce nebo na třepačce s výkyvným pohybem (použijte třepačku s výkyvným pohybem pouze pro noční Inkubaci vzorku).
- Při krocích inkubace a promývání by měl být povrch proužku zcela ponořen, s membránou obrácenou nahoru.
- Vibrační třepačka a třepačka s výkyvným pohybem by měla zajišťovat volný pohyb proužků (tam a zpět) ve žlábků, a pohyb tekutiny přes proužky bez přelití žlábků.
- Rychlost vibrační třepačky nebo třepačky s výkyvným pohybem je rozhodující pro dosažení zbarvení linií a maximální citlivost.

Doporučení pro orbitální třepačku:

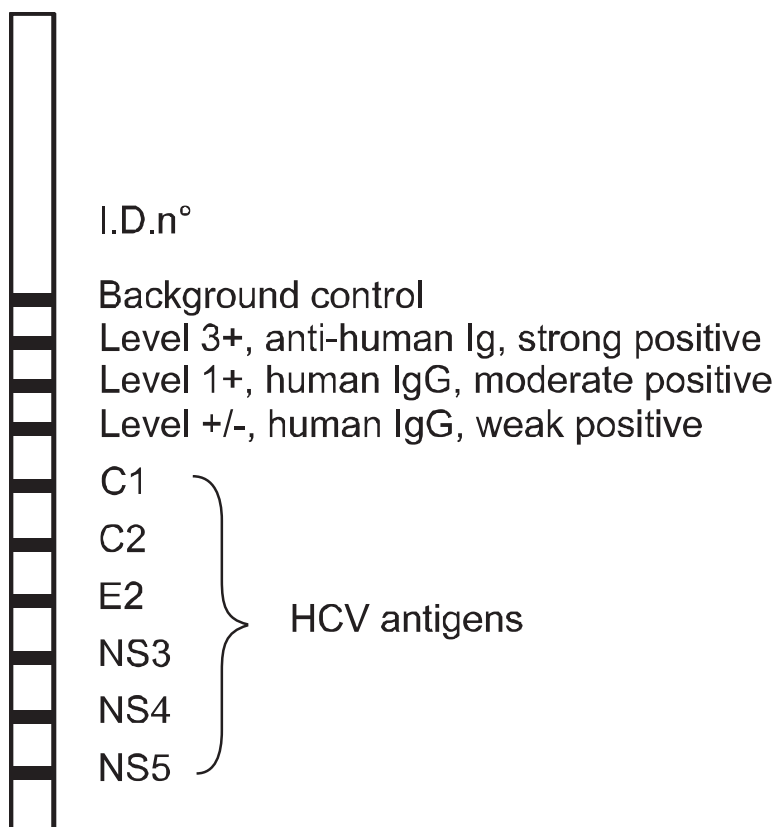
- Průměr kruhového pohybu by měl být stejný nebo vyšší než 13 mm
- Doporučená rychlost pro 13 mm kruhový pohyb je 160 rpm (otáček za minutu)
- Doporučuje se rychlost 24 mm kruhový pohyb je 90 rpm (otáček za minutu)

Doporučení pro třepačku s výkyvným pohybem:

- Rozdíl mezi nejvyšším a nejnižším bodem by neměl přesáhnout 80mm aby nedocházelo k rozstříkávání kapaliny.
- doporučená rychlost je 34 rpm

Automatizovaný postup:

Přístroje a příslušné postupy jsou k dispozici od Fujirebio Europe N.V. (viz. www.fujirebio-europe.com/automation).



Výsledky

Identita a umístění antigenů a kontrolních vzorků pokrývajících proužek je následující:

Obrázek 1: Testovací proužek INNO-LIIA HCV Score

Intenzita reakce na kontrolních liniích na každém proužku se používá pro přiřazení hodnocení reaktivity pro každý antigen v tomto proužku:

Intenzity reakce linie antigenu (R)		Hodnocení
Menší než ±	$R < \pm$	-
Rovno ±	$R = \pm$	±
Vyšší než ±, ale nižší nebo jako 1+	$\pm < R \leq 1+$	1+
Vyšší než 1+ ale nižší než 3+	$1+ < R < 3+$	2+
Stejně jako 3+	$R = 3+$	3+
Vyšší než 3+	$R > 3+$	4+

Hodnocení reaktivity musí být provedeno samostatně pro každý proužek. Použijte interpretační kartu pro správnou interpretaci. Identifikace linií se získá uspořádáním 3+ kontrolní linie na vyvíjeném proužku s odpovídajícími 3+ kontrolními liniemi na interpretační kartě.

Validace

Před odečítáním výsledků je třeba vyhodnotit kontrolní linie na každém stripu s přihlédnutím k následujícím kritériím:

Validace jednotlivého stripu / proužku:

1. Kontrolní hladiny 3+; 1+ a +/- by měly být viditelné.
2. Intenzita zbarvení 3+ musí být větší než 1+ a ta větší než +/-
3. Pozadí stripů je negativní

Hodnocení pozitivní a negativní kontroly by mělo předcházet hodnocení jednotlivých stripů.

1. Pozitivní kontrola musí vykazovat reakci alespoň 1+ na liniích C1, C2, NS3 a NS4. E2 a NS5 se mohou jevit jako negativní.
2. Negativní kontrolní strip musí být hodnocen jako negativní (bez reakce) nebo menší než +/- kontrolní linie pro všechny HCV antigeny.

POZNÁMKA:

- Proužek musí být zcela vysušen, aby nedošlo k mylnému výkladu kvůli slabě viditelným pásům, které se objeví po přidání roztoku na zastavení inkubace (Stop Solution).
- Nepokládejte papír na horní část proužků, dokud jsou vlhké.
- Slabé pásy kontrolních vzorků lze sledovat u vzorků, které obsahují vysoké hladiny IgG (nad normálním rozmezím IgG).
- V případě neočekávaných výsledků, nebo pokud je podezření na chybu v postupu, je třeba test opakovat a Pozitivní a Negativní kontrolu začlenit do série

Interpretace výsledků

Rozsáhlé studie ukazují, že výsledky je možné interpretovat následovně:

Vzorek je **NEGATIVNÍ** pro HCV protilátky, pokud:

- Všechny linie HCV antigenu jsou negativní
- Pokud pouze jediná linie HCV antigenu vykazuje úroveň intenzity +/-, pokud to není linie NS3

Vzorek je **POZITIVNÍ** pro HCV protilátky, pokud:

- alespoň 2 linie vykazuje intenzitu +/- a vyšší

Vzorek je **NEURČITELNÝ/ indeterminate** pro HCV protilátky, pokud:

- alespoň jedna linie vykazuje intenzitu 1+ nebo vyšší
- Pokud pouze linie HCV antigenu NS3 vykazuje úroveň intenzity +/- a ostatní antigeny jsou negativní

Interpretační Software: *LiRAS pro Infekční onemocnění*

LiRAS pro Infekční onemocnění je určen pro pomoc při interpretaci výsledků.

V případě zájmu kontaktujte lokálního distributora. Při automatické interpretaci mějte vždy na zřeteli omezení postupu.

Omezení postupu

- Prováděcí protokol se musí přísně dodržovat, aby získal optimální výkon testu.
- Vzorky s jedinou linií +/- nebo vyšší na NS3 mohou indikovat serokonverzi, proto jsou hodnoceny jako neurčitelné / indeterminate.
- Pokud získáte výsledek neurčitelný, doporučujeme opakovat test s dalším vzorkem pacienta za několik týdnů
- Vzorek, který vykazuje pozitivní reakci na pozadí kontrolní linie, může dávat zkříženou reakci také s liniemi antigenu HCV, tudíž je nehodnotitelný
- V případě že se objeví reaktivita na antigenových liniích C1, C2, E2, NS4, NS5 aniž by se objevila na kontrolní linii, je možné, že se jedná o nespecifickou reaktivitu s některým typem streptavidinových protilátek. Proto by se tento strip neměl vyhodnocovat. V tomto případě se doporučuje použít jinou testovací metodu.
- V případě časných infekcí nejsou anti HCV protilátky detekovatelné
- Při hemodialýze mohou být protilátky detekovatelné
- Použití zředěných vzorků může způsobit chyby
- Pro pacienty s pozitivními protilátkami HCV by před léčbu měly být určeny parametry poškození jater a pozitivita HCV RNA.
- Některé vzorky pacientů vykazují stejnou reaktivitu všech linií antigenu (někdy i s kontrolní linií pozadí) přes celý strip (tzv. pufrové linie). Pokud je stejná intenzita i cut-off hladiny (+/-) výsledky by měly být interpretovány následovně:
 - stejná reaktivita všech linií antigenu (někdy i v kombinaci s kontrolní linií pozadí) přes celý strip. Pokud je stejná intenzita i cut-off hladiny (+/-) jako INVALID a doporučuje se přetestování jinou metodou
 - stejná reaktivita všech linií antigenů je pokládána za NEGATIVNÍ v případě, že kontrolní linie pozadí je také pod cut-off
- stejná reaktivita všech linií antigenů je vyšší než 1+ je hodnocena jako POZITIVNÍ v případě, že kontrolní linie pozadí je pod cut-off.

PARAMETRY TESTU

Senzitivita /Citlivost

Výsledky testování INNO-LIA HCV Score za použití protokolu 2 hodinové inkubace vzorku a Protokolu manuální 16-ti hodinové inkubace vzorku byly získány pomocí 13 BBI serokonverzních panelů (PHV 904 až 916), na panelech nízkého titru (PHV 103 a 204) na panelu SFTS94. 13 serokonverzních panelů začínalo negativní a blízkým negativním. Tyto výsledky byly srovnány s CHIRON RIBA HCV 3.0 SIA výsledky. (tabulka 1 a Tabulka 2).

Tab.1: Přehled výsledků BBI serokonverzních panelů:

Stanovení	Detekce serokonverzních panelů oproti Chiron RIBA HCV 3.0 SIA			
	Dříve	Stejně	Později	Negativní zůstaly
nno LIA HCV Score Auto LIA (protokol 2 hod inkubace sera.	7	4	1	1
nno LIA HCV Score manuální (protokol 16 hod inkubace sera.	7	4	1	1

Tab 2: Přehled výsledků panelů BBI nízké titry a SFTS94

Stanovení	Počet detekovaných pozitivních vzorků na panel		
	PHV 103	PHV 204	SFTS 94
nno LIA HCV Score Auto LIA (protokol 2 hod inkubace sera.	10	18	38
nno LIA HCV Score manuální (protokol 16 hod inkubace sera.	12	20	41
Chiron RIBA HCV 3.0 SIA	12	23	31

HCV pozitivní vzorky

Bylo analyzováno celkem 257 vzorků, pocházejících z HCV infikovaných pacientů a nalezených skrínigovou metodou pozitivních dvěma metodami jako pozitivní bylo interně analyzováno metodou INNO- LIA HCV Score Postupem pro 2 hodinovou inkubaci séra přístrojem Auto LiPA. Všechny vzorky byly shledány pozitivní kromě jediného, který byl hodnocen jako nehodnotitelný (indeterminate).

Dále bylo testováno 109 vzorků HCV genotypovaných pomocí INNO-LIA HCV protokolem 2 hodinové inkubace vzorku *Auto LIA*..

Do testovací sady byly zahrnuty všechny genotypy (Tabulka 3)

Tabulka 3 distribuce genotypu HCV pozitivních vzorků

Genotyp testovaného vzorku	Počet testovaných vzorků
1	30
1a	15
1b	15
2	21
3a	21
4	21
4	1
4a	15
4 non -a	5
5	6
6	10
celkem	109

Všech 109 vzorků bylo vyhodnoceno jako pozitivní
Celkově výsledky vedou k senzitivitě při začlenění 1 neurčitelného ze 100% (366/366; 95% CL[99,0%; 100,0%].)

Specificita

Dárci krve

Celkem bylo interně analyzováno 400 vzorků dárců krve soupravou INNO LIA HCV při použití ručního Protokolu 16-ti hodinové inkubace vzorku. Po provedení zkoušek bylo vyhodnoceno 377 vzorků jako negativní; 22 vzorků jako neurčitý a jeden jako pozitivní.

Specificita 94,3% (377/400; 95% CI [91,5%; 96,1%]);

Pozitivní vzorek byl při opakovaném testování v dubletu shledán negativní, tj data po přetestování jsou: 94,5% (378/400; 95% CI [91,8%; 96,3%]).

Klinické vzorky

Celkem bylo interně analyzováno 205 klinických vzorků soupravou INNO LIA HCV při použití Manuálního Protokolu 16-ti hodinové inkubace vzorku. Po provedení zkoušek bylo vyhodnoceno 189 vzorků jako negativní; 11 vzorků jako neurčitý a 5 jako pozitivní.

Z těchto 5 vzorků pozitivních byly po opakovaném testování v duplikátech shledáno negativní.

Jeden ze dvou pozitivních byl opakovaně pozitivní a jeden neurčitý. Oba tyto vzorky byly negativní při testování Ortho HCV 3.0 ELISA s Enhanced Save a na INNOTESTU HCV AbIV. Jeden z těchto 2 vzorků byl také testován CHIRON RIBA HCV 3.0 SIA s negativním výsledkem. Pro tuto sadu testů byly získány specificity: 92,2% (189/205; 95% CI [87,7%; 95,1%].);

po opakování byla specificita: 93,7% (192/205; 95% CI [89,5%; 96,3%].);

Vzorky, potenciálně interferující

Celkem 137 vzorků, které potenciálně interferují, bylo interně analyzováno soupravou INNO LIA HCV při použití Manuálního Protokolu 16-ti hodinové inkubace vzorku.

Po provedení zkoušek bylo vyhodnoceno 127 vzorků jako negativní; 9 vzorků jako neurčitý a 1 jako pozitivní. Po přetestování byl tento vzorek hodnocen jako pozitivní a

neurčitý. Tento vzorek byl negativní při testování Ortho HCV 3.0 ELISA s Enhanced Save a na INNOTESTU HCV AbIV a CHIRON RIBA HCV 3.0 SIA
Na souboru těchto vzorků byla zjištěna specifická tohoto testu 92,7% (127/1375; 95% CI [87,1%; 96,0%.]);

Reprodukovatelnost

Panel 13 pozitivních HCV vzorků s pozitivní a negativní kontrolou byl testován paralelně dvěma laboratorními pracovníky třemi různými šaržemi pomocí AUTO-LIPA Protokolu 2-hodinové inkubace vzorku. Třetí pracovník opakoval tento panel pomocí jedné z výše uvedených šarží.

Při použití různých šarží různými pracovníky byly výsledky identické.

Ochranné známky

INNO-LIA, LIRAS a Auto-LIA jsou ochranné známky firmy Fujirebio Europe N.V., registrované v USA a v dalších zemích.