

Aptima® HBV Quant Assay

Gebruiksaanwijzing
Voor *in-vitro* diagnostiek
Uitsluitend voor export in de VS

Algemene informatie	2
Beoogd gebruik	2
Samenvatting en uitleg van de test	2
Uitgangspunten van de procedure	3
Samenvatting van veiligheid en prestaties	3
Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen	4
Eisen voor opslag en verwerking van reagentia	9
Monsterafname en -opslag	10
Monsters in het Panther-systeem	13
Vervoer van specimens	13
Panther-systeem	14
Geleverde reagentia en materialen	14
Benodigde maar apart geleverde materialen	15
Optionele materialen	16
Testprocedure voor het Panther-systeem	17
Procedurele opmerkingen	21
Kwaliteitscontrole	22
Assaykalibratie	22
Negatieve en positieve controles	22
Interne kalibrator / Interne controle	22
Interpretatie van resultaten	23
Beperkingen	24
Analytische prestaties	25
Detectielimiet op basis van de 3e internationale WHO-norm	25
Detectielimiet voor alle HBV-genotypen	25
Lineair bereik	26
Lineariteit voor alle HBV-genotypen	27
Ondergrens voor kwantificering op basis van de 3e internationale WHO-norm	27
Ondergrens van kwantificering van alle HBV-genotypen	29
Traceerbaarheid tot de 3e internationale standaard van de WHO	31
Nauwkeurigheid	31
Potentieel storende stoffen	33
Analytische specificiteit	35
Matrix-equivalentie	36
Specimenverdunding met behulp van Aptima-specimenverduunningsmiddel (1:3)	36
Specimenverdunding met behulp van Aptima-specimenverduunningsmiddel (1:100)	37
Bevestiging van de LLoQ in specimens verdund in Aptima-specimenverduunningsmiddel	39
Precisie van verdunde monsters	39
Vermenging	40
Reproduceerbaarheid	40
Klinische prestaties	42
Correlatie van methoden	42
Klinische bruikbaarheid	42
Literatuur	51
Contactgegevens en overzicht van wijzigingen	52

Algemene informatie

Beoogd gebruik

De Aptima® HBV Quant-assay is een *in vitro* amplificatietest op basis van nucleïnezuur waarmee de hoeveelheid DNA van het hepatitis B-virus (HBV) in humaan plasma en serum kan worden gekwantificeerd op het volledig geautomatiseerde Panther™-systeem.

Plasma kan worden geprepareerd in ethyleendiaminetetra-azijnzuur (EDTA), zuur-citraat-dextrose-oplossing (ACD) en PPT-buizen (Plasma Preparation Tubes). Serum kan worden geprepareerd in serumbuizen en in SST-buizen (serumseparatorbuizen). Met behulp van het Panther-systeem worden de specimens automatisch verwerkt, geamplificeerd en gekwantificeerd. Specimens die de HBV-geotypen A, B, C, D, E, F, G en H bevatten, worden in de test gevalideerd voor kwantificering.

De Aptima HBV Quant-assay is bestemd voor gebruik als hulpmiddel bij de behandeling van patiënten met chronische HBV-infecties die met antivirale medicijnen tegen HBV worden behandeld. Deze assay kan worden gebruikt om de HBV DNA-niveaus bij de start van en tijdens de behandeling te meten en zo de virale respons op de behandeling te helpen beoordelen. De resultaten van de Aptima HBV Quant-assay moeten binnen de context van alle relevante klinische en laboratoriumuitslagen worden geïnterpreteerd.

De Aptima HBV Quant-assay is niet bedoeld voor gebruik als screeningstest voor de aanwezigheid van HBV-DNA in bloed of bloedproducten of als diagnostische test om de aanwezigheid van een HBV-infectie te bevestigen.

Samenvatting en uitleg van de test

Het hepatitis B-virus (HBV) is een van de virussen die hepatitis kunnen veroorzaken en kan een levenslange HBV-infectie, levercirrose, leverkanker, leverfalen en zelfs de dood tot gevolg hebben. Volgens de Wereldgezondheidsorganisatie (WHO) is HBV één van de meest voorkomende infectieziekten ter wereld. De prevalentie van HBV-infectie en de wijze van overdracht variëren sterk wereldwijd. In 2019 leefden naar schatting 296 miljoen mensen wereldwijd met een chronische HBV-infectie.¹ HBV-infectie leidt tot een verhoogd risico op leverdecompensatie, cirrose en hepatocellulair carcinoom (HCC) met een mortaliteit van 0,5 tot 1,2 miljoen doden en 5-10% van de gevallen van levertransplantatie wereldwijd per jaar.^{2,3} Zonder de juiste behandeling, interventie en monitoring na de diagnose, varieert de cumulatieve incidentie van cirrose over 5 jaar van 8-20%. Wanneer cirrose zich heeft ontwikkeld, bedraagt het jaarlijkse risico op hepatocellulair carcinoom 2-5%.⁴

HBV bevat een circulair, gedeeltelijk dubbelstrengig DNA-genoom van ongeveer 3200 basenparen, dat codeert voor vier gedeeltelijk overlappende ORF's (open reading frames) die de polymerase-, oppervlakte-, precore/core- en X-proteïnen tot expressie brengen. Het polymerase-ORF overlapt de andere drie ORF's en codeert voor een essentieel viraal replicatieproteïne, polymerase. Het oppervlakte-ORF brengt drie eiwitten tot expressie, die essentieel zijn voor virale morfogenese, virale toegang tot hepatocyten en het uitlokken van de immuunrespons van de gastheer.⁵ Er zijn 8 HBV-geotypen (A-H) die doorgaans op verschillende geografische locaties worden aangetroffen.

Vanwege de dynamische aard van chronische hepatitis B-infectie, is continue controle van de HBV-DNA- en alanineaminotransferase (ALT)-spiegels belangrijk.⁶ Voor de meerderheid van de met HBV geïnfecteerde personen die een antivirale behandeling ondergaan, is het doel het onderdrukken van HBV-DNA. Kwantitatieve nucleïnezuurtesten met een breed lineair bereik zijn effectieve hulpmiddelen om de HBV-DNA-virale belasting tijdens de behandeling te monitoren.

Uitgangspunten van de procedure

De Aptima HBV Quant-assay is een *in vitro* amplificatietest op basis van nucleïnezuur die in realtime via transcriptie gemedieerde amplificatie (TMA-) technologie op het Panther-systeem gebruikt om de hoeveelheid HBV-DNA (genotypen A, B, C, D, E, F, G en H) te meten. De Aptima HBV Quant-assay richt zich op twee sterk geconserveerde gebieden in de polymerase- en oppervlaktegenen (voor een hogere tolerantie tegen mogelijke mutaties). De test is gestandaardiseerd volgens de 3e internationale WHO-norm voor het hepatitis B-virus (NIBSC-code: 10/264).

De Aptima HBV Quant-assay bestaat uit drie hoofdstappen die worden uitgevoerd in één buis op het Panther-systeem: targetcapture, targetamplificatie door TMA, en detectie van de amplificatieproducten (amplicon) met de probes met fluorescente labels (toortsen).

Tijdens de targetcapture wordt viraal DNA uit de specimens geïsoleerd. Het specimen monster wordt behandeld met een detergent om de virusenvelop oplosbaar te maken, de eiwitten te denatureren en viraal genomisch DNA af te geven. Capture-oligonucleotiden hybridiseren met sterk geconserveerde regio's van HBV-DNA (indien aanwezig) in het testspecimen. De gehybridiseerde target wordt dan gevangen op magnetische microdeeltjes die in een magnetisch veld van het specimen worden gescheiden. Tijdens wasstappen worden vreemde componenten uit de reageerbuis verwijderd.

Targetamplificatie treedt op via TMA, een via transcriptie gemedieerde nucleïnezuuramplificatiemethode waarbij twee enzymen, MMLV (Moloney-muizenleukemievirus)-reverse-transcriptase en T7 RNA-polymerase, worden gebruikt. De reverse-transcriptase wordt gebruikt voor het maken van een DNA-kopie (met een promotorsequentie voor T7 RNA-polymerase) van de targetsequentie. Via T7 RNA-polymerase worden meerdere kopieën van RNA-amplicon aangemaakt op basis van het DNA-kopiesjabloon. De Aptima HBV Quant-assay gebruikt de TMA-methode om twee regio's van het HBV-genoom (polymerase genoom en oppervlakte-genoom) te vergroten. Amplificatie van deze regio's wordt bereikt met behulp van specifieke primers die zijn ontworpen om de HBV-genotypen A, B, C, D, E, F, G en H te vergroten. De benadering met dubbele doelregio en primerontwerp die zich op de sterk geconserveerde regio's richt, garandeert een accurate kwantificering van het HBV-DNA.

Detectie wordt bereikt door enkelstrengs nucleïnezuurtoortsen te gebruiken die tijdens de amplificatie van het doelwit aanwezig zijn en in real time specifiek hybridiseren met het amplicon. Elke fluorescerende sonde is uitgerust met een fluorofoor en een quencher (uitdover). Wanneer geen hybridisatie met het amplicon plaatsvindt, bevindt de quencher zich in de buurt van de fluorofoor en onderdrukt het fluorescentie. Wanneer de probe zich aan het amplicon bindt, raakt de quencher verder verwijderd van de fluorofoor en zendt die een signaal uit op een bepaalde golflengte als gevolg van excitatie door een lichtbron. Hoe meer hybridisatie tussen probes en amplicon plaatsvindt, des te sterker het fluorescerende signaal. De tijd tot de afgifte van een fluorescerende signaal loopt gelijk aan die van de beginconcentratie van HBV. Elke reactie heeft een interne kalibrator/interne controle (IC) die controleert op variaties in de verwerking, amplificatie en detectie van het specimen. De concentratie van een specimen wordt vastgesteld door de Panther-systeemsoftware met behulp van de HBV- en IC-signalen voor elke reactie en deze te vergelijken met de kalibratiegegevens.

Samenvatting van veiligheid en prestaties

De SSP (Summary of Safety and Performance of samenvatting van veiligheid en prestaties) is beschikbaar in de Europese database voor medische hulpmiddelen (Eudamed), waar deze is gekoppeld aan de unieke identificatiecode voor medische hulpmiddelen (Basic UDI-DI). Raadpleeg de Basic Unique Device Identifier (BUDI) om de SSP voor Aptima HBV Quant-assay te vinden: 54200455DIAGAPTHBVAF.

Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen

- A. Voor *in-vitro* diagnostiek.
- B. Voor professioneel gebruik.
- C. Om het risico op ongeldige resultaten te verkleinen, dient u de volledige bijsluiter en de *Gebruikershandleiding van het Panther/Panther Fusion™-systeem* aandachtig te lezen, voordat u deze assay uitvoert.
- D. Target Enhancer Reagent (TER) is corrosief. Zie de informatie op het veiligheidsinformatieblad aan het einde van dit hoofdstuk.

Met betrekking tot het laboratorium

- E. LET OP: de controles bij deze assay bevatten humaan plasma. Het plasma is niet-reactief voor hepatitis-B-oppervlakte-antigeen (HBsAg), antistoffen tegen HCV, antistoffen tegen HIV-1 en HIV-2, en HIV-antigeen wanneer getest met door de Amerikaanse FDA (Food and Drug Administration) gelicentieerde procedures. Daarnaast is het plasma niet-reactief voor HBV-DNA, HCV-RNA en HIV-1-RNA wanneer getest met gelicentieerde nucleïnezuurtesten. Alle materialen afkomstig van menselijk bloed moeten als mogelijk besmettelijk worden beschouwd en moeten met universele voorzorgsmaatregelen worden behandeld.^{7,8,9}
- F. Alleen personeel dat adequaat is opgeleid in het gebruik van de Aptima HBV Quant-assay en in het omgaan met potentieel besmettelijk materiaal, mag deze procedure uitvoeren. Als er materiaal is gemorst, desinfecteer dan onmiddellijk volgens de toepasselijke procedures binnen de instelling.
- G. Gebruik alleen de meegeleverde of aangegeven wegwerpartikelen voor in het laboratorium.
- H. Pas de gebruikelijke voorzorgsmaatregelen voor laboratoria toe. Niet met de mond pipetteren. Eet, drink en rook niet in de aangegeven werkgebieden. Draag poederloze wegwerphandschoenen, oogbescherming en labjassen tijdens het verwerken van monsters en reagentia. Was de handen grondig na het verwerken van monsters en reagentia.
- I. Werkoppervlakken, pipetten en overige apparatuur moeten regelmatig worden ontsmet met 2,5% tot 3,5% (0,35 M tot 0,5 M) natriumhypochlorietoplossing.
- J. Gooi alle materialen die in contact zijn gekomen met specimens en reagentia weg volgens de lokale, provinciale en federale voorschriften.^{7,8,9,10} Reinig en desinfecteer alle werkoppervlakken grondig.
- K. De controles bevatten natriumazide als conserveringsmiddel. Gebruik geen metalen buizen om reagentia over te hevelen. Als oplossingen met natriumazideverbindingen via de gootsteen worden afgevoerd, moeten ze worden verdund en doorgespoeld met ruime hoeveelheden stromend water. Deze voorzorgsmaatregelen worden aanbevolen om te voorkomen dat afzettingen zich ophopen in metalen buizen waarin explosieve situaties kunnen ontstaan.
- L. Goede standaardpraktijken voor moleculaire laboratoria omvatten milieumonitoring. De volgende procedure wordt voorgesteld ter bewaking van een laboratoriumomgeving:
 - 1. Pak een wattenstaafje en voeg het bij de Aptima-SAT-buis.
 - 2. Plak het juiste etiket op elke SAT-buis.
 - 3. Vul elke SAT-buis met 1 mL Aptima-specimenverduunningsmiddel.

4. Bevochtig een staafje lichtjes met nucleasevrij gedeïoniseerd water om oppervlaktemonsters af te nemen.
5. Neem een monster af door met het staafje verticaal van boven naar beneden over het betreffende oppervlak te gaan. Draai het staafje ongeveer een halve slag terwijl u het monster afneemt.
6. Plaats het afgenomen monster onmiddellijk in de buis en roer het wattenstaafje voorzichtig met wervelende bewegingen door de verdunner om potentieel afgenomen materiaal te onttrekken. Druk het staafje tegen de binnenkant van de transportbuis om zo veel mogelijk vloeistof te onttrekken. Gooi het staafje weg en doe een dop op de buis.
7. Herhaal de stappen voor de overige monsters.
8. Test het specimen met een moleculaire assay.

Met betrekking tot het specimen




- M. De specimens kunnen besmettelijk zijn. Gebruik universele voorzorgsmaatregelen^{7,8,9} bij het uitvoeren van deze test. De juiste methoden voor verwerking en afvoer moeten worden vastgesteld conform met plaatselijke voorschriften.¹⁰ Deze procedure mag alleen worden uitgevoerd door personeel dat adequaat is opgeleid in het gebruik van de Aptima HBV Quant-assay en in het omgaan met besmettelijk materiaal.
- N. Zorg dat de specimens onder de juiste bewaaromstandigheden worden verstuurd om hun integriteit te waarborgen. De stabiliteit van de specimens in andere dan de aanbevolen verzendingomstandigheden is niet geëvalueerd.
- O. Voorkom kruiscontaminatie tijdens de stappen waarin de monsters worden verwerkt. Wees vooral voorzichtig als u de doppen van de specimens losmaakt of verwijdert om besmetting via verspreiding van aerosolen te voorkomen. Monsters kunnen uitermate veel organismen bevatten. Zorg dat specimens niet met elkaar in contact komen en voer gebruikt materiaal niet boven open buizen af. Vervang uw handschoenen als deze met een monster in contact komen.

Met betrekking tot de assay

- P. Gebruik de reagenskit, de kalibrator of de controles niet na de vervaldatum.
- Q. Verwissel, meng of combineer geen assayreagentia uit kits met verschillende lotnummers. De assayvloeistoffen kunnen afkomstig zijn van verschillende lotnummers. De controles en de kalibrator kunnen afkomstig zijn van verschillende lotnummers.
- R. Voorkom microbiële en nuclease besmetting van de reagentia.
- S. Doe een dop op alle assayreagentia bij gespecificeerde temperaturen en sla ze op. Gebruik van verkeerd opgeslagen assayreagentia kan de uitslag van de assay negatief beïnvloeden. Zie *Eisen voor opslag en verwerking van reagentia* en *Testprocedure voor het Panther-systeem* voor meer informatie.
- T. Combineer geen assayreagentia of vloeistoffen zonder specifieke aanwijzingen. Flessen voor reagentia of vloeistoffen mogen niet helemaal worden gevuld. Het Panther-systeem verifieert het peil van de reagentia.
- U. Vermijd aanraking van TER met huid, ogen en slijmvliezen. Was met water als er zich contact met deze reagens voordoet. Verdun eventueel gemorst reagens met water en volg de procedures die op deze locatie van toepassing zijn.
- V. Sommige reagentia van deze kit zijn gelabeld met gevareninformatie.

Opmerking: Gevarencommunicatie volgt de classificaties in veiligheidsinformatiebladen (SDS) van de EU. Informatie over gevarencommunicatie specifiek voor uw regio vindt u in de regiospecifieke SDS (VIB) in de Safety Data Sheet Library (bibliotheek met veiligheidsinformatiebladen) op www.hologic.com. Raadpleeg voor meer informatie over de symbolen de symboollegenda op <https://www.hologic.com/package-inserts>.

Gevareninformatie Noord-Amerika	
	<p>HBV VL-controlekit <i>Humaan Serum / Humaan Plasma 95-100%</i> <i>Natriumazide <1%</i></p> <p>— —</p>
 	<p>Target Enhancer Reagent <i>Lithiumhydroxide, monohydraat 5-10%</i></p> <p>— —</p> <p>GEVAAR H302 - Schadelijk bij inslikken. H314 - Veroorzaakt ernstige brandwonden en oogletsel. P264 - Na het werken met het product, het gezicht, de handen en blootgestelde huid grondig wassen. P270 - Niet eten, drinken of roken tijdens het gebruik van dit product. P330 - De mond spoelen. P501 - Inhoud/verpakking afvoeren naar een erkende afvalverwerkingsinstallatie. P260 - Stof en spuitnevel niet inademen. P280 - Beschermende handschoenen/beschermende kleding/oogbescherming/gelaatsbescherming dragen. P301 + P330 + P331 - NA INSLIKKEN: de mond spoelen. GEEN braken opwekken. P303 + P361 + P353 - BIJ CONTACT MET DE HUID (of het haar): verontreinigde kleding onmiddellijk uittrekken. Huid met water afspoelen/afdouchen. P304 + P340 - NA INADEMING: De persoon in de frisse lucht brengen en ervoor zorgen dat deze gemakkelijk kan ademen. P305 + P351 + P338 - BIJ CONTACT MET DE OGEN: Voorzichtig afspoelen met water gedurende een aantal minuten. Contactlenzen verwijderen, indien mogelijk en van toepassing. Blijf spoelen. P321 - Specifieke behandeling vereist (zie aanvullende eerstehulpinstructies in het veiligheidsinformatieblad). P363 - Verontreinigde kleding wassen alvorens deze opnieuw te gebruiken. P405 - Achter slot bewaren. P301 + P317 - NA INSLIKKEN: zoek medische hulp. P316 - Zorg onmiddellijk voor medische noodhulp</p>
Gevareninformatie EU	
—	<p>Amplificatiereagens <i>Magnesiumchloride 60-65%</i></p> <p>—</p> <p>H412 - Schadelijk voor in het water levende organismen, met langdurige gevolgen. P273 - Voorkom lozing in het milieu. P501 - Werp de inhoud/houder weg via een goedgekeurd afvalverwerkingsbedrijf.</p>
—	<p>Enzymereagens <i>HEPES 1-5%</i> <i>Trito X-100 1-5%</i></p> <p>—</p> <p>H412 - Schadelijk voor in het water levende organismen, met langdurige gevolgen. P273 - Voorkom lozing in het milieu. P501 - Werp de inhoud/houder weg via een goedgekeurd afvalverwerkingsbedrijf.</p>

—	<p>Enzymreconstitutieoplossing <i>Glycerol 20-25%</i> <i>Triton X-100 5-10%</i> <i>HEPES 1-5%</i></p> <p>—</p> <p>H412 - Schadelijk voor in het water levende organismen, met langdurige gevolgen. P273 - Voorkom lozing in het milieu. P501 - Werp de inhoud/houder weg via een goedgekeurd afvalverwerkingsbedrijf.</p>
—	<p>Promoterreagens <i>Magnesiumchloride 60-65%</i></p> <p>—</p> <p>H412 - Schadelijk voor in het water levende organismen, met langdurige gevolgen. P273 - Voorkom lozing in het milieu. P501 - Werp de inhoud/houder weg via een goedgekeurd afvalverwerkingsbedrijf.</p>
—	<p>Target Capture Reagent <i>HEPES 15-20%</i> <i>Lauryl Sulfate Lithium Salt 5-10%</i> <i>Succinic Acid 1-5%</i> <i>Lithium Hydroxide, Monohydrate 1-5%</i></p> <p>—</p> <p>H412 - Schadelijk voor in het water levende organismen, met langdurige gevolgen. P273 - Voorkom lozing in het milieu. P501 - Werp de inhoud/houder weg via een goedgekeurd afvalverwerkingsbedrijf.</p>
—	<p>HBV VL-calibratorkit <i>HEPES 15-20%</i> <i>Lauryl Sulfate Lithium Salt 5-10%</i> <i>Succinic Acid 1-5%</i> <i>Lithium Hydroxide, Monohydrate 1-5%</i></p> <p>—</p> <p>H412 - Schadelijk voor in het water levende organismen, met langdurige gevolgen. P273 - Voorkom lozing in het milieu. P501 - Werp de inhoud/houder weg via een goedgekeurd afvalverwerkingsbedrijf.</p>
  	<p>HBV VL-controlekit <i>Humaan Serum / Humaan Plasma 95-100%</i> <i>Natriumazide <1%</i></p> <p>—</p> <p>GEVAAR H300 - Dodelijk bij inslikken. H410 - Zeer giftig voor in het water levende organismen, met langdurige gevolgen P264 - Na het werken met het product gezicht, handen en alle blootgestelde huid grondig wassen. P273 - Voorkom lozing in het milieu. P301 + P310 - NA INSLIKKEN: onmiddellijk een ANTIGIFCENTRUM of arts raadplegen. P321 - Specifieke behandeling vereist (zie aanvullende eerstehulpinstructies op dit etiket). P330 - Mond spoelen. P391 - Gelekte/gemorste stof opruimen.</p>

Target Enhancer Reagent*Lithiumhydroxide, monohydraat 5-10%***GEVAAR**

H302 - Schadelijk bij inslikken.

H314 - Veroorzaakt ernstige brandwonden en oogletsel.

P264 - Na het werken met het product gezicht, handen en alle blootgestelde huid grondig wassen.

P270 - Niet eten, drinken of roken tijdens het gebruik van dit product.

P330 - De mond spoelen.

P501 - Werp de inhoud/houder weg via een goedgekeurd afvalverwerkingsbedrijf.

P260 - Stof/rook/gas/nevel/damp/spuitnevel niet inademen.

P280 - Beschermende handschoenen/beschermende kleding/oogbescherming/
gelaatsbescherming dragen.

P301 + P330 + P331 - NA INSLIKKEN: de mond spoelen. GEEN braken opwekken.

P303 + P361 + P353 - BIJ CONTACT MET DE HUID (of het haar): verontreinigde kleding onmiddellijk uittrekken. Huid met water afspoelen [of afdouchen].

P304 + P340 - NA INADEMING: De persoon in de frisse lucht brengen en ervoor zorgen dat deze gemakkelijk kan ademen.

P305 + P351 + P338 - BIJ CONTACT MET DE OGEN: Voorzichtig afspoelen met water gedurende een aantal minuten. Contactlenzen verwijderen, indien mogelijk en van toepassing. Blijf de ogen spoelen.

P310 - Onmiddellijk een ANTIGIFCENTRUM of een arts raadplegen.

P321 - Specifieke behandeling vereist (zie aanvullende eerstehulpinstructies op dit etiket).

P363 - Verontreinigde kleding wassen alvorens deze opnieuw te gebruiken.

P405 - Achter slot bewaren.

Eisen voor opslag en verwerking van reagentia

- A. In de volgende tabel worden de opslagomstandigheden en stabiliteit voor reagentia, controles en kalibrator weergegeven.

Reagens	Ongeopende opslag	Open kit (gereconstitueerd)	
		Opslag	Stabiliteit
qHBV-amplificatiereagens	2 °C tot 8 °C		
qHBV-amplificatiereconstitutieplossing	2 °C tot 8 °C	2 °C tot 8 °C	30 dagen ^a
qHBV-enzymreagens	2 °C tot 8 °C		
qHBV-enzymreconstitutieplossing	2 °C tot 8 °C	2 °C tot 8 °C	30 dagen ^a
qHBV-promoterreagens	2 °C tot 8 °C		
qHBV-promoterreconstitutieplossing	2 °C tot 8 °C	2 °C tot 8 °C	30 dagen ^a
qHBV Target Capture Reagens	2 °C tot 8 °C	2 °C tot 8 °C	30 dagen ^a
qHBV PCAL (positieve kalibrator)	-15 °C tot -35 °C	15 °C tot 30 °C	Wegwerpflacon Binnen 24 uur gebruiken
qHBV NC CONTROL – (negatieve controle)	-15 °C tot -35 °C	15 °C tot 30 °C	Wegwerpflacon Binnen 24 uur gebruiken
qHBV LPC CONTROL + (laag-positieve controle)	-15 °C tot -35 °C	15 °C tot 30 °C	Wegwerpflacon Binnen 24 uur gebruiken
qHBV HPC CONTROL + (hoog-positieve controle)	-15 °C tot -35 °C	15 °C tot 30 °C	Wegwerpflacon Binnen 24 uur gebruiken
qHBV Target Enhancer Reagent	15 °C tot 30 °C	15 °C tot 30 °C	30 dagen ^a

^a Wanneer reagentia uit het Panther-systeem worden gehaald, moeten ze onmiddellijk opnieuw op de juiste opslagtemperatuur worden gebracht.

- B. Voer ongebruikte gereconstitueerde reagentia, TCR (target capture reagent) en TER (target enhancer reagent) na 30 dagen af of, indien dat eerder het geval is, na de uiterste houdbaarheidsdatum van de hoofdpartij.
- C. Reagentia in het Panther-systeem blijven daarin 72 uur stabiel. Reagentia kunnen maximaal 8 keer in het Panther System worden geplaatst. Het Panther-systeem registreert elke keer dat de reagentia worden geladen.
- D. Na ontgooiing van de kalibrator moet de oplossing helder zijn, dus niet troebel en zonder neerslag. Zorg ervoor dat de neerslag is opgelost. Gebruik de kalibrator niet in geval van gelvorming, neerslag of troebelheid.
- E. Het promotorreagens en het gereconstitueerde promoterreagens zijn lichtgevoelig. Bescherm deze reagentia tegen licht tijdens opslag of voorbereiding voor gebruik.
- F. Het qHBV Target Enhancer-reagens moet vóór gebruik op een temperatuur van 15 °C tot 30 °C zijn.

Monsterafname en -opslag

Opmerking: Behandel alle specimens alsof ze potentieel besmettelijke stoffen bevatten. Pas universele voorzorgsmaatregelen toe.

Opmerking: Voorkom kruiscontaminatie tijdens de stappen waarin de monsters worden verwerkt. Voer gebruikt materiaal bijvoorbeeld niet boven open buizen af.

Opmerking: Alleen kunststof secundaire buizen zijn geschikt voor opslag.

Volbloedspecimens die in de volgende glazen of kunststof buizen zijn afgenomen, kunnen worden gebruikt:

- Buisjes met de antistollingsmiddelen ethyleendiaminetetra-azijnzuur (EDTA) of zuur-citraat-dextrose (ACD)
- PPT-buisjes (Plasma Preparation Tubes)
- Serumbuizen
- SST-buisjes (Serum Separator Tubes)

Serum kan pas verder verwerkt worden na stolselvorming.

A. Specimenafname

Volbloed kan maximaal 24 uur bij 2 °C tot 30 °C worden bewaard en het plasma moet vóór verwerking worden gescheiden via centrifugering in een primair buisje. Scheid het plasma of serum van de rode bloedcellen volgens de instructies van de fabrikant van het gebruikte buisje. Plasma of serum kan in het primaire buisje worden getest op het Panther-systeem of worden overgebracht naar een secundair buisje, zoals de Aptima® Specimen Aliquot Tube. De minimale hoeveelheid plasma of serum die nodig is voor een reactievolume van 500 µL is 1200 µL voor primaire afnamebuizen en minimaal 700 µL voor secundaire buizen. In de volgende tabel is weergegeven hoeveel dood volume elk type primair en secundair buisje moet bevatten.

Buis (afmeting en type)	Dood volume bij Panther
Aptima SAT-buis (Sample Aliquot Tube)	0,2 mL
12 x 75 mm	0.5 mL
13 x 100 mm	0.5 mL
13 x 100 mm met gel	0.3 mL
16 x 100 mm met gel	0.7 mL

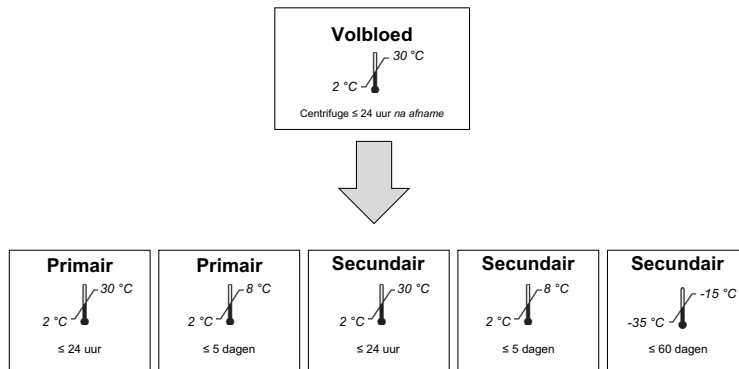
Als ze niet onmiddellijk worden getest, kunnen plasma en serum worden bewaard volgens onderstaande specificaties. Indien overgebracht naar de SAT of een secundaire buis, kan plasma of serum worden ingevroren bij -20 °C. Gebruik niet meer dan 3 cycli van bevriezen en ontdooien. Bevries de specimens niet in primaire EDTA-, ACD- of serumafnamebuizen.

B. Voorwaarden voor het bewaren van specimens

1. EDTA- en ACD-plasmaspecimens

Volbloed kan worden bewaard bij 2 °C tot 30 °C en moet binnen 24 uur na afname van het specimen worden gecentrifugeerd. Plasma kan vervolgens onder een van de volgende omstandigheden worden bewaard:

- Maximaal 24 uur bij 2 °C tot 30 °C in het primaire afnamebuisje of het secundaire buisje,
- Maximaal 5 dagen bij 2 °C tot 8 °C in het primaire afnamebuisje of het secundaire buisje, of
- Maximaal 60 dagen bij -20 °C in de secundaire buis.

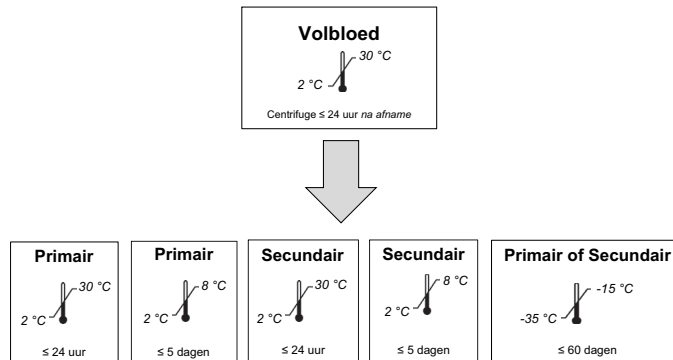


Afbeelding 1. Bewaarcondities voor EDTA-/ACD-buisjes

2. PPT-specimens

Volbloed kan worden bewaard bij 2 °C tot 30 °C en moet binnen 24 uur na afname van het specimen worden gecentrifugeerd. Plasma kan vervolgens onder een van de volgende omstandigheden worden bewaard:

- Maximaal 24 uur bij 2 °C tot 30 °C in het PPT-buisje of het secundaire buisje,
- Maximaal 5 dagen bij 2 °C tot 8 °C in het PPT-buisje of het secundaire buisje, of
- Maximaal 60 dagen bij -20 °C in het PPT-buisje of het secundaire buisje.

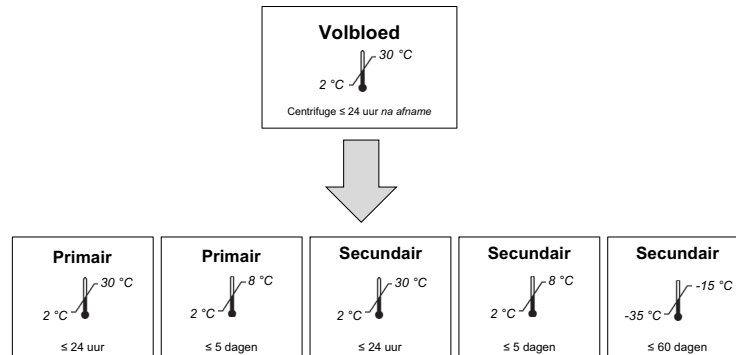


Afbeelding 2. Bewaaromstandigheden voor PPT-buisjes

3. Serumbuispecimens

Volbloed kan worden bewaard bij 2 °C tot 30 °C en moet binnen 24 uur na afname van het specimen worden gecentrifugeerd. Serum kan vervolgens onder een van de volgende omstandigheden worden bewaard:

- Maximaal 24 uur bij 2 °C tot 30 °C in het serumbuisje of het secundaire buisje,
- Maximaal 5 dagen bij 2 °C tot 8 °C in het serumbuisje of het secundaire buisje, of
- Maximaal 60 dagen bij -20 °C in de secundaire buis.

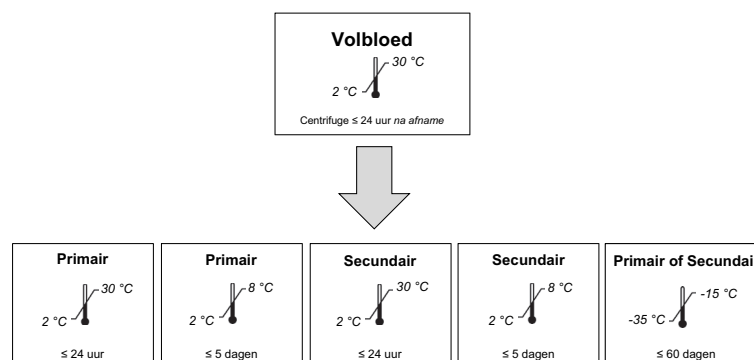


Afbeelding 3. Bewaaromstandigheden voor serumbuizen

4. SST-specimens

Volbloed kan worden bewaard bij 2 °C tot 30 °C en moet binnen 24 uur na afname van het specimen worden gecentrifugeerd. Serum kan vervolgens onder een van de volgende omstandigheden worden bewaard:

- Maximaal 24 uur bij 2 °C tot 30 °C in het SST-buisje of het secundaire buisje,
- Maximaal 5 dagen bij 2 °C tot 8 °C in het SST-buisje of het secundaire buisje, of
- Maximaal 60 dagen bij -20 °C in het SST-buisje of het secundaire buisje.



Afbeelding 4. Opslagomstandigheden voor SST-buisjes

C. Langdurig bewaren in de vriezer

Plasma- en serumspecimens kunnen tot maximaal 60 dagen in SAT-buizen bij -70 °C worden bewaard.

D. Verdunning van plasma- en serumspecimens

Plasma- en serummonsters kunnen in een het SAT-buisje of een secundair buisje worden verdund voor analyse in het Panther-systeem. Zie *Testprocedure voor het Panther-systeem*, stap E.5 hieronder voor meer informatie.

Opmerking: Als een specimen wordt verdund, zou het onmiddellijk na verdunning moeten worden getest. Vries een verdund specimen niet in.

Monsters in het Panther-systeem

Monsters zonder dop mogen maximaal 8 uur in het Panther-systeem achterblijven. Monsters mogen uit het Panther-systeem worden gehaald en getest zolang ze niet langer dan 8 uur in totaal in het systeem hebben gezeten voordat het monster in het Panther-systeem werd gepipetteerd.

Vervoer van specimens

De monsters moeten onder dezelfde omstandigheden worden bewaard als beschreven in *Monsterafname en -opslag*.

Opmerking: *Specimens moeten worden vervoerd volgens de toepasselijke nationale, internationale en regionale regelgeving voor transport.*

Panther-systeem

Hieronder staan reagentia voor de Aptima HBV Quant-assay voor het Panther-systeem vermeld. Naast de naam van het reagens worden tevens de identificatiesymbolen weergegeven.

Geleverde reagentia en materialen

Aptima HBV Quant Assay-kit, 100 testen (Cat. Nr. PRD-03424)
(1 assay-doos, 1 kalibratorkit, 1 controlekit en 1 Target Enhancer Reagent-doos)

Extra kalibrators en controles kunnen afzonderlijk worden besteld. Raadpleeg de individuele catalogusnummers hieronder.

Aptima HBV Quant Assay-doos
(na ontvangst bewaren bij 2 °C tot 8 °C)

Symbol	Component	Aantal
A	qHBV-amplificatiereagens <i>Niet-besmettelijke nucleïnezuren gedroogd in gebufferde oplossing.</i>	1 flacon
E	qHBV-enzymreagens <i>Reverse-transcriptase en RNA-polymerase gedroogd in met HEPES gebufferde oplossing.</i>	1 flacon
PRO	qHBV-promoterreagens <i>Niet-besmettelijke nucleïnezuren gedroogd in gebufferde oplossing.</i>	1 flacon
AR	qHBV-amplificatiereconstitutieoplossing <i>Oplossing in water met glycerol en conserveringsmiddelen.</i>	1 x 7,2 mL
ER	qHBV-enzymreconstitutieoplossing <i>Met HEPES gebufferde oplossing met een surfactans en glycerol.</i>	1 x 5,8 mL
PROR	qHBV-promoterreconstitutieoplossing <i>Oplossing in water met glycerol en conserveringsmiddelen.</i>	1 x 4,5 mL
TCR	qHBV Target Capture Reagens <i>Nucleïnezuren in een gebufferde zoutoplossing met vastefase-, niet-besmettelijke nucleïnezuren en een interne kalibrator.</i>	1 x 72,0 mL
	Reconstitutie-adapters	3
	Barcodeblad hoofdpartij	1 blad

Aptima HBV Quant-calibratorkit (Cat. nr. PRD-03425)
(na ontvangst bewaren bij -15 °C tot -35 °C)

Symbol	Component	Aantal
PCAL	Positieve qHBV-kalibrator <i>Plasmide DNA in gebufferde oplossing</i>	5 x 2,5 mL
	Barcode label kalibrator	—

Aptima HBV Quant-controlekit (Cat. nr. PRD-03426)
 (na ontvangst bewaren bij -15 °C tot -35 °C)

Symbol	Component	Aantal
NC	Negatieve qHBV-controle <i>HBV-negatief gedefibrineerd humaan plasma met gentamicine en 0,2% natriumazide als conserveringsmiddelen.</i>	5 x 0,8 mL
LPC	Laag-positieve qHBV-controle <i>Geïnactiveerd positief HBV-plasma in gedefibrineerd humaan plasma met gentamicine en 0,2% natriumazide als conserveringsmiddelen.</i>	5 x 0,8 mL
HPC	Hoog-positieve qHBV-controle <i>Geïnactiveerd positief HBV-plasma in gedefibrineerd humaan plasma met gentamicine en 0,2% natriumazide als conserveringsmiddelen.</i>	5 x 0,8 mL
	Barcodelabel controles	—

Aptima HBV Quant Target Enhancer Reagent-does
 (bewaren op 15 °C tot 30 °C na ontvangst)

Symbol	Component	Aantal
TER	qHBV Target Enhancer Reagent <i>Een geconcentreerde oplossing van lithiumhydroxide</i>	1 x 46,0 mL

Benodigde maar apart geleverde materialen

Opmerking: Materialen die verkrijgbaar zijn bij Hologic hebben catalogusnummers, tenzij anders aangegeven.

Material	Cat. Nr.
Panther™ System	303095
Panther Fusion™ System	PRD-04172
Panther™-systeem, continu vloeistof en afval (Panther Plus)	PRD-06067
Aptima® HBV Quant-calibrator kit	PRD-03425
Aptima® HBV Quant-controlekit	PRD-03426
Panther Run Kit for Real Time Assays (uitsluitend voor realtime assays)	PRD-03455 (5.000 testen)
Aptima® Assay Fluids Kit (ook bekend als universele vloeistofkit) <i>bevat Aptima®-wasoplossing, Aptima®-buffer voor deactiveringsvloeistof en Aptima®-oliereagens</i>	303014 (1.000 testen)
<i>Multi-tube units (MTU's, uit meerdere buisjes bestaande eenheden)</i>	104772-02
<i>Panther™-afvalzakpakket</i>	902731
<i>Panther™-afvalbakdeksel</i>	504405
Of, runkit voor het Panther™-systeem <i>(als niet-realtime TMA-assays op hetzelfde moment als realtime TMA-assays worden gedraaid)</i> <i>bevat MTU's, afvalzakken, afvalbakdeksels, automatische detectie en assayvloeistof</i>	303096 (5.000 testen)

Materiaal	Cat. Nr.
Punten, 1000 µL, geleidend, vloeistofdetectie	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan)
<i>Sommige producten zijn mogelijk niet in alle regio's verkrijgbaar. Neem contact op met uw vertegenwoordiger voor informatie over de beschikbaarheid in uw regio.</i>	
Bleekmiddel, 5% tot 8,25% (0,7 M tot 1,16 M) natriumhypochlorietoplossing	—
Poederloze wegwerphandschoenen	—
Vervangende niet-doorprikbare doppen	103036A
Vervangende doppen voor reagentia	
<i>Reconstitutieflessen voor amplificatie-, enzym- en promoterreagens</i>	CL0041 (100 doppen)
<i>TCR-fles</i>	CL0040 (100 doppen)
<i>TER-fles</i>	501604 (100 doppen)
Laboratoriumtafelkanten met plastic achterkant	—
Pluisvrije doekjes	—
Pipet	—
Tips	—
Opties primaire afnamebuisjes:	
<i>13 mm x 100 mm</i>	—
<i>13 mm x 75 mm</i>	—
<i>16 mm x 100 mm</i>	—
Centrifuge	—
Vortexmixer	—

Optionele materialen

Materiaal	Cat. Nr.
Opties secundaire buizen:	
<i>12 mm x 75 mm</i>	—
<i>13 mm x 100 mm</i>	—
<i>16 mm x 100 mm</i>	—
<i>Aptima® Specimen Aliquot Tubes (SAT) (100 stuks)</i>	FAB-18184
Dop voor transportbuizen (100 stuks)	504415
<i>dop voor SAT</i>	
Aptima® Specimen Diluent	PRD-03003
Aptima® Specimen Diluent Kit	PRD-03478
<i>bevat specimenverduunningsmiddel, 100 SAT's en 100 doppen</i>	
Transferpipetten	—
Wattenstaafjes	—
Schudmachine	PRD-03488

Testprocedure voor het Panther-systeem

Opmerking: Raadpleeg de Gebruikershandleiding van het Panther/Panther Fusion-systeem voor meer informatie over procedures.

A. Voorbereiding van het werkoppervlak

1. Reinig de werkoppervlakken waarop reagentia worden bereid.
Veeg werkoppervlakken af met 2,5% tot 3,5% (0,35 M tot 0,5 M) natriumhypochlorietoplossing. Laat de natriumhypochlorietoplossing ten minste 1 minuut intrekken en spoel de werkoppervlakken vervolgens af met gedeïoniseerd (DI) water. De natriumhypochlorietoplossing mag niet opdrogen. Bedek het werkoppervlak met schone, absorberende laboratoriumtafelkleden met een plastic achterkant.
2. Reinig een apart deel van het werkoppervlak waar monsters worden bereid. Gebruik de hierboven beschreven procedure (stap A.1).
3. Reinig de pipetten. Gebruik de hierboven beschreven reinigingsprocedure (stap A.1).

B. Voorbereiding kalibrator en controles

Voer de volgende stappen uit om ervoor te zorgen dat de kalibrator en controles zich tussen 15 °C en 30 °C bevinden vóór verwerking:

1. Verwijder de kalibrator en controle uit de opslag (-15 °C tot -35 °C) en plaats ze tussen 15 °C en 30 °C. Draai elke buis voorzichtig om en dit meermaals tijdens het volledige ontdooiingsproces, zodat de inhoud van de buizen grondig wordt vermengd. Controleer vóór gebruik of de inhoud van de buis volledig ontdooid is.

Optie. Kalibrator- en controlebuizen mogen op een schudmachine worden geplaatst om de inhoud goed te mengen. Controleer vóór gebruik of de inhoud van de buis volledig ontdooid is.

Opmerking: Voorkom overmatige schuimvorming bij het omkeren van de kalibrator en de controles. Schuim verstoort detectie van het vloeistofpeil door het Panther-systeem.

2. Droog na ontdooiing van de inhoud de buitenkant van de buis af met een schoon, droog wegwerpdoekje.
3. Open de buizen niet om vervuiling te voorkomen.

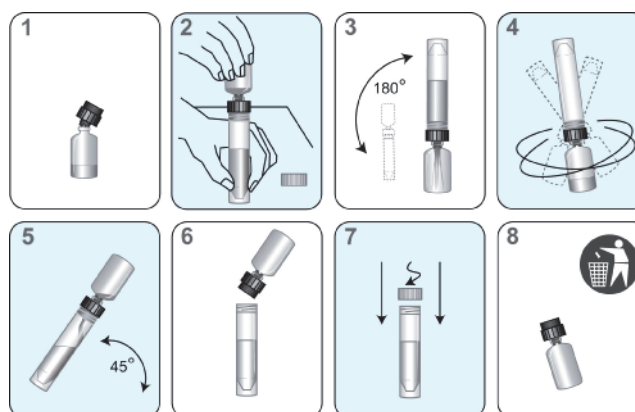
C. Reagensrestitutie/bereiding van een nieuwe kit

Opmerking: Reagentia moeten voorafgaand aan gebruik met het Panther-systeem worden gereconstitueerd.

1. Voer de volgende stappen uit om TCR voor te bereiden:
 - a. Haal de TCR uit de opslag (2 °C tot 8 °C). Controleer of het lotnummer op de TCR-fles overeenkomt met het lotnummer op het streepjescodeblad van de hoofdlot.
 - b. Schud de TCR-fles onmiddellijk 10 keer krachtig heen en weer. Laat de TCR-fles bij 15 °C tot 30 °C ten minste 45 minuten opwarmen. In die tijdsperiode dient u de TCR-fles ten minste om de 10 minuten rond te draaien en om te keren.
Optie. De TCR-fles kan op een schudmachine worden bereid volgens onderstaande aanwijzingen: Haal de TCR uit de opslag (2 °C tot 8 °C) en schud de fles onmiddellijk 10 keer krachtig. Zet de TCR-fles op een schudmachine en laat deze bij 15 °C tot 30 °C ten minste 45 minuten opwarmen.
 - c. Controleer vóór gebruik of alle neerslag is opgenomen in de oplossing en de magnetische deeltjes zijn gesuspendeerd.
2. Ga als volgt te werk om amplificatie-, enzym- en promotorreagentia te reconstitueren:
 - a. Haal de gevriesdroogde reagentia en bijbehorende reconstitutieoplossingen uit de opslag (2 °C tot 8 °C). Voeg elke reconstitutieoplossing toe aan het bijbehorende gevriesdroogde reagens.

- b. Controleer of de etiketten op de reconstitutieoplossing en het gevriesdroogde reagens dezelfde kleur hebben. Controleer de lotnummers op het streepjescodeblad van de hoofdpartij om te garanderen dat de juiste reagentia met elkaar worden gecombineerd.
- Open het gevriesdroogde reagensflesje door de metalen afdichting te verwijderen en de rubberen stop eraf te halen.
 - Steek het ingekeepte uiteinde van de reconstitutieadapter (zwart) stevig in de injectieflacon (Afbeelding 5, stap 1).
 - Open de bijbehorende fles met reconstitutieoplossing en leg de dop op een schoon, afgedekt werkoppervlak.
 - Plaats de fles met reconstitutieoplossing op een stabiele ondergrond (bijvoorbeeld een tafel). Keer vervolgens het gevriesdroogde reagensflesje om boven de fles met reconstitutieoplossing en bevestig de adapter stevig aan de fles met reconstitutieoplossing (Afbeelding 5, stap 2).
 - Keer de gekoppelde flessen (injectieflacon bevestigd aan de fles met oplossing) langzaam om, zodat de oplossing in de glazen injectieflacon kan lopen (Afbeelding 5, stap 3).
 - Pak de gekoppelde flessen op en draai de gemonteerde flessen minimaal 10 seconden rond (Afbeelding 5, stap 4).
 - Wacht minstens 30 minuten totdat het gevriesdroogde reagens in de oplossing is opgenomen.
 - Draai nadat het gevriesdroogde reagens in de oplossing is opgenomen, de aan elkaar bevestigde flessen ten minste 10 seconden rond en schud de oplossing in het glazen flesje daarna lichtjes heen en weer om de inhoud goed te vermengen.
- c. Kantel de gekoppelde flessen weer langzaam zodat alle oplossing weer in de fles met reconstitutieoplossing kan lopen (Afbeelding 5, stap 5).
- d. Verwijder voorzichtig de reconstitutieadapter en de glazen injectieflacon (Afbeelding 5, stap 6).
- e. Plaats de dop terug op de fles. Noteer de initialen van de laborant en de reconstitutedatum op het etiket (Afbeelding 5, stap 7).
- f. Gooi de reconstitutiekraag en het glazen flesje weg (Afbeelding 5, stap 8).

Waarschuwing: Voorkom overmatige schuimvorming bij reconstitutie van reagentia. Schuim verstoort detectie van het vloeistofpeil door het Panther-systeem.



Afbeelding 5. Reconstitutieproces van reagentia

3. Haal de qHBV Target Enhancer Reagent uit de opslag (15 °C tot 30 °C). Noteer de initialen van de gebruiker en de datum op het etiket. Controleer of het partijnummer op de TER-fles overeenkomt met het partijnummer op het streepjescodeblad van de hoofdpartij.

D. Bereiding van reagentia voor eerder bereide reagentia

1. Haal de eerder voorbereide reagentia uit de opslag (2 °C tot 8 °C). Eerder bereide amplificatie-, enzym- en promotorreagentia en TCR moeten op 15 °C tot 30 °C worden gebracht voorafgaand aan de aanvang van de assay.
2. Haal de TER uit de opslag (15 °C tot 30 °C).
3. Voer voor eerder bereid TCR bovenstaande stap C.1 uit voordat u het met het systeem gebruikt.
4. Om de amplificatie-, enzym- en promotorreagentia grondig te mengen voor ze in het systeem worden gebruikt, dient u ze rond te draaien en om te keren. Voorkom overmatige schuimvorming bij het omkeren van reagentia.

Optie: de eerder bereide reagentia kunnen worden bereid op een schudapparaat door de volgende instructies te volgen: haal de reagentia uit de opslag (2 °C tot 8 °C). Plaats de reagentia op een schudapparaat en laat ze minstens 30 minuten opwarmen bij 15 °C tot 30 °C.

5. Flessen met reagentia mogen niet helemaal worden gevuld. Het Panther-systeem herkent te volle flessen en verwerkt die niet.

E. Specimenafhandeling

1. Bewaar verwerkte specimens in primaire buisjes of onverdunde specimens in secundaire buisjes op de juiste manier volgens de richtlijnen in *Specimenafname*.
2. Controleer of bevroren specimens goed ontdooid zijn. Vortex de ontdooidde specimens gedurende 3 tot 5 seconden om goed te mengen.
3. Zorg dat de specimens zich vóór verwerking tussen 15 °C en 30 °C bevinden. Raadpleeg *Monsters in het Panther-systeem* voor aanvullende informatie.
4. Controleer of elk primair afnamebuisje ten minste 1200 µl specimenmateriaal bevat en of elke SAT ten minste 700 µl specimenmateriaal bevat. Raadpleeg de tabel op *Specimenafname* om te bepalen hoeveel dood volume elk type primair en secundair buisje moet bevatten. Als het monster moet worden verdund, raadpleeg dan stap E.5 hieronder voor meer informatie.
5. Verdun een plasma- of serummonster 1:3 in een SAT-buisje of 1:100 in een secundair buisje.

Een specimen mag in een secundair buisje worden verdund voor analyse met het Panther-systeem.

Opmerking: Als een specimen wordt verdund, moet het onmiddellijk na verdunning worden getest.

a. Verdunning van laagvolumemonsters

De hoeveelheid specimens kan worden verhoogd tot de vereiste minimumhoeveelheid (700 µl) met behulp van het Aptima-specimenverdunningsmiddel. Specimens van ten minste 240 µl kunnen als volgt worden verdund met twee delen specimenverdunningsmiddel (1:3):

- i. Doe 240 µL specimen in een SAT-buis.
- ii. Voeg 480 µl Aptima-specimenverdunningsmiddel toe.
- iii. Plaats een dop op het buisje.
- iv. Draai het buisje voorzichtig 5 keer om voor een goede menging van de inhoud.

Specimens kunnen met een verdunningsfactor van 1:3 worden getest met de 1:3-optie van het Panther-systeem (zie de *Gebruikershandleiding van het Panther/Panther Fusion-systeem* voor meer informatie). De software berekent automatisch de resultaten voor het zuivere specimen, waarbij de verdunningsfactor wordt toegepast. Deze monsters worden gemarkeerd als verdunde monsters.

b. Verdunning van monsters met een hoge titer

Als het resultaat van een specimen hoger is dan de bovengrens voor de kwantificering (ULoQ), mag het als volgt worden verdund met 99 delen Aptima-specimenverdunningsmiddel (1:100):

- i. Breng 30 µl specimenmateriaal over naar een SAT of een secundair buisje.
- ii. Voeg 2970 µL Aptima-specimenverdunningsmiddel toe.
- iii. Plaats een dop op het buisje.
- iv. Draai het buisje voorzichtig 5 keer om voor een goede menging van de inhoud.

Specimens die 1:100 zijn verdund, kunnen worden getest met de optie 1:100 op het Panther System (zie de *Gebruikershandleiding van het Panther/Panther Fusion-systeem* voor meer informatie). De software berekent automatisch de resultaten voor het zuivere specimen, waarbij de verdunningsfactor wordt toegepast. Deze monsters worden gemarkeerd als verdunde monsters.

Opmerking: De resultaten van verdunde specimens met zuivere concentraties die boven de bovengrens voor kwantificering (ULoQ) liggen, worden in de wetenschappelijke notatie gerapporteerd.

6. Vlak voordat u de specimens in een specimenrek plaatst, centrifugeert u elk specimen gedurende 10 minuten op 1000 tot 3000 g. Verwijder de doppen niet. Luchtbellen in de buizen kunnen de detectie van het vloeistofpeil door het Panther-systeem verstoren. Raadpleeg *Vorbereiding van het systeem*, stap F.2 hieronder, voor informatie over het beladen van het rek en het verwijderen van de doppen.

F. Voorbereiding van het systeem

1. Stel het systeem in volgens de instructies in de *Gebruikershandleiding bij het Panther/Panther Fusion-systeem* en *Procedurale opmerkingen*. Zorg ervoor dat de reagensrekken en TCR-adapters van de juiste grootte worden gebruikt.
2. Laad monsters in het monsterrek. Voer de volgende stappen uit voor elk specimenbuisje (specimen en, indien nodig, kalibrators en controles):
 - a. Draai de dop van één monsterbuis los, maar verwijder deze nog niet.

Opmerking: Wees vooral voorzichtig om besmetting via verspreiding van aerosolen te voorkomen. Draai de doppen op de monsters voorzichtig los.

- b. Laad de monsterbuis in het monsterrek.
- c. Herhaal stap 2.a en 2.b voor elk resterend monster.
- d. Nadat de monsters in het monsterrek geladen zijn, verwijder en gooi elke monsterbuisdop weg in één monsterrek. Houd een dop niet boven andere monsterrekken of monsterbuizen om besmetting te voorkomen.
- e. Gebruik zo nodig een nieuwe wegwerptransferpipet om luchtbellen of schuim te verwijderen.
- f. Wanneer de laatste dop is verwijderd, laadt u het monsterrek in het monstervak.

Opmerking: Als u tegelijkertijd andere assays met andere soorten monsters uitvoert, zet de monsterhouder dan vast voordat u het monsterrek in het monstervak plaatst.

- g. Herhaal stappen 2.a tot en met 2.f voor het volgende monsterrek.

Procedurele opmerkingen

A. Kalibrator en controles

1. De buizen voor de positieve qHBV-kalibrator, de laag-positieve qHBV-controle, de hoog-positieve qHBV-controle en de negatieve qHBV-controle kunnen in elke positie in het specimenrek en in elke specimenvakbaan in het Panther-systeem worden geplaatst. Het pipetteren van specimen begint wanneer aan een van de volgende twee voorwaarden is voldaan:
 - a. De kalibrator en controles worden op het moment verwerkt door het systeem.
 - b. Geldige resultaten voor de kalibrator en controles worden in het systeem geregistreerd.
2. Wanneer de kalibrator en controlebuizen zijn gepipetteerd en voor de Aptima HBV Quant Assay-reagenskit worden verwerkt, kunnen specimens tot maximaal 24 uur met de bijbehorende gereconstitueerde kit worden getest **behalve** in de volgende gevallen:
 - a. De resultaten voor de kalibrator of controles zijn ongeldig.
 - b. De bijbehorende assayreagentiakit is uit het systeem verwijderd.
 - c. De bijbehorende assayreagenskit heeft de stabiliteitsgrenzen overschreden.
3. De kalibrator en elke controlebuis kunnen maar één keer worden gebruikt. Pogingen om de buis vaker dan een keer te gebruiken kunnen leiden tot verwerkingsfouten.

B. Handschoenpoeder

Net als bij elk reagenssysteem kan overmatig poeder van sommige handschoenen geopende buisjes vervuilen. Poederloze handschoenen worden daarom aanbevolen.

Kwaliteitscontrole

Het resultaat van een run of specimen kan door een gebruiker ongeldig worden verklaard als technische, bedienings- of instrumentproblemen zijn waargenomen tijdens de uitvoering van de assay en deze zijn genoteerd. In dit geval moeten specimens opnieuw worden getest.

Assaykalibratie

Voor geldige resultaten moet een assay gekalibreerd zijn. Eén enkele positieve kalibrator wordt in drievoud uitgevoerd telkens wanneer een reagenskit in het Panther-systeem wordt geplaatst. Zodra die is vastgesteld, is de kalibratie maximaal 24 uur geldig. Software op het Panther-systeem waarschuwt de gebruiker wanneer kalibratie nodig is. De gebruiker scant een kalibratiecoëfficiënt van het streepjescodeblad van de hoofdlot dat met elke reagenskit is meegeleverd.

Bij verwerking worden criteria voor het accepteren van de kalibrator automatisch geverifieerd door de software op het Panther-systeem. Als minder dan twee van de kalibratorreplica's geldig zijn, beschouwt de software de run automatisch als ongeldig. Monsters in een ongeldige run moeten opnieuw worden getest met een net voorbereide kalibrator en net bereide controles.

Negatieve en positieve controles

Voor geldige resultaten moet een set assaycontroles worden getest. Eén replica van de negatieve controle, de laag-positieve controle en de hoog-positieve controle moet telkens wanneer een reagenskit in het Panther-systeem wordt geplaatst, worden getest. Zodra die zijn vastgesteld, zijn de controles maximaal 24 uur geldig. Software op het Panther-systeem waarschuwt de gebruiker wanneer controles nodig zijn.

Bij verwerking worden criteria voor het accepteren van controles automatisch geverifieerd door de software op het Panther-systeem. Voor geldige resultaten moet de negatieve controle het resultaat "Niet gedetecteerd" opleveren en de resultaten van de positieve controles moeten binnen de vooraf gedefinieerde parameters vallen (LPC Nominal Target: $2,7 \log_{10}$ IE/mL, HPC Nominaal doel: $4,6 \log_{10}$ IE/mL). Als een van de controles een ongeldig resultaat heeft, beschouwt de software de run automatisch als ongeldig. Monsters in een ongeldige run moeten opnieuw worden getest met een net voorbereide kalibrator en net bereide controles.

Interne kalibrator / Interne controle

Elk monster bevat een interne kalibrator/interne controle (IC). Bij verwerking worden IC-acceptatiecriteria automatisch geverifieerd door de Panther-systeemsoftware. Als een IC-resultaat ongeldig is, wordt het monsterresultaat als ongeldig beschouwd. Elk monster met een ongeldig IC-resultaat moet opnieuw worden getest voor een geldig resultaat.

De Panther-systeemsoftware is ontworpen om processen nauwkeurig te verifiëren wanneer procedures worden uitgevoerd volgens de instructies in deze bijsluiters en in de *Gebruikershandleiding van het Panther/Panther Fusion-systeem*.

Interpretatie van resultaten

Het Panther-systeem stelt automatisch de HBV-DNA-concentratie vast voor specimen en controles door de resultaten te vergelijken met een kalibratiecurve. HBV-DNA-concentraties worden gerapporteerd in IE/mL en \log_{10} IE/mL. De interpretatie van de resultaten staat in Tabel 1. Als de verdunningsoptie wordt gebruikt, berekent het Panther-systeem automatisch de HBV-concentratie voor het verdunde specimen door de verdunde concentratie met de verdunningsfactor te vermenigvuldigen, en worden verdunde specimen aangemerkt als verdund.

Opmerking: Voor verdunde specimen kunnen resultaten met de vermelding 'Niet gedetecteerd' of '<10 gedetecteerd' worden gegenereerd door een specimen te verdunnen met een concentratie zoals hierboven, maar dicht bij de LoD (detectielimiet) of LLoQ (onderste kwantificeringlimiet). Aanbevolen wordt nog een ander verdund specimen af te nemen en te testen als er geen kwantitatief resultaat werd verkregen.

Tabel 1: Resultaatinterpretatie

Gerapporteerde Aptima HBV Quant Assay-resultaten		Interpretatie
IE/mL	\log_{10} IE/mL ^a	
Niet aangetroffen	Niet aangetroffen	HBV-DNA niet aangetroffen.
<10 aangetroffen	<1.00	HBV-DNA is aangetroffen maar in een concentratie lager dan de LLoQ.
10 tot 1.000.000.000	1.00 tot 9.00	De HBV-DNA-concentratie ligt binnen het lineaire bereik van 10 tot 1.000.000.000 IE/mL.
>1.000.000.000	>9.00	HBV-DNA-concentratie is hoger dan de ULoQ.
Ongeldig ^b	Ongeldig ^b	Fout aangegeven bij het genereren van het resultaat. Specimen moet opnieuw worden getest.

^a Waarde is afgerond op twee decimalen.

^b Ongeldige resultaten worden in een blauw lettertype weergegeven.

De resultaten van verdunde specimen met zuivere concentraties die boven de bovengrens voor kwantificering (ULoQ) liggen, worden in de wetenschappelijke notatie gerapporteerd.

De acceptatiecriteria voor elke controle van de Aptima HBV Quant-assay worden beschreven in Tabel 2 hieronder.

Opmerking: Het herstellbereik hieronder verandert per toegewezen waarde van elke specifieke partij. Raadpleeg de specifieke waarde voor elke controle die vermeld is op het blad met de barcode in de controledoos.

Tabel 2: Acceptatiecriteria voor herstellbereik voor de Aptima HBV Quant Assay-controles.

Component	Herstellbereik voor geldige runs
Negatieve Controle	n.v.t.
Positieve Controle laag	+/- 0,55 \log_{10} IE/mL
Positieve Controle hoog	+/- 0,5 \log_{10} IE/mL

Beperkingen

- A. Alleen personeel dat is getraind in de procedure mag deze assay gebruiken.
Niet-naleving van de instructies in deze bijsluiter kan leiden tot foutieve resultaten.
- B. Betrouwbare resultaten zijn afhankelijk van een adequate afname, transport, opslag en verwerking van specimens.

Analytische prestaties

Detectielimiet op basis van de 3e internationale WHO-norm

De detectielimiet (LoD) van de test wordt gedefinieerd als de concentratie van HBV-DNA die wordt gedetecteerd met een waarschijnlijkheid van 95% of meer volgens CLSI EP17-A2.¹¹

De LoD werd bepaald op grond van testen met panels van de 3e internationale WHO-norm voor hepatitis B-virus-DNA (NIBSC 10/264, genotype A) verdund in HBV negatief humaan EDTA plasma en serum. Minimaal 36 replica's van elke verdunning werden getest met een van drie reagenspartijen voor minimaal 108 replica's per verdunning.

Een waarschijnlijkheidsanalyse werd uitgevoerd voor de 95% voorspelde detectielimieten.

De LoD-waarden zijn de resultaten van de batch reagentia met de hoogste voorspelde detectielimiet. De LoD voor de Aptima HBV Quant-assay op basis van de 3e internationale WHO-norm is 4.8 IE/mL voor plasma en 5.9 IE/mL voor serum.

Detectielimiet voor alle HBV-genotypen

De LoD werd bepaald door verdunningen te testen van HBV-positieve klinische specimens van genotypen A, B, C, D, E, F, G en H in HBV-negatief humaan plasma en serum.

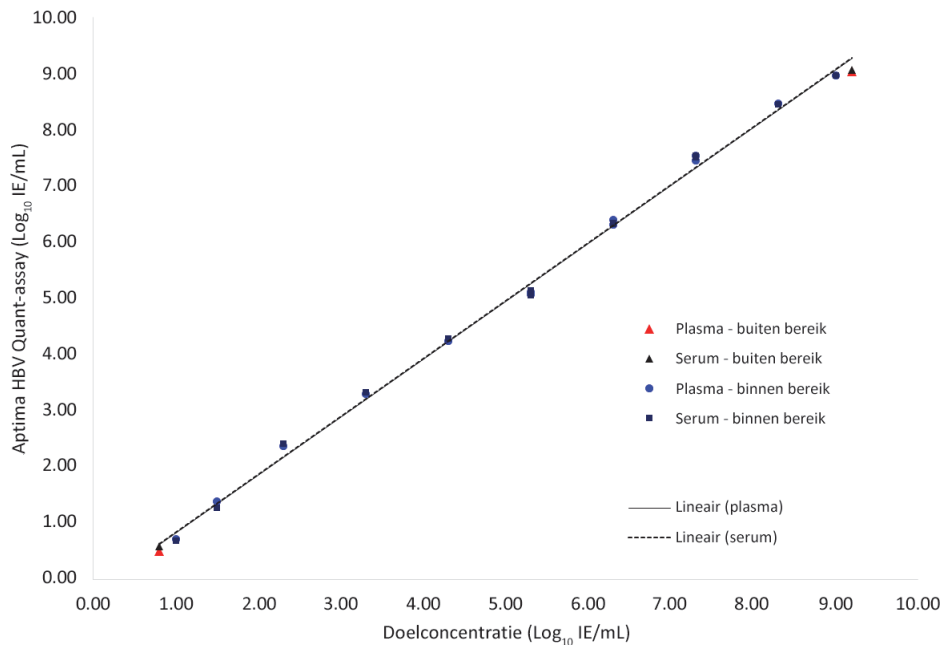
Concentraties werden bepaald met behulp van een goedgekeurde assay. Minimaal 24 replica's van elk panellid werden getest met elke van twee reagenspartijen voor minimaal 48 replica's per panellid. Een waarschijnlijkheidsanalyse werd uitgevoerd voor 95% voorspelde detectielimieten. De LoD-waarden weergegeven in Tabel 3 zijn de resultaten van de batch reagentia met de hoogste voorspelde detectielimiet.

Tabel 3: Detectielimiet (95% voorspelde detectielimiet) voor alle HBV-genotypen met behulp van klinische specimens

Genotype	Concentratie (IE/mL)	
	Plasma	Serum
A	3.3	4.1
B	2.9	3.9
C	4.9	5.2
D	5.7	5.4
E	5.8	5.8
F	3.0	4.0
G	2.8	7.4
H	5.5	6.3

Lineair bereik

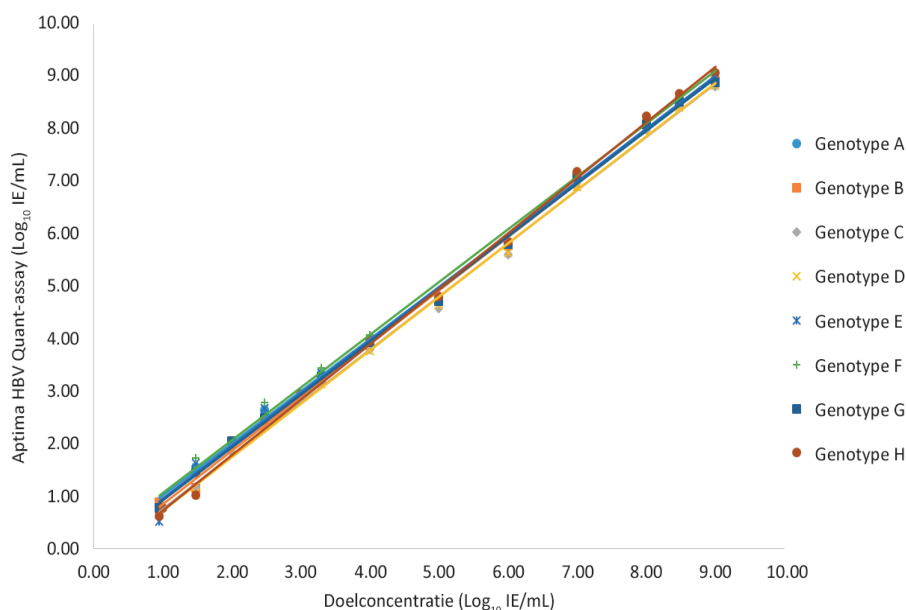
Het lineaire bereik werd vastgesteld door panels te testen van HBV genotype A-virus ($0.78 \log_{10}$ IE/mL tot $7.30 \log_{10}$ IE/mL) en plasmide-DNA ($5.30 \log_{10}$ IE/mL tot $9.18 \log_{10}$ IE/mL) verdund in HBV-negatief humaan plasma en serum volgens CLSI EP06-A.¹² De Aptima HBV Quant-assay toonde lineariteit over het geteste bereik, met een bovengrens voor kwantificering (ULoQ) van $9 \log_{10}$ IE/mL zoals weergegeven in Afbeelding 6.



Afbeelding 6. Lineariteit in plasma en serum

Lineariteit voor alle HBV-genotypen

De lineariteit van HBV-genotypes werd vastgesteld door individuele klinisch positieve monsters te testen op genotypen A, E, F, G en H, en PEI 1e WHO-referentiepanels (PEI 5086/08) voor genotypen B, C en D. Het virus werd gebruikt voor het onderste bereik van de assay (4 log₁₀ IE/mL en lager voor genotypen A-G, 3 log₁₀ IE/mL en lager voor genotype H). Plasmide-DNA werd gebruikt voor het bovenste bereik met een overlap van 2 log₁₀. Verdunningen in negatief humaan plasma werden getest op alle genotypen. Lineariteit werd aangetoond in het gehele geteste bereik voor alle genotypen zoals weergegeven in Afbeelding 7.



Afbeelding 7. Lineair bereik en lineariteit (Plasma)

Ondergrens voor kwantificering op basis van de 3e internationale WHO-norm

De ondergrens van kwantificering wordt gedefinieerd als de laagste concentratie waarin HBV-DNA op betrouwbare wijze wordt gekwantificeerd binnen een totale fout conform CLSI EP17-A2.¹¹ De totale fout werd geschat met behulp van twee methoden:

Totale analytische fout (TAE) = |bias| + 2SD en totale fout (TE) = SQRT(2) x 2SD.

Om de nauwkeurigheid en precisie van de metingen te garanderen, is de totale fout van de Aptima HBV Quant-assay ingesteld op 1 log₁₀ IE/mL (d.w.z. dat bij LLoQ een verschil tussen twee metingen van meer dan 1 log₁₀ IE/mL statistisch significant is).

De LLoQ werd bepaald op grond van testen met panels van de 3e internationale WHO-norm voor hepatitis B-virus-DNA (NIBSC 10/264, genotype A) verdund in HBV negatief humaan plasma en serum. Vijfenvestig (45) replica's van elke verdunning werden getest met elk van drie reagenspartijen voor een minimum van 135 replica's per verdunning. De resultaten voor de reagenspartijen worden getoond in Tabel 4 voor plasma en in Tabel 5 voor serum. De resultaten voor de laagste waargenomen concentratie die overeenkomt met de nauwkeurigheidsdoelstelling (TE ≤ 1 log₁₀ IE/mL en TAE ≤ 1 log₁₀ IE/mL) met >95% detectie worden met schaduw weergegeven in beide tabellen en worden samengevat in Tabel 6.

De berekende LLOQ voor de 3e internationale WHO-standaard voor hepatitis B-virus is 6 IE/mL (0.79 log₁₀ IE/mL) voor plasma en 8 IE/mL (0.88 log₁₀ IE/mL) voor serum, die zijn gebaseerd op de hoogste berekende concentratie tussen de drie reagenspartijen conform

CLSI EP17-A2. De LLoQ is opgesteld voor alle genotypen (zie *Ondergrens van kwantificering van alle HBV-genotypen*). De gegevens van dit genotype bepalen de algehele LLoQ voor de assay als 10 IE/mL.

Tabel 4: Bepaling van LLoQ op basis van de 3e internationale WHO-norm voor HBV verdund in plasma

Reagenspartij	Aptima HBV Quant (IE/mL)	Aptima HBV Quant (Log ₁₀ IE/mL)	SD (Log ₁₀ IE/mL)	Bias (Log ₁₀ IE/mL)	Berekende TE (Log ₁₀ IE/mL)	Berekende TAE (Log ₁₀ IE/mL)
1	3	0.53	0.21	0.32	0.59	0.74
	3	0.52	0.21	0.38	0.61	0.81
	5	0.70	0.23	0.25	0.65	0.71
2	6	0.76	0.26	0.09	0.73	0.60
	5	0.69	0.22	0.21	0.63	0.65
	6	0.77	0.25	0.18	0.70	0.68
3	6	0.79	0.31	0.05	0.88	0.68
	8	0.88	0.23	0.02	0.66	0.48
	9	0.96	0.23	0.00	0.66	0.47

SD=standaarddeviatie.

Panelleden die aan de nauwkeurigheidsovereenstemming (TE ≤1 en TAE ≤1), > LoD, en >95% detectie voor reagensslotnummers 1, 2 en 3 hebben voldaan, zijn gearceerd.

Tabel 5: Bepaling van LLoQ met behulp van de 3e internationale WHO-standaard voor HBV verdund in serum

Reagenspartij	Aptima HBV Quant (IE/mL)	Aptima HBV Quant (Log ₁₀ IE/mL)	SD (Log ₁₀ IE/mL)	Bias (Log ₁₀ IE/mL)	Berekende TE (Log ₁₀ IE/mL)	Berekende TAE (Log ₁₀ IE/mL)
1	4	0.65	0.24	0.20	0.67	0.67
	5	0.65	0.24	0.25	0.68	0.73
	5	0.67	0.22	0.28	0.63	0.73
2	5	0.70	0.29	0.14	0.82	0.72
	5	0.72	0.27	0.18	0.77	0.72
	6	0.75	0.24	0.20	0.68	0.68
3	8	0.88	0.29	0.04	0.83	0.63
	10	0.98	0.23	0.08	0.66	0.55
	11	1.02	0.28	0.07	0.78	0.62

SD=standaarddeviatie.

Panelleden die aan de nauwkeurigheidsovereenstemming (TE ≤1 en TAE ≤1), > LoD, en >95% detectie voor reagensslotnummers 1, 2 en 3 hebben voldaan, zijn gearceerd.

Tabel 6: Samenvatting van de berekende LLoQ met behulp van de 3e internationale standaard van de WHO voor HBV

Reagenspartij	Plasma LLoQ		Serum LLoQ	
	IE/mL	Log ₁₀ IE/mL	IE/mL	Log ₁₀ IE/mL
1	5	0.70	4	0.65
2	5	0.69	5	0.72
3	6	0.79	8	0.88

Ondergrens van kwantificering van alle HBV-genotypen

De LLoQ werd bepaald door verdunningen te testen van HBV-positieve klinische specimens van genotypen A, B, C, D, E, F, G en H in HBV-negatief humaan plasma en serum. Toewijzing van de concentratie voor klinische specimens werd bepaald met behulp van een comparator-assay. In totaal werden 36 replica's van elk panellid getest met elk van twee reagenspartijen voor minimaal 72 replica's per panellid. De resultaten voor de laagste waargenomen concentratie die voldoet aan de nauwkeurigheidsdoelstelling ($TE \leq 1 \log_{10}$ IE/mL en $TAE \leq 1 \log_{10}$ IE/mL) met >95% detectie voor elke reagenspartij worden weergegeven in Tabel 7 voor plasma en Tabel 8 voor serum. De hoogste waargenomen concentratie van de reagenspartijen voor elk genotype staat samengevat in Tabel 9. Genotype D in serum had de hoogste LLoQ met 9 IE/mL (0,96 \log_{10} IE/mL). Dit ondersteunde de algehele LLoQ voor de assay als 10 IE/mL.

Tabel 7: Vaststelling van LLoQ over alle HBV-genotypen in plasma

HBV-genotype	Reagens-partij	Aptima HBV Quant ^a (IE/mL)	Aptima HBV Quant ^a (\log_{10} IE/mL)	SD (\log_{10} IE/mL)	Bias (\log_{10} IE/mL)	Berekende TE (\log_{10} IE/mL)	Berekende TAE (\log_{10} IE/mL)
A	1	6	0.74	0.24	0.10	0.67	0.58
	2	7	0.85	0.20	0.00	0.57	0.40
B	1	4	0.65	0.24	0.20	0.67	0.67
	2	6	0.75	0.25	0.10	0.70	0.59
C	1	4	0.61	0.21	0.35	0.60	0.77
	2	6	0.75	0.30	0.20	0.84	0.80
D	1	7	0.87	0.28	0.31	0.81	0.88
	2	8	0.91	0.30	0.26	0.86	0.87
E	1	8	0.88	0.32	0.29	0.89	0.92
	2	7	0.82	0.21	0.36	0.60	0.78
F	1	6	0.76	0.27	0.08	0.76	0.62
	2	7	0.86	0.30	0.01	0.84	0.60
G	1	4	0.59	0.21	0.25	0.60	0.68
	2	4	0.65	0.23	0.19	0.64	0.64
H	1	6	0.78	0.28	0.39	0.80	0.96
	2	7	0.83	0.27	0.34	0.78	0.89

SD=standaarddeviatie.

^a Er zijn extra niveaus uitgevoerd waarvan de gegevens niet in de tabel vermeld staan.

Tabel 8: Vaststelling van LLoQ over HBV genotypen in serum

HBV-genotype	Reagens-partij	Aptima	Aptima	SD	Bias	Berekende TE	Berekende TAE
		HBV Quant ^a (IE/mL)	HBV Quant ^a (Log ₁₀ IE/mL)				
A	1	4	0.65	0.26	0.25	0.73	0.77
	2	6	0.81	0.26	0.04	0.74	0.56
B	1	5	0.70	0.19	0.26	0.54	0.64
	2	5	0.72	0.25	0.18	0.72	0.69
C	1	5	0.66	0.26	0.30	0.74	0.82
	2	6	0.81	0.26	0.10	0.74	0.62
D	1	7	0.84	0.27	0.42	0.75	0.95
	2	9	0.96	0.27	0.29	0.76	0.83
E	1	6	0.79	0.26	0.38	0.75	0.91
	2	8	0.89	0.28	0.29	0.79	0.84
F	1	6	0.76	0.23	0.08	0.66	0.55
	2	5	0.71	0.26	0.14	0.72	0.65
G	1	8	0.89	0.28	0.29	0.80	0.85
	2	5	0.66	0.24	0.29	0.67	0.77
H	1	6	0.74	0.24	0.43	0.67	0.90
	2	6	0.81	0.29	0.37	0.82	0.95

SD=standaarddeviatie.

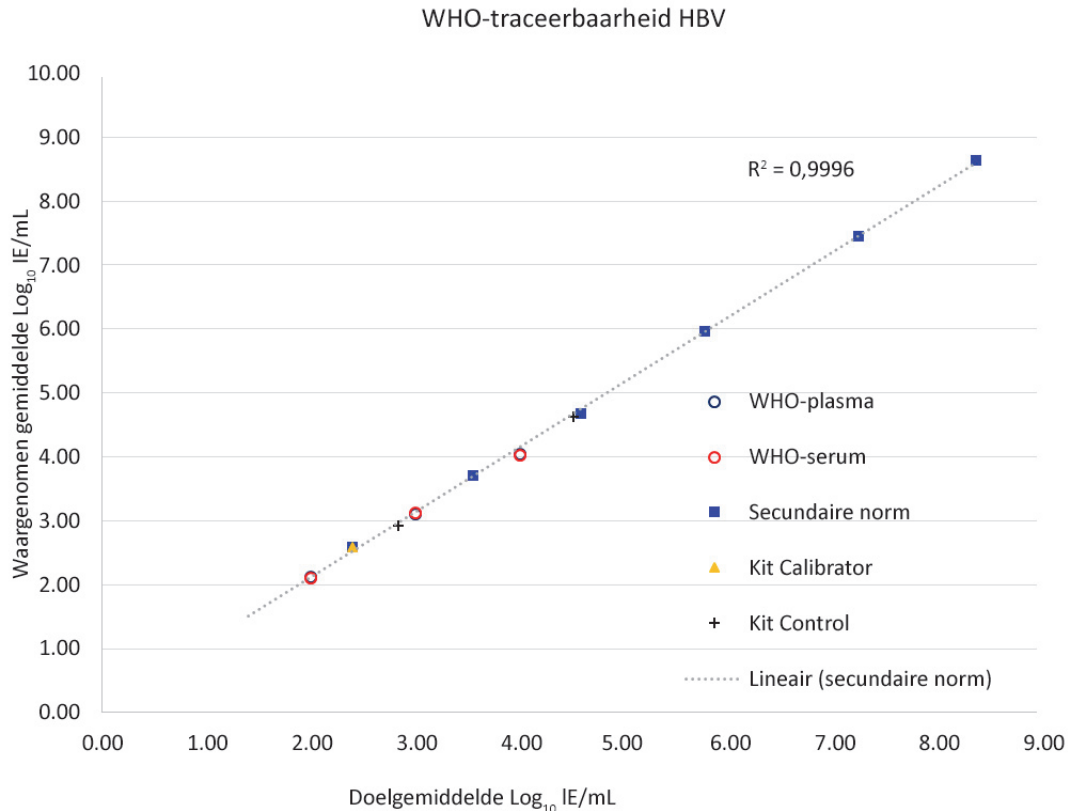
^a Er zijn extra niveaus uitgevoerd waarvan de gegevens niet in de tabel vermeld staan.

Tabel 9: Overzicht van LLoQ voor alle genotypen in plasma en serum

Genotype	Plasma LLoQ		Serum LLoQ	
	IE/mL	Log ₁₀ IE/mL	IE/mL	Log ₁₀ IE/mL
A	7	0.85	6	0.81
B	6	0.75	5	0.72
C	6	0.75	6	0.81
D	8	0.91	9	0.96
E	8	0.88	8	0.89
F	7	0.86	6	0.76
G	4	0.65	8	0.89
H	7	0.83	6	0.81

Traceerbaarheid tot de 3e internationale standaard van de WHO

Een reeks secundaire standaarden met bekende concentraties werd gebruikt tijdens de productontwikkeling en productproductie om traceerbaarheid naar de WHO-standaard vast te stellen. De geteste concentraties voor de HBV WHO-standaard lagen tussen 2,0 en 4,0 log₁₀ IE/mL, de secundaire standaarden varieerden in concentratie van 2,4 tot 8,4 log₁₀ IE/mL. De controles en kalibratoren van de Aptima HBV Quant-assay werden ook getest samen met de secundaire standaarden en de WHO-standaard. Alle panels hadden vergelijkbare resultaten en ze waren lineair verdeeld over het lineaire bereik van de assay, zoals weergegeven in Afbeelding 8.



Afbeelding 8. Traceerbaarheid tussen de 3e HBV WHO -standaard doelconcentraties en waargenomen concentratie van de Aptima HBV Quant-assay

Nauwkeurigheid

Het Aptima HBV Quant-precisiepanel werd gebouwd door HBV-genotype A-virus en HBV-plasmide-DNA te verdunnen in HBV-negatief klinisch plasma en HBV-negatief klinisch serum (de vier hoogste panelleden in elke matrix waren plasmide-DNA). Elf panelleden in elke matrix overspanden het bereik van de assay (doelconcentraties van 1.30 log₁₀ IE/mL tot 8.90 log₁₀ IE/mL) en werden in drie herhalingen per run getest door één operator, met gebruikmaking van drie reagenspartijen op één Panther-systeem gedurende drie dagen, twee runs per dag.

Tabel 10 geeft de precisie van de resultaten van de assay weer (in log₁₀ IE/mL) tussen dagen, tussen partijen, tussen runs, binnen runs en in het algemeen. De totale variabiliteit was voornamelijk te wijten aan de intra-run-meting (d.w.z. willekeurige fout).

Tabel 10: Precisie van de Aptima HBV Quant-assay

Matrix	Monster	N	Gemiddelde concentratie	Gemiddelde concentratie	Tussen partijen	Tussen partijen	Tussen dagen	Tussen dagen	Tussen runs	Tussen runs	Intra-runs	Intra-runs	Totaal	Totaal
			(IE/mL)	(log ₁₀ IE/mL)	SD	Log Normaal CV (%)	SD	Log Normaal CV (%)	SD	Log Normaal CV (%)	SD	Log Normaal CV (%)	SD	Log Normaal CV (%)
Plasma	Virus	34 ^a	32	1,21	0,07	16,2	0,07	16,2	0,05	11,7	0,28	71,8	0,28	78,2
		54	97	1,95	0,05	11,7	0,03	6,8	0,02	5,7	0,15	36,8	0,17	39,9
		54	1.474	3,16	0	1,0	0,02	3,8	0,02	4,8	0,07	15,6	0,07	16,8
		54	10.602	4,02	0,02	4,8	0,02	3,6	0,01	2,4	0,06	14,9	0,07	16,2
		54	429.428	5,63	0,03	6,7	0,01	2,7	0,01	2,4	0,06	14,1	0,07	16,1
	Plasmide-DNA	54	652.103	5,8	0,06	14,2	0,01	3,4	0,01	2,0	0,06	13,1	0,09	19,8
	Virus	54	7.617.612	6,88	0,02	5,6	0,00	0,4	0,02	4,2	0,06	13,4	0,07	15,1
	Plasmide-DNA	54	10.662.942	7,02	0,02	5,3	0,01	2,3	0,01	2,6	0,06	13,1	0,06	14,5
	Virus	54	89.149.358	7,95	0,01	3,4	0,01	2,7	0,01	1,6	0,04	9,7	0,05	10,8
	Plasmide-DNA	54	103.400.000	8,01	0,04	9,4	0,02	3,7	0,01	2,1	0,05	12,0	0,07	15,9
		54	612.200.000	8,78	0,03	7,6	0,01	1,9	0,01	1,5	0,04	9,0	0,05	12,0
Serum	Virus	29 ^a	33	1,27	0,13	31,0	0,08	18,6	0,06	13,9	0,29	75,0	0,33	88,4
		54	88	1,92	0,05	11,2	0,02	4,8	0,02	5,5	0,12	29,1	0,14	32,3
		54	1.446	3,15	0,02	3,7	0,01	1,9	0,00	1,1	0,08	17,8	0,08	18,3
		54	7.873	3,89	0,02	4,8	0,01	2,6	0,01	2,1	0,06	13,4	0,06	14,6
		54	313.518	5,49	0,01	3,3	0,01	3,0	0,01	3,2	0,08	17,4	0,08	18,3
	Plasmide-DNA	54	599.225	5,77	0,04	8,5	0,01	2,5	0,01	2,5	0,06	14,7	0,08	17,4
	Virus	54	7.011.440	6,84	0,02	3,5	0,01	3,2	0,01	3,3	0,07	16,9	0,08	17,9
	Plasmide-DNA	54	8.845.332	6,94	0,05	11,9	0,01	2,2	0,01	2,2	0,05	12,2	0,07	17,4
	Virus	54	70.350.774	7,84	0,03	6,3	0,02	3,5	0,02	4,4	0,06	14,4	0,07	16,7
	Plasmide-DNA	53 ^b	122.800.000	8,08	0,04	9,9	0,01	2,2	0,01	1,8	0,04	10,4	0,06	14,6
		54	678.700.000	8,83	0,02	3,6	0,01	2,2	0,01	1,8	0,05	11,7	0,05	12,5

SD=standaarddeviatie.

^a Gedetecteerde replica's met meetbaar resultaat, totaal aantal gedetecteerde replica's = 54.

^b Eén herhaling had een ongeldig resultaat.

Log Normaal CV(%) = $\sqrt{(10^{(SD^2 * \ln(10))} - 1) * 100}$

Potentieel storende stoffen

De gevoeligheid van de Aptima HBV Quant-assay voor interferentie door een verhoogd gehalte aan endogene stoffen of door geneesmiddelen die veelal worden voorgeschreven aan met HBV geïnficeerde personen, is geëvalueerd. Er werden HBV-negatieve plasmasmonsters en monsters verrijkt met HBV tot concentraties van ongeveer 30 IE/mL ($1.48 \log_{10}$ IE/mL) en 20.000 IE/mL ($4.30 \log_{10}$ IE/mL) getest.

Er is geen interferentie in de prestaties van de assay waargenomen in aanwezigheid van albumine (90 mg/ml), hemoglobine (5 mg/ml), triglyceriden (30 mg/ml) of niet-geconjugeerd bilirubine (0,2 mg/ml).

Klinische plasmaspecimens van patiënten met verhoogde niveaus van gedefinieerde stoffen of van patiënten met de ziekten, tien monsters voor elke stof, vermeld in Tabel 11 werden getest met de Aptima HBV Quant-assay. Er werd geen interferentie met de uitvoering van de assay waargenomen.

Tabel 11: Typen klinische specimens getest

Typen klinische specimens	
1	Antinucleaire antistoffen (ANA)
2	Reumatoïde factor (RF)
3	Alcoholcirrose (AC)
4	Alcoholische hepatitis
5	Niet-alcoholische hepatitis
6	Auto-immuunhepatitis
7	Verhoogde alanineaminotransferase (ALT)
8	Hepatocellulair carcinoom (HCC)
9	Multipele sclerose (MS)
10	Gegeneraliseerde lupus erythematosus (SLE)
11	Hyperglobulinemia
12	Reumatoïde artritis (RA)
13	Anti-Jo1-antilichaam (JO-1)
14	Multipel myeloom (MM)
15	Gehemolyseerd (verhoogde hemoglobine)
16	Icterisch (verhoogde bilirubine)
17	Lipemisch (verhoogde lipiden)
18	Verhoogd eiwit

Er is geen interferentie in de prestaties van de assay waargenomen in aanwezigheid van de exogene stoffen die staan vermeld in Tabel 12 bij concentraties die minstens drie keer de C_{max} (humaan plasma) zijn.

Tabel 12: Exogene stoffen

Exogene stoffenpool	Geteste exogene stoffen
1	Saquinavir, ritonavir, amprenavir, indinavir, lopinavir, nelfinavirmesylaat
2	Clarithromycin, valganciclovirhydrochloride, efavirenz, nevirapine
3	Paroxetine HCl, enfuvirtide, zidovudine, didanosine, abacavirsulfaat
4	Ribavirin, entecavir, adefovir dipivoxil, tenofovir disoproxilfumaraat, lamivudine, ganciclovir, acyclovir
5	Stavudine, ciprofloxacin, fluoxetine, azithromycine, valacyclovir, sertraline, zalcitabine
6	Interferon alpha -2a, interferon alpha -2b, gepegyleerd interferon alpha-2b

Analytische specificiteit

Potentiële kruisreactiviteit met de in Tabel 13 vermelde pathogenen werd geëvalueerd in HBV-negatief humaan plasma in aanwezigheid of afwezigheid van 30 IE/mL (1.5 log₁₀ IE/mL) en 20.000 (4.3 log₁₀ IE/mL) HBV-DNA. Er werd geen kruisreactiviteit waargenomen. Er werd geen interferentie waargenomen in de aanwezigheid van de ziekteverwekkers.

Tabel 13: Pathogenen getest op analytische specificiteit

Micro-organisme/pathoogeen	Concentratie	Micro-organisme/pathoogeen	Concentratie
Adenovirus 5	100.000 TCID50/mL ^a	<i>Candida albicans</i>	1000000 CFU/mL ^e
BK humaan polyomavirus	1.000 TCID50/mL	<i>Chlamydia trachomatis</i>	1000000 IFE/mL ^f
Cytomegalovirus	100.000 TCID50/mL	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	1000000 CFU/mL
Denguevirus 1	10.000 TCID50/mL	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1000000 CFU/mL
Denguevirus 2	10.000 TCID50/mL	<i>Propionibacterium acnes</i>	1000000 CFU/mL
Denguevirus 3	10.000 TCID50/mL	<i>Staphylococcus aureus</i>	1000000 CFU/mL
Knokkelkoortsvirus 4	100.000 TCID50/mL	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1000000 CFU/mL
Epstein-Barr-virus	100.000 kopieën/mL	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1000000 CFU/mL
Flu H1N1	100.000 TCID50/mL	<i>Trichomonas vaginalis</i>	1000000 CFU/mL
Hepatitis A-virus	100.000 TCID50/mL	^a TCID50/mL = Weefselkweek infectieuze dosiseenheden per mL	
Hepatitis C-virus	100.000 IE/mL ^b	^b IE/mL = internationale eenheden per mL	
Hepatitis G-virus	100.000 kopieën/mL	^c vp/mL = Virale deeltjes per mL	
Humaan herpesvirus 6B	100.000 kopieën/mL	^d LD50/mL = Dodelijke dosis per mL	
Humaan herpesvirus 8	100.000 kopieën/mL	^e CFU/mL = Kolonievormende eenheden per mL	
HIV-1	100.000 IE/mL	^f IFE/mL = Insluitingsvormende eenheden per mL	
HIV-2	10.000 TCID50/mL		
Menselijk papillomavirus	100.000 kopieën/mL		
Herpes Simplex Virus 1 (HSV-1)	100.000 TCID50/mL		
Herpes Simplex Virus 2 (HSV-2)	100.000 TCID50/mL		
Humaan T-cel-lymfotroopvirus 1 (HTLV-1)	100.000 vp/mL ^c		
Humaan T-cel-lymfotroopvirus 2 (HTLV-2)	100.000 vp/mL		
Japane-encefalitisvirus	N.v.t.	N.v.t.	
Murray Valley-encefalitis-virus	2.000 LD50/mL ^d		
Parvovirus B19	100.000 IE/mL		
Rubellavirus	10.000 TCID50/mL		
St. Louis-encefalitis-virus	100.000 TCID50/mL		
Vacciniavirus	1.000 TCID50/mL		
Westnijlvirus	100.000 TCID50/mL		
Gelekoortsvirus	100.000 TCID50/mL		

Matrix-equivalentie

Honderdachtien specimensets van bijpassende bloedafnamebuisen (serumbuis, ACD, K2 EDTA, K3 EDTA, PPT, SST) werden beoordeeld op matrixequivalentie. Hiervan waren 44 sets op natuurlijke wijze HBV-positief geïnficeerd en 74 sets waren HBV-negatief verrijkt met het HBV-virus. De correlatie voor elk type bloedafnamebuis, zoals gemeten met de serumafnamebuis als comparator, staat vermeld in Tabel 14.

Tabel 14: Matrix-equivalentieonderzoek

Bloedafname Buisje	Deming-regressie	95% BI van helling		95% BI van onderschepping		R ²	Gemiddelde verschil (Log ₁₀)
		Onderste Limiet	Bovenste Limiet	Onderste Limiet	Bovenste Limiet		
ACD	$y = 1.01x - 0.04$	1.00	1.02	-0.10	0.01	0.998	-0.01
K2 EDTA	$y = 1,02x - 0,14$	1.00	1.03	-0.20	-0.07	0.997	-0.07
K3 EDTA	$y = 1.01x - 0.12$	1.00	1.03	-0.18	-0.06	0.997	-0.06
PPT	$y = 1,02x - 0,14$	1.00	1.03	-0.21	-0.07	0.996	-0.06
SST	$y = 1.00x - 0.03$	0.99	1.01	-0.07	0.03	0.999	-0.01

BI=betrouwbaarheidsinterval.

Specimenverduunning met behulp van Aptima-specimenverduunningsmiddel (1:3)

Om de detectienauwkeurigheid van HBV DNA in monsters verdund met Aptima-specimenverduunningsmiddel te beoordelen, werden monsters die het lineaire bereik omspannen 1:3 verdund met Aptima-specimenverduunningsmiddel (zoals 240 µl monster gecombineerd met 480 µl Aptima-specimenverduunningsmiddel). Elk specimen werd puur en verdund (1:3) in drievoud getest. De testen werden uitgevoerd met één partij assayreagentia op twee Panther-systemen met twee partijen Aptima-specimenverduunningsmiddel.

De verschillen tussen de gemiddelde gerapporteerde concentratie in de oorspronkelijke matrix (verduunningsfactor toegepast op het resultaat van het verdunde specimen) en de gemiddelde concentratie in Aptima Specimen Diluent staan weergegeven in Tabel 15 voor plasma en in Tabel 16 voor serum. De monsterconcentraties werden nauwkeurig uit de verdunde monsters gehaald.

Tabel 15: Samenvatting vergelijking plasmaspecimen 1:3 verdunningsmatrix

Plasma-matrix Gemiddelde gerapporteerde concentratie (Log ₁₀ IE/mL) n = 9	Verdunningsmiddel Gemiddelde gerapporteerde concentratie (Log ₁₀ IE/mL) n = 18	Verschil Verdunningsmiddel van Plasma Matrix (Log ₁₀ IE/mL)
1.20 ^a	1.11 ^b	-0.09
1.56 ^a	1.36 ^b	-0.20
2.15	2.04	-0.11
3.10	2.97	-0.13
3.92	3.89	-0.03
4.82	4.79	-0.03
5.70	5.70	0.00
7.07	6.98	-0.09
7.74	7.60	-0.14
8.74	8.62	-0.12
9.29	9.19	-0.10
9.39	9.29	-0.10

^a n=21.^b n=42.

Tabel 16: Samenvatting vergelijking serumspecimen 1:3 verdunningsmatrix

Serummatrix Gemiddelde gerapporteerde concentratie (Log ₁₀ IE/mL) n = 9	Verdunningsmiddel Gemiddelde gerapporteerde concentratie (Log ₁₀ IE/mL) n = 18	Verschil Verdunningsmiddel van serummatrix (Log ₁₀ IE/mL)
1.21 ^a	1.11 ^b	-0.10
1.54 ^a	1.36 ^b	-0.18
2.21	2.03	-0.18
3.06	2.98	-0.08
3.90	3.83	-0.07
4.77	4.76	-0.01
5.77	5.74	-0.03
7.03	7.00	-0.03
7.85	7.71	-0.14
8.87	8.76	-0.11
9.37	9.30	-0.07
9.46	9.36	-0.10

^a n=21.^b n=42.

Specimenverdunding met behulp van Aptima-specimenverdunningsmiddel (1:100)

Om de detectienauwkeurigheid van HBV-DNA te beoordelen in monsters die zijn verdund met Aptima-specimenverdunningsmiddel plasma of serum, werden acht individuele plasmaspecimens en acht individuele serumspecimens verrijkt met HBV-virus gericht tussen 6 tot 8 log₁₀ IE/mL, samen met acht individuele plasmaspecimens en acht individuele serumspecimens verrijkt met HBV-plasmide-DNA gericht op 9.16 log₁₀ IE/mL, getest in 5 herhalingen. Vlak vóór het testen werd een verdunding van 1:100 uitgevoerd met één deel specimen en 99 delen Aptima-specimenverdunningsmiddel. De testen werden uitgevoerd met één partij assayreagentia op twee Panther-systemen met twee partijen Aptima-specimenverdunningsmiddel. Het verschil tussen de gemiddelde gerapporteerde concentratie

in de oorspronkelijke matrix (verdunningsfactor toegepast op het verdunde specimenresultaat) en de gemiddelde concentratie in Aptima-specimensverdunningsmiddel werd berekend voor elke specimenset zoals weergegeven in Tabel 17 voor plasma en in Tabel 18 voor serum.

Tabel 17: Samenvatting vergelijking plasmaspecimen 1:100 verdunningsmatrix

Plasma-matrix Gemiddelde gerapporteerde concentratie (Log ₁₀ IE/mL) n = 5	Verdunningsmiddel Gemiddelde gerapporteerde concentratie (Log ₁₀ IE/mL) n = 10	Verskil Verdunningsmiddel van Plasma Matrix (Log ₁₀ IE/mL)
7.86	7.85	-0.01
7.84	7.83	-0.01
7.78	7.75	-0.03
7.80	7.80	0.00
6.58	6.53	-0.05
6.58	6.52	-0.06
6.58	6.53	-0.05
6.58	6.53	-0.05
9.24 ^a	9.05 ^a	-0.19
9.21 ^a	9.05 ^a	-0.16
9.25 ^a	9.03 ^a	-0.22
9.27 ^a	9.04 ^a	-0.23
9.13 ^a	8.82 ^a	-0.31
9.12 ^a	8.81 ^a	-0.31
9.09 ^a	8.84 ^a	-0.25
9.05 ^a	8.84 ^a	-0.21

^a Verrijkt met behulp van plasmide-DNA.

Tabel 18: Samenvatting vergelijking serumspecimen 1:100 verdunningsmatrix

Serummatrix Gemiddelde gerapporteerde concentratie (Log ₁₀ IE/mL) n = 5	Verdunningsmiddel Gemiddelde gerapporteerde concentratie (Log ₁₀ IE/mL) n = 10	Verskil Verdunningsmiddel van serummatrix (Log ₁₀ IE/mL)
7.70	7.85	0.15
7.84	7.85	0.01
7.79	7.82	0.03
7.75	7.79	0.04
6.77	6.77	0.00
6.75	6.80	0.05
6.75	6.71	-0.04
6.70	6.73	0.03
9.27 ^a	9.08 ^a	-0.19
9.24 ^a	9.06 ^a	-0.18
9.29 ^a	9.08 ^a	-0.21
9.31 ^a	9.11 ^a	-0.20
9.14 ^a	8.91 ^a	-0.23
9.18 ^a	8.92 ^a	-0.26
9.19 ^a	8.90 ^a	-0.29
9.08 ^a	8.84 ^a	-0.24

^a Verrijkt met behulp van plasmide-DNA.

Bevestiging van de LLoQ in specimens verdund in Aptima-specimenverdunningsmiddel

De LLoQ van de Aptima HBV Quant-assay werd bevestigd met HBV genotype A klinische specimens verdund in Aptima-specimenverdunningsmiddel. Specimens werden bereid in HBV-negatief humaan plasma en serum met 21, 30 en 45 IE/ml. Elk panel werd vlak vóór het testen 1:3 verdund in Aptima-specimenverdunningsmiddel om uiteindelijke concentraties van ongeveer 7, 10 en 15 IE/ml op te leveren. Er werden in totaal 36 replica's van elk panellid getest met één reagenspartij gedurende drie dagen. Een LLoQ ≤ 10 IE/mL voor HBV-plasma en serum verdund in Aptima-specimenverdunningsmiddel werd bevestigd zoals getoond in Tabel 19.

Tabel 19: Bevestiging van LLoQ - Specimens in Aptima-specimenverdunningsmiddel

Matrix	% gedetecteerd	Aptima HBV Quant (IE/mL)	Aptima HBV Quant (Log ₁₀ IE/mL)	SD (Log ₁₀ IE/mL)	Bias (Log ₁₀ IE/mL)	Berekende TE (Log ₁₀ IE/mL)	Berekende TAE (Log ₁₀ IE/mL)
Plasma	100%	3	0.50	0.19	0.10	0.54	0.48
Serum	100%	2	0.38	0.12	0.46	0.33	0.70

Precisie van verdunde monsters

Het Aptima HBV Quant-precisiepanel is gebouwd door HBV-positief plasma en HBV-plasmide-DNA te verdunnen in HBV-negatief klinisch plasma en serum. Positieve panelen werden verdund in Aptima-specimenverdunningsmiddel. Deze werden getest in vijf herhalingen per run door één operator, met drie partijen Aptima-specimenverdunningsmiddel op één Panther-systeem gedurende drie testdagen, twee runs per dag.

Tabel 20 toont de precisie van assayresultaten (in SD log₁₀ IE/mL) voor drie partijen Aptima-specimenverdunningsmiddel. De totale variabiliteit was ≤ 0.15 SD voor alle panelleden en verdunningspartijen.

Tabel 20: Precisie van panelen verdund in Aptima-specimenverdunningsmiddel

Matrix	Doelconcentratie (Log ₁₀ IE/mL)	Verdunning	Partij 1 specimenverdunningsmiddel (n=10)		Partij 2 specimenverdunningsmiddel (n=10)		Partij 3 specimenverdunningsmiddel (n=10)		Gecombineerde partijen (n=30)	
			Gemiddelde log ₁₀ IE/mL	SD	Gemiddelde log ₁₀ IE/mL	SD	Gemiddelde log ₁₀ IE/mL	SD	Gemiddelde Log ₁₀ IE/mL	SD
Plasma	3.30	Zuiver	3.46	0.07	3.43	0.08	3.46	0.06	3.45	0.07
		1:3	3.36	0.09	3.35	0.07	3.39	0.09	3.37	0.08
	4.30	Zuiver	4.33	0.06	4.27	0.03	4.41	0.05	4.34	0.08
		1:3	4.34	0.05	4.35	0.05	4.38	0.10	4.35	0.07
	9.18	Zuiver	9.13	0.05	9.10	0.03	9.26 ^a	0.15	9.16 ^a	0.11
		1:100	9.18	0.03	9.14	0.04	9.33	0.10	9.21	0.10
Serum	3.30	Zuiver	3.52	0.05	3.48	0.06	3.50	0.07	3.50	0.06
		1:3	3.45	0.08	3.40	0.06	3.39	0.08	3.41	0.07
	4.30	Zuiver	4.35	0.05	4.37	0.06	4.43	0.06	4.38	0.06
		1:3	4.35	0.05	4.37	0.05	4.41	0.04	4.37	0.05
	9.18	Zuiver	9.08	0.03	9.14	0.05	9.31 ^b	0.12	9.17 ^b	0.12
		1:100	9.18	0.02	9.14	0.03	9.33	0.09	9.22	0.10

SD=standaarddeviatie.

^a 1 duplicaat uitgesloten (boven berekenbaar bereik).

^b 2 herhalingen uitgesloten (boven berekenbaar bereik).

Vermenging

Om vast te stellen dat het Panther-systeem het risico van fout-positieve resultaten als gevolg van vermenging minimaliseert, is een studie uitgevoerd met behulp van gespikete panels op drie Panther-systemen. Overdracht werd beoordeeld met behulp van HBV-DNA verrijkte plasmamonsters met een hoge titer ($8 \log_{10}$ IE/mL) verspreid tussen HBV-negatieve monsters in een dambordpatroon. Er zijn vijftien runs uitgevoerd voor de testen. Het algehele vermengingspercentage was 0.14% (1/705).

Reproduceerbaarheid

De reproduceerbaarheid werd geëvalueerd op het Panther-systeem op drie externe locaties in de VS. Op elke locatie hebben twee laboranten testen uitgevoerd. Elke operator voerde gedurende drie dagen twee runs per dag uit, waarbij hij tijdens het testen drie reagenspartijen gebruikte. Elke run werd bij elk panellid drie keer herhaald. In totaal werden 108 replica's van elk panellid getest.

Reproduceerbaarheid werd getest met behulp van panelleden die waren bereid met behulp van HBV-negatief plasma. De positieve panelleden waren positief voor HBV-genotype A of C. HBV-DNA-concentraties overspanden het lineaire bereik van de assay.

Tabel 21 toont de reproduceerbaarheid en precisie van assayresultaten voor elk positief panellid tussen locaties, tussen operators/dagen, tussen partijen, tussen runs, binnen runs en in het algemeen.

De variatiecoëfficiënt werd berekend met behulp van de volgende vergelijking waarbij σ^2 de steekproefvariantie is van de gegevens na \log_{10} -transformatie.

$$\%CV = 100 \times \sqrt{(10^{\sigma^2 \ln(10)} - 1)}$$

Voor alle HBV-positieve panelleden waren de overeenkomstwaarden 100%.

Tabel 21: Reproduceerbaarheid van Aptima HBV Quant Assay HBV DNA-niveaus op het Panther-systeem in positieve panelleden

GT	N	Waargenomen gemiddelde		Procentuele bijdrage aan totale variantie SD (%CV)					Totale variantie SD (%CV)
		IE/mL	Log ₁₀ IE/mL	Tussen locaties	Tussen operators/dagen ^a	Tussen partijen	Tussen runs	Binnen runs	
A	108	17.6	1.2	0.059 (13.578)	<0.001 (<0,001)	0.138 (32.693)	0.090 (20.869)	0.178 (42.883)	0.250 (62.666)
	108	129.4	2.1	0.009 (2.162)	0 (0)	0.074 (17.109)	0.051 (11.869)	0.106 (24.736)	0.139 (32.886)
	107	1056.0	3.0	0.035 (7.994)	0.032 (7.432)	0.014 (3.246)	0.032 (7.356)	0.085 (19.666)	0.103 (24.060)
	108	7663.0	3.9	0 (0)	0.027 (6.262)	0.040 (9.235)	0.044 (10.088)	0.066 (15.194)	0.092 (21.540)
	108	188172.1	5.3	0.027 (6.281)	0.042 (9.707)	0.042 (9.787)	0.030 (6.829)	0.072 (16.689)	0.102 (23.772)
	108	9389094.1	7.0	0.038 (8.846)	0 (0)	0.031 (7.237)	0.064 (14.791)	0.068 (15.756)	0.106 (24.692)
	107	86664677.2	7.9	0.038 (8.692)	0.029 (6.753)	0.020 (4.584)	0.037 (8.635)	0.049 (11.375)	0.081 (18.725)
	107	753726183.2	8.9	0.024 (5.476)	0.052 (11.997)	0.015 (3.499)	0.045 (10.304)	0.053 (12.187)	0.091 (21.163)
	107	17.0	1.2	0.041 (9.521)	0.041 (9.392)	0.074 (17.147)	0.092 (21.438)	0.189 (45.704)	0.230 (57.010)
	108	152.9	2.2	0.035 (8.127)	0 (0)	0.055 (12.706)	0.064 (14.925)	0.131 (30.748)	0.160 (38.013)
C	108	1363.8	3.1	0.042 (9.583)	0.023 (5.316)	0 (0)	0.061 (14.033)	0.055 (12.623)	0.094 (22.002)
	108	9871.9	4.0	0.011 (2.472)	0.014 (3.270)	0.040 (9.337)	0.038 (8.801)	0.059 (13.651)	0.083 (19.291)
	108	217400.5	5.3	0.031 (7.255)	0.047 (10.843)	0.016 (3.791)	0.026 (6.023)	0.063 (14.685)	0.090 (21.044)
	108	12087179.5	7.1	0.046 (10.543)	0 (0)	0.020 (4.652)	0.064 (14.762)	0.073 (16.922)	0.109 (25.501)
	108	57743712.8	7.8	0.044 (10.232)	0.028 (6.472)	0.013 (2.944)	0.043 (10.026)	0.052 (12.010)	0.087 (20.146)
	108	572184754.9	8.7	0.042 (9.711)	0.048 (11.160)	0.028 (6.374)	0.034 (7.740)	0.048 (11.081)	0.091 (21.208)

%CV=log-normale variatiecoëfficiënt, GT=genotype, SD=standaarddeviatie

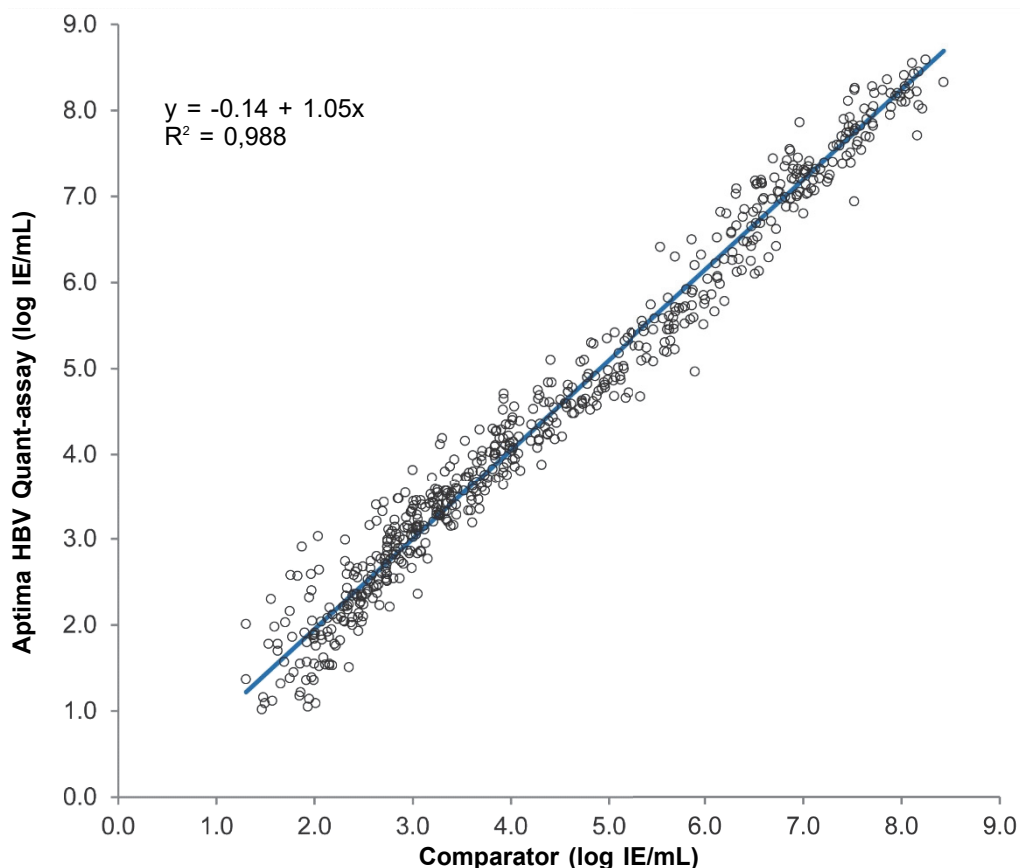
Opmerking: Variabiliteit van een aantal factoren kan numeriek negatief zijn. Dit kan gebeuren als de variatie als gevolg van deze factoren zeer klein is. Wanneer dat het geval is, worden SD en CV weergegeven als 0.

^a'Tussen laboranten' kan worden verward met 'Tussen dagen'; daarom worden de schattingen 'Tussen laboranten' en 'Tussen dagen' gecombineerd in 'Tussen laboranten/dagen'.

Klinische prestaties

Correlatie van methoden

De prestaties van de Aptima HBV Quant-assay werden beoordeeld aan de hand van een CE-gemarkeerde en een door Health Canada goedgekeurde comparator-assay door onverdunde klinische specimens van met HBV geïnfecteerde patiënten te testen. Een totaal van 614 klinische specimens binnen het lineaire bereik, gemeenschappelijk voor beide testen, werden gebruikt voor de lineaire regressie zoals weergegeven in Afbeelding 9.



Afbeelding 9. Correlatie tussen de Aptima HBV Quant Assay en Comparator Assay

Klinische bruikbaarheid

De studie was opgezet om het vermogen van de Aptima HBV Quant-assay om virologische, biochemische en serologische klinische bruikbaarheidseindpunten te voorspellen 48 weken na aanvang van de therapie te beoordelen. Specimens werden prospectief verzameld van proefpersonen met een chronische HBV-infectie die begonnen met monotherapie met entecavir of tenofovir als onderdeel van hun standaardbehandeling.

Van de 331 proefpersonen die deelnamen, waren 86 proefpersonen niet evalueerbaar vanwege terugtrekking, stopzetting, vroegtijdige stopzetting van de behandeling, ontbrekende resultaten van week 48 of ontbrekende of lage HBV DNA virale lasten bij aanvang. De resterende 245 proefpersonen waren evalueerbaar voor ten minste één van de klinische bruikbaarheidseindpunten en omvatten 126 HBeAg(+)- en 119 HBeAg(-)-proefpersonen. Tabel 22 toont de demografische en klinische baseline-kenmerken van evalueerbare testobjecten. De demografische spreiding van proefpersonen in deze studie kwam overeen met die van patiënten met chronische HBV in de VS.¹³ Gegevens van HBeAg(+)- en HBeAg(-)-proefpersonen werden afzonderlijk geanalyseerd.

Tabel 22: Demografische gegevens en klinische baseline-kenmerken van evalueerbare proefpersonen

Kenmerken		Totaal
Totaal, N	N	245
Entecavir	n (%)	94 (38.4)
Tenofovir	n (%)	151 (61.6)
Geslacht, n (%)	Mannelijk	154 (62.9)
	Vrouwelijk	91 (37.1)
Leeftijd (jaar)	Gemiddelde ± SD	43,5 ± 13,63
	Mediaan	44.0
	Bereik	18 – 83
Leeftijdscategorie (jaren), n (%)	18 - 29	40 (16.3)
	30 - 49, n (%)	120 (49.0)
	50 - 70, n (%)	80 (32.7)
	>70, n (%)	5 (2.0)
Etnische afkomst, n (%)	Spaans of Latino	7 (2.9)
	Spaans noch Latino	236 (96.3)
	Onbekend/geweigerd	2 (0.8)
	Wit	89 (36.3)
Ras ^a , n (%)	Zwart of Afro-Amerikaans	16 (6.5)
	Aziatisch	132 (53.9)
	Inheems in Indiaans/Alaska	0 (0.0)
	Inheems Hawaïiaans/Bewoner van Pacifisch eiland	6 (2.4)
	Overig	1 (0.4)
	Onbekend/geweigerd	1 (0.4)
Genotype, n (%)	A	28 (11.4)
	B	64 (26.1)
	C	36 (14.7)
	D	47 (19.2)
	E	2 (0.8)
	F	0 (0.0)
	G	0 (0.0)
	H	3 (1.2)
	Onbekend	65 (26.5)
HBV-behandelstatus, n (%)	Ervaren	27 (11.0)
	Onervaren	218 (89.0)
Eerdere geneesmiddelen-behandeling, n (%)	Tenofovir	5 (18.5)
	Entecavir	4 (14.8)
	Adefovir	2 (7.4)
	Lamivudine	1 (3.7)
	Telbivudine	0 (0.0)
	Interferon	10 (37.0)
Resultaat eerdere behandeling, n (%)	Anders ^b	5 (18.5)
	Onsuccesvol	1 (3.7)
	Geslaagd	0 (0.0)
HBsAg serostatus, n (%)	Gestopt om andere redenen	26 (96.3)
	Positief/reactief	210 (85.7)
	Niet gereed	35 (14.3)

Tabel 22: Demografische gegevens en klinische baseline-kenmerken van evalueerbare proefpersonen (vervolg)

Kenmerken	Totaal	
Cirrotische status, n (%)	Cirrotisch	26 (10.6)
	Niet-cirrotisch	201 (82.0)
	Niet gereed	18 (7.3)
HBV-virale belasting (log ₁₀ IE/mL)	Gemiddelde ± SD	6.3 ± 1.93
	Mediaan	6.4
	Bereik	3 - 9
ALT (U/L)	Gemiddelde ± SD	102.4 ± 175.97
	Nummer boven ULN ^c	177 (85.9)

^a Proefpersonen mogen meerdere rassen melden.

^b Verschillende combinaties van de vermelde specifieke medicijnen.

^c De bovengrens van het normale bereik (ULN) voor alanineaminotransferase (ALAT) was 30 E/L voor mannen en 19 E/L voor vrouwen.

Voorspelling van respons op antivirale therapie

De klinische bruikbaarheid van de Aptima HBV Quant-assay is beoordeeld voor personen die met tenofovir en entecavir behandeld zijn. Er is geen informatie beschikbaar over de klinische bruikbaarheid van de assay wanneer andere antivirale behandelingen tegen HBV worden gebruikt.

Definities:

Uitkomsten van vroege virologische respons

Virologische respons in week 12 en week 24 = HBV-DNA <10 IE/ml (<LLOQ) zoals beoordeeld door de Aptima HBV Quant-assay op het Panther-systeem

Week 12 alternatieve virologische respons = HBV-DNA ≥2 log₁₀ afname vanaf baseline

Week 24 alternatieve virologische respons = HBV DNA <2000 IU/mL (voor HBeAg+) of <50 IU/mL (voor HBeAg-)

Eindpunten van klinische bruikbaarheid

Virologische respons in week 48 = HBV DNA <10 IE/ml (<LLOQ) zoals beoordeeld met een goedgekeurde kwantitatieve HBV-assay

Alternatieve virologische respons in week 48 = HBV DNA <50 IU/mL zoals beoordeeld door een goedgekeurde kwantitatieve HBV-assay

Biochemische respons = Normalisatie van ALT-testresultaten in week 48 (ALT <30 E/L voor mannen en <19 E/L voor vrouwen)

Serologische respons = verlies van HBeAg (HBeAg-negatieve resultaten) in week 48

Associatiemaatstaven en voorspellende waarde

Positieve voorspellende waarde (PPV) = True Positive / (True Positive + False Positive) of de waarschijnlijkheid van respons in week 48 (voor het eindpunt van klinische bruikbaarheid dat wordt beoordeeld) bij proefpersonen met virologische respons op het vroege tijdstip

Negatieve voorspellende waarde (NPV) = True Negative / (False Negative + True Negative) of de waarschijnlijkheid van non-respons in week 48 (voor het eindpunt van klinische bruikbaarheid dat wordt beoordeeld) bij proefpersonen met virologische non-respons op het vroege tijdstip

Oddsratio (OR) = (terecht positief × terecht negatief) / (vals positief × vals negatief)

Voorspelling van virologische respons in week 48, gedefinieerd als HBV DNA <10 IE/mL

In deze studie was de primaire definitie van virologische respons HBV DNA <10 IE/ml, en deze definitie werd gebruikt voor zowel de vroege virologische respons in week 12 en 24 als de virologische respons in week 48. Het verband tussen vroege virologische responsen in week 12 en 24 en klinische bruikbaarheidseindpunten in week 48 (virologische respons, biochemische respons, serologische respons) werd beoordeeld.

Virologische respons voorspellen in week 48

Associaties tussen virologische respons in week 48 en virologische respons in week 12 en week 24 staan samengevat in Tabel 23.

Vroege virologische responsen in week 12 en 24, evenals voorspellers van virologische respons in week 48, varieerden per week en per behandeling.

Tabel 23: PPV, NPV en odds-verhouding voor virologische respons voorspeld door vroege virologische respons tijdens behandeling: Week 48 Virologische respons gedefinieerd als <10 IE/mL

HBeAg-status	Week van vroege virologische respons	Behandeling	PPV (%)		NPV (%)		OF
			Schatting (95% BI)	n/N	Schatting (95% BI)	n/N	Schatting (95% BI) ^{a,b}
HBeAg(+)	12	Entecavir	0.0 (0.0, 93.2)	0/1	82.5 (80.0, 88.4)	33/40	1.49 (<0,01, 30,95)
		Tenofovir	100 27.3 (100)	2/2	74.4 (72.6, 78.7)	61/82	14.30 (1.11, >999.99)
		Alles	66.7 (15.4, 98.2)	2/3	77.0 (75.7, 79.9)	94/122	6.71 (0.62, 147.55)
	24	Entecavir	50.0 (6.4, 93.2)	2/4	88.2 (83.5, 95.4)	30/34	7.50 (0.74, 79.76)
		Tenofovir	75.0 (52.7, 92.3)	12/16	84.1 (78.5, 90.0)	58/69	15.81 (4.62, 65.54)
		Alles	70.0 (50.3, 88.1)	14/20	85.4 (81.3, 90.1)	88/103	13.69 (4,74, 44,16)
HBeAg(-)	12	Entecavir	94.1 (87.1, 99.0)	32/34	22.2 (7.6, 36.0)	4/18	4.57 (0.80, 35.85)
		Tenofovir	83.3 (70.5, 93.2)	25/30	46.9 (35.0, 58.9)	15/32	4.41 (1.42, 15.71)
		Alles	89.1 (82.1, 94.7)	57/64	38.0 (29.0, 47.1)	19/50	4.99 (1.96, 14.00)
	24	Entecavir	93.0 (88.0, 98.1)	40/43	37.5 (6.4, 67.2)	3/8	8.00 (1.21, 55.54)
		Tenofovir	82.6 (74.3, 90.4)	38/46	75.0 (54.1, 92.0)	12/16	14.25 (3.92, 62.71)
		Alles	87.6 (82.7, 92.6)	78/89	62.5 (44.8, 78.0)	15/24	11.82 (4.30, 34.94)

BI=95% betrouwbaarheidsinterval voor profielwaarschijnlijkheid

^a Arcering geeft de statistische significantie van odds-verhoudingen aan.

^b Voor de berekening van odds-verhoudingen en hun betrouwbaarheidsintervallen werd 0,5 opgeteld bij alle cellen wanneer ten minste één cel nul was.

Biochemische respons voorspellen in week 48

Associaties tussen biochemische respons in week 48 en virologische respons in week 12 en week 24 staan samengevat in Tabel 24.

De waarde van vroege virologische responsen in week 12 en 24 als voorspeller van de biochemische respons in week 48 varieerde per week en per behandeling.

Tabel 24: PPV, NPV en odds-verhouding voor biochemische respons voorspeld door vroege virologische respons tijdens behandeling: Week 48 Virologische respons gedefinieerd als <10 IE/mL

HBeAg-status	Week van vroege virologische respons	Behandeling	PPV (%)		NPV (%)		OF
			Schatting (95% BI)	n/N	Schatting (95% BI)	n/N	Schatting (95% BI) ^a
HBeAg(+)	12	Entecavir	NC (NC)	0/0	67.9 (63.4-76.1)	19/28	2.05 (0.01-393.52)
		Tenofovir	100 27.6 (100)	2/2	58.5 (55.1, 63.9)	31/53	7.00 (0.54, 983.90)
		Alles	100 27.3 (100)	2/2	61.7 (59.7, 65.5)	50/81	8.02 (0.63, >999.99)
	24	Entecavir	66.7 (16.4-98.2)	2/3	68.2 (60.1-80.0)	15/22	4.29 (0.35-101.82)
		Tenofovir	58.3 (33.2, 81.0)	7/12	61.4 (54.3, 69.7)	27/44	2.22 (0.61, 8.61)
		Alles	60.0 (36.6, 80.9)	9/15	63.6 (58.2, 70.0)	42/66	2.62 (0.84, 8.70)
HBeAg(-)	12	Entecavir	43.8 (25.1, 61.2)	7/16	50.0 (25.1, 74.9)	6/12	0.78 (0.17, 3.53)
		Tenofovir	52.9 (35.1, 72.2)	9/17	76.2 (61.2, 89.8)	16/21	3.60 (0.93, 15.39)
		Alles	48.5 (36.0, 60.9)	16/33	66.7 (54.5, 78.6)	22/33	1.88 (0.70, 5.20)
	24	Entecavir	45.8 (36.0, 56.0)	11/24	75.0 (25.2, 98.7)	3/4	2.54 (0.28, 55.45)
		Tenofovir	42.9 (32.8, 53.1)	12/28	80.0 (53.0, 97.1)	8/10	3.00 (0.61, 22.34)
		Alles	44.2 (37.8, 50.8)	23/52	78.6 (55.1, 95.0)	11/14	2.91 (0.80, 13.98)

BI=95% betrouwbaarheidsinterval voor profielwaarschijnlijkheid, NC=niet berekenbaar

^a Voor de berekening van odds-verhoudingen en hun betrouwbaarheidsintervallen werd 0,5 opgeteld bij alle cellen wanneer ten minste één cel nul was.

Serologische respons voorspellen in week 48

Associaties tussen virologische respons in week 48 en virologische respons in week 12 en week 24 staan samengevat in Tabel 25.

De waarde van vroege virologische responsen in week 12 en 24 als voorspeller van de serologische respons in week 48 varieerde per week en per behandeling.

Tabel 25: PPV, NPV en odds-verhouding voor serologische respons voorspeld door vroege virologische respons tijdens behandeling: Week 48 Virologische respons gedefinieerd als <10 IE/mL

HBeAg-status	Week van vroege virologische respons	Behandeling	PPV (%)		NPV (%)		OF
			Schatting (95% BI)	n/N	Schatting (95% BI)	n/N	Schatting (95% BI) ^a
HBeAg(+)	12	Entecavir	100 (6.5, 100)	1/1	86.8 (84.2, 93.9)	33/38	18.27 (0.86, >999.99)
		Tenofovir	0.0 (0.0, 72.0)	0/2	82.9 (81.7, 86.0)	68/82	0.95 (<0.01, 12.45)
		Alles	33.3 (1.8, 84.3)	1/3	84.2 (83.1, 86.8)	101/120	2.66 (0.12, 29.11)
	24	Entecavir	50.0 (6.4, 93.2)	2/4	88.2 (83.5, 95.4)	30/34	7.50 (0.74, 79.76)
		Tenofovir	18.8 (3.1, 39.1)	3/16	84.1 (80.6, 89.1)	58/69	1.22 (0.25, 4.59)
		Alles	25.0 (8.5, 43.6)	5/20	85.4 (82.5, 89.4)	88/103	1.96 (0.57, 5.94)

BI=95% betrouwbaarheidsinterval voor profielwaarschijnlijkheid

^aVoor de berekening van odds-verhoudingen en hun betrouwbaarheidsintervallen werd 0,5 opgeteld bij alle cellen wanneer ten minste één cel nul was.

Voorspelling van virologische respons in week 48, gedefinieerd als HBV-DNA <50 IE/mL (alternatieve definitie)

Alternatieve definities van vroege (week 12 en 24) en week 48 virologische responsen werden ook beoordeeld (zie alternatieve responsdefinities hierboven).

Associaties tussen eindpunten van klinische bruikbaarheid en virologische respons in week 12 en week 24, met behulp van deze alternatieve definities van virologische respons, staan samengevat in Tabel 26 (virologische reactie), in Tabel 27 (biochemische reactie), en in Tabel 28 (serologische reactie).

Tabel 26: PPV, NPV en odds-verhouding voor virologische respons voorspeld door vroege virologische respons tijdens behandeling: Week 48 Virologische respons gedefinieerd als <50 IE/mL

HBeAg-status	Week van vroege virologische respons	Behandeling	PPV (%)		NPV (%)		OF
			Schatting (95% BI)	n/N	Schatting (95% BI)	n/N	Schatting (95% BI) ^{a,b}
HBeAg(+)	12	Entecavir	34.2 (26.9, 39.2)	13/38	66.7 (16.1, 98.2)	2/3	1.04 (0.09, 23.60)
		Tenofovir	55.1 (51.9, 59.4)	43/78	83.3 (43.5, 99.2)	5/6	6.14 (0.93, 120.54)
		Alles	48.3 (45.6, 51.3)	56/116	77.8 (45.3, 97.1)	7/9	3.27 (0.75, 22.54)
	24	Entecavir	65.0 (51.3, 81.2)	13/20	100 (86.3, 100)	18/18	66.59 (7.20, >999.99)
		Tenofovir	72.4 (64.7, 80.6)	42/58	88.9 (74.6, 97.2)	24/27	21.00 (6.28, 97.36)
		Alles	70.5 (63.5, 77.9)	55/78	93.3 (84.0, 98.3)	42/45	33.47 (10.81, 148.13)
HBeAg(-)	12	Entecavir	100 (NC)	52/52	NC (NC)	0/0	NC
		Tenofovir	93.0 (89.1, 97.5)	53/57	60.0 (21.3, 93.3)	3/5	19.87 (2.62, 191.49)
		Alles	96.3 (94.4, 98.7)	105/109	60.0 (21.1, 93.3)	3/5	39.37 (5.24, 376.77)
	24	Entecavir	100 (NC)	47/47	0.0 (NC)	0/4	NC
		Tenofovir	93.9 (88.6, 98.3)	46/49	30.8 (6.7, 52.4)	4/13	6.81 (1.30, 39.97)
		Alles	96.9 (93.8, 99.2)	93/96	23.5 (7.0, 39.8)	4/17	9.54 (1.91, 53.22)

BI=95% betrouwbaarheidsinterval voor profielwaarschijnlijkheid, NC=niet berekenbaar

^a Arcering geeft de statistische significantie van odds-verhoudingen aan.

^b Voor de berekening van odds-verhoudingen en hun betrouwbaarheidsintervallen werd 0,5 opgeteld bij alle cellen telkens wanneer ten minste één cel nul was, tenzij er geen reacties in week 48 of geen non-responsen in week 48 waren, wat resulteerde in rapportage van de oddsratio als NC.

Tabel 27: PPV, NPV en odds-verhouding voor biochemische respons voorspeld door vroege virologische respons tijdens behandeling: Week 48 Virologische respons gedefinieerd als <50 IE/mL

HBeAg-status	Week van vroege virologische respons	Behandeling	PPV		NPV		OF
			Schatting (95% BI)	n/N	Schatting (95% BI)	n/N	Schatting (95% BI) ^{a,b}
HBeAg(+)	12	Entecavir	33.3 (25.1-39.0)	9/27	100 (6.7-100)	1/1	1.54 (0.07-233.77)
		Tenofovir	44.2 (39.6, 48.6)	23/52	66.7 (15.7, 98.2)	2/3	1.59 (0.14, 35.36)
		Alles	40.5 (37.1, 43.7)	32/79	75.0 (23.9, 98.7)	3/4	2.04 (0.25, 42.30)
	24	Entecavir	50.0 (31.2-69.5)	7/14	81.8 (58.9-97.1)	9/11	4.50 (0.79-37.15)
		Tenofovir	52.5 (44.0, 61.8)	21/40	81.3 (60.1-96.7)	13/16	4.79 (1.30, 23.28)
		Alles	51.9 (44.1, 60.2)	28/54	81.5 (66.4, 93.1)	22/27	4.74 (1.66, 15.82)
HBeAg(-)	12	Entecavir	46.4 (39.5, 52.6)	13/28	NC (NC)	0/0	0.87 (<0.01, 166.17)
		Tenofovir	40.0 (33.6, 46.3)	14/35	100 (41.4, 100)	3/3	4.72 (0.41, 653.11)
		Alles	42.9 (39.6, 46.7)	27/63	100 (41.2, 100)	3/3	5.27 (0.48, 720.38)
	24	Entecavir	44.0 (34.4, 52.7)	11/25	66.7 (16.3-98.2)	2/3	1.57 (0.13, 36.42)
		Tenofovir	41.4 (31.3, 51.1)	12/29	77.8 (48.6, 97.1)	7/9	2.47 (0.49, 18.57)
		Alles	42.6 (36.4, 48.9)	23/54	75.0 (48.8, 93.7)	9/12	2.23 (0.59, 10.87)

BI=95% betrouwbaarheidsinterval voor profielwaarschijnlijkheid

^a Arcering geeft de statistische significantie van odds-verhoudingen aan.

^b Voor de berekening van odds-verhoudingen en hun betrouwbaarheidsintervallen werd 0,5 opgeteld bij alle cellen wanneer ten minste één cel nul was.

Tabel 28: PPV, NPV en odds-verhouding voor serologische respons voorspeld door vroege virologische respons tijdens behandeling: Week 48 Virologische respons gedefinieerd als <50 IE/mL

HBeAg-status	Week van vroege virologische respons	Behandeling	PPV		NPV		OF
			Schatting (95% BI)	n/N	Schatting (95% BI)	n/N	Schatting (95% BI) ^{a,b}
HBeAg(+)	12	Entecavir	16.7 (10.4, 19.6)	6/36	100 (44.1, 100)	3/3	1.49 (0.12, 209.89)
		Tenofovir	16.7 (12.9, 18.6)	13/78	83.3 (44.2, 99.2)	5/6	1.00 (0.14, 19.98)
		Alles	16.7 (13.9, 18.1)	19/114	88.9 (58.8, 99.5)	8/9	1.60 (0.27, 30.56)
	24	Entecavir	30.0 (16.5, 41.6)	6/20	100 (86.3, 100)	18/18	16.59 (1.72, >999.99)
		Tenofovir	22.4 (16.9, 26.8)	13/58	96.3 (84.7, 99.9)	26/27	7.51 (1.37, 140.31)
		Alles	24.4 (20.0, 28.4)	19/78	97.8 (90.4, 99.9)	44/45	14.17 (2.77, 259.25)

BI=95% betrouwbaarheidsinterval voor profielwaarschijnlijkheid

^a Arcering geeft de statistische significantie van odds-verhoudingen aan.

^b Voor de berekening van odds-verhoudingen en hun betrouwbaarheidsintervallen werd 0,5 opgeteld bij alle cellen wanneer ten minste één cel nul was.

Conclusie

Over het algemeen tonen de resultaten aan dat de Aptima HBV Quant-assay HBV-DNA-niveaus bij aanvang en tijdens de behandeling kan kwantificeren om te helpen bij het beoordelen van de virale respons op de behandeling. Deze studie toonde aan dat de vroege virologische respons in week 12 en 24, als voorspellers van de virologische respons in week 48, varieerde per week en per behandeling.

De Aptima HBV Quant-assay kan worden gebruikt als hulpmiddel bij de behandeling van chronische met HBV geïnfecteerde patiënten die met HBV antivirale geneesmiddelen worden behandeld.

Literatuur

1. **Wereldgezondheidsorganisatie.** Global progress report on HIV, viral hepatitis and sexually transmitted infections, 2021. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240027077>. Bezocht in september 2022.
2. **Liaw YF, Chu CM.** Hepatitis B virus infection. *Lancet.* 2009;373(9663):582-592.
3. **European Association for the Study of the Liver.** EASL Clinical Practice Guidelines: Management of chronic hepatitis B virus infection. *Journal of Hepatology* 2012; 57:167-185.
4. **International Agency for Research on Cancer.** Hepatitis B Virus. IARC Monographs 2012; 100B: 93-133.
5. **Price, J.** An Update on Hepatitis B, D, and E Viruses. *Topics in Antiviral Medicine* 2014; 21(5): 157-163.
6. **Terrault NA, Bzowej NH, Chang KM, Hwang JP, Jonas MM, Murad MH; American Association for the Study of Liver Diseases.** AASLD guidelines for treatment of chronic hepatitis B. *Hepatology.* 2016 Jan;63(1):261-83.
7. **Clinical and Laboratory Standards Institute.** 2005. Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods; Approved Guideline. CLSI Document MM13-A. Wayne, PA.
8. **29 CFR Part 1910.1030.** Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens; current version.
9. **Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health.** Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL); current version.
10. **Clinical and Laboratory Standards Institute.** 2002. Clinical Laboratory Waste Management. CLSI Document GP5-A2. Villanova, PA.
11. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2012. Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline—Second Edition. CLSI Document EP17-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
12. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2003. Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline. CLSI document EP06-A. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
13. **Ghany MG, Perrillo R, Li R,** et al. Characteristics of adults in the Hepatitis B Research Network in North America reflect their country of origin and hepatitis B virus genotype. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2015;13(1):183-192. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.cgh.2014.06.028>.

Contactgegevens en overzicht van wijzigingen



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



Hologic BV
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
België

Australische sponsor
Hologic (Australia & New
Zealand) Pty Ltd.
Macquarie Park NSW 2113

Voor landspecifieke e-mailadressen en telefoonnummers van de technische ondersteuning en klantenservice, gaat u naar www.hologic.com/support.

Ernstige incidenten met betrekking tot het medische hulpmiddel in de Europese Unie dienen te worden gemeld aan de fabrikant en de bevoegde autoriteit van de lidstaat waar de gebruiker en/of de patiënt gevestigd is.

Hologic, Aptima, Panther, Panther Fusion en bijbehorende logo's zijn handelsmerken en/of gedeponeerde handelsmerken van Hologic, Inc. en/of haar dochterondernemingen in de Verenigde Staten en/of andere landen. Alle andere handelsmerken in deze bijsluiter zijn eigendom van hun respectieve eigenaars.

Alle andere handelsmerken in deze bijsluiter zijn eigendom van hun respectieve eigenaars.

Dit product is mogelijk beschermd door een of meer Amerikaanse octrooien vermeld op www.hologic.com/patents.

© 2017-2025 Hologic, Inc. Alle rechten voorbehouden.

AW-28215-1501 Rev. 003

2025-10

Overzicht van wijzigingen	Datum	Beschrijving
AW-28215-1501 Rev. 001	Juli 2025	<ul style="list-style-type: none"> Eerste release van de nieuwe Aptima HBV-test IFE AW-28215 Rev. 001 voor naleving van de regelgeving met IVDR, ter vervanging van AW-13182.
AW-28215-1501 Rev. 002	Augustus 2025	<ul style="list-style-type: none"> Bijgewerkte handelsmerken om te voldoen aan de BSI-vereisten.
AW-28215-1501 Rev. 003	Oktober 2025	<ul style="list-style-type: none"> Optie schudapparaat toegevoegd. SDS bijgewerkt.