

Aptima® HBV Quant Assay

Bruksanvisning
För *in vitro*-diagnostisk användning
Endast för export från USA

Allmän information	2
Avsedd användning	2
Sammanfattning och förklaring av testet	2
Metodprinciper	3
Sammanfattning av säkerhet och prestanda	3
Varningar och försiktighetsåtgärder	4
Förvaring och hantering av reagens	8
Provtagning och provförvaring	9
Prover i Panther System	12
Transport av provmaterial	12
Panther System	13
Medföljande reagens och material	13
Nödvändiga material som införskaffas separat	14
Tillvalsmaterial	15
Analysmetod för Panther System	16
Metodanmärkningar	20
Kvalitetskontroll	21
Analyskalibrering	21
Negativa och positiva kontroller	21
Intern kalibrator/intern kontroll	21
Tolkning av resultat	22
Begränsningar	23
Analytiska prestanda	24
Detekteringsgräns vid användning av WHO:s tredje internationella standard	24
Detekteringsgräns för HBV-genotyper	24
Linjärt intervall	25
Linjäritet för HBV-genotyper	26
Nedre kvantifieringsgräns enligt WHO:s tredje internationella standard	26
Nedre beräkningsgräns för HBV-genotyper	28
Spårbarhet till WHO:s tredje internationella standard	30
Precision	30
Potentiellt interfererande ämnen	32
Analytisk specificitet	34
Matrisekvivalens	35
Provutspädning med Aptima spädningsmedel för provmaterial (1:3)	35
Provutspädning med Aptima spädningsmedel för provmaterial (1:100)	36
Bekräftelse av LLoQ i prover som späts ut med Aptima Specimen Diluent	38
Precision för utspädda prover	38
Överföring	39
Reproducerbarhet	39
Kliniska prestanda	41
Metodkorrelation	41
Klinisk nytta	41
Referenser	50
Kontaktinformation och revisionshistorik	51

Allmän information

Avsedd användning

Aptima® HBV Quant Assay är en in vitro-nukleinsyraamplifieringsanalys för kvantifiering av hepatit B-virus (HBV) DNA i human plasma och serum med det helautomatiska Panther™-systemet.

Plasma kan beredas i etylendiamintetraättisyra (EDTA), ACD-lösning och plasmaberedningsrör (PPT-enheter). Serum kan prepareras i serumrör och serumseparationsrör (SST-enheter). Prover analyseras med hjälp av det helautomatiserade Panther-systemet för provbehandling, amplifiering och kvantifiering. Prover som innehåller HBV-genotyperna A, B, C, D, E, F, G och H valideras för kvantifiering i analysen.

Aptima HBV Quant Assay är avsedd att användas som ett hjälpmedel i vård av patienter med kroniska HBV-infektioner som genomgår antiviral läkemedelsbehandling mot HBV. Metoden kan användas för att mäta HBV DNA-nivåer vid baslinjen och under behandling i syfte att fastställa det virologiska svaret på behandlingen. Resultaten från Aptima HBV Quant Assay måste tolkas inom ramen för alla relevanta kliniska och laboratoriebaserade resultat.

Aptima HBV Quant Assay är inte avsedd att användas som ett screeningtest för förekomst av HBV DNA i blod eller blodprodukter eller som en diagnostisk analys för att bekräfta förekomsten av HBV-infektion.

Sammanfattning och förklaring av testet

Hepatit B-virus, ett av flera virus som är kända för att orsaka hepatit, har utpekats som orsak till livslång HBV-infektion, skrumplever, levercancer, leversvikt och eventuella dödliga följder därav. Världshälsoorganisationen (WHO) pekar ut HBV som en av världens vanligaste smittsamma sjukdomar. Förekomsten av HBV-infektioner och överföringsmetoden uppvisar stor variation världen över. År 2019 levde uppskattningsvis 296 miljoner människor med kronisk HBV-infektion.¹ HBV-infektion leder till ökad risk för leverdekompensation, cirros och hepatocellulärt karcinom (HCC) med en dödlighet på 0,5–1,2 miljoner dödsfall och 5–10 % av fallen av levertransplantation i världen varje år.^{2,3} Utan lämplig behandling, ingripande och övervakning efter diagnos är den kumulativa femåriga incidensen för cirros 8–20 %. När skrumplever väl har utvecklats är den årliga risken för hepatocellulärt karcinom 2–5 %.⁴

HBV innehåller ett cirkulärt, delvis dubbelsträngat DNA-genom med ungefär 3 200 baspar som kodar fyra delvis överlappande öppna läsramar (OCR) som uttrycker polymeras-, yt-, precore-/kärn- och X-proteiner. Polymeras-OCR-enheten överlappar de tre andra OCR-enheterna och kodar ett centralt virusreplikationsprotein, polymeras. OCR på ytan uttrycker tre proteiner som är viktiga för virusets morfogenes, dess inträde i hepatocyter samt för att framkalla värdens immunsvär.⁵ Det finns åtta HBV-genotyper (A–H) och dessa förekommer vanligtvis på olika geografiska platser.

På grund av den dynamiska karaktären hos kronisk hepatit B-infektion är det viktigt att kontinuerligt övervaka HBV DNA- och alaninaminotransferasnivåerna (ALT).⁶ För majoriteten av HBV-infekterade personer som genomgår antiviral behandling är målet att undertrycka HBV DNA. Kvantitativa nukleinsyraanalyser med ett brett linjärt intervall är effektiva verktyg för att övervaka HBV-DNA-viralbelastningen under behandlingen.

Metodprinciper

Aptima HBV Quant Assay är en *in vitro*-nukleinsyraamplifieringsanalys som använder transkriptionsmedierad amplifieringsanalysteknik (TMA) i realtid i Panther-systemet för att beräkna HBV DNA – genotyperna A, B, C, D, E, F, G och H. Aptima HBV Quant Assay är inriktad på två väl konserverade områden i polymeras och ytgener (för ökad tolerans mot potentiella mutationer). Denna assay uppfyller WHO:s tredje internationella standard för hepatit B-virus (NIBSC-kod: 10/264).

Aptima HBV Quant assay består av tre huvudmoment som alla genomförs i ett och samma provrör i Panther System: målsekvensinfångning, målamplifiering genom transkriptionsmedierad amplifiering (Transcription-Mediated Amplification, TMA) samt detektering av amplifieringsprodukterna (amplicon) genom fluorescensmärkta probes (torches).

Under målsekvensinfångning isoleras viralt DNA från provmaterialen. Provmaterialen behandlas med ett rengöringsmedel som löser upp virushöljet, denaturerar proteiner och frisläpper viralt genomiskt DNA. Capture-oligonukleotider hybridiseras till väl konserverade områden med HBV DNA, om sådana finns, i provet. Det hybridiserade målet fångas därefter in på magnetiska mikropartiklar som separeras från provet i ett magnetfält. En serie tvättsteg avlägsnar främmande ämnen från reaktionsröret.

Målamplifiering sker via TMA, en transkriptionsmedierad nukleinsyraamplifieringsmetod som använder två enzymer, Moloneys musleukemivirus (MMLV) omvänt transkriptas och T7 RNA-polymeras. Omvänt transkriptas används för att generera en DNA-kopia (innehållande en promotorsekvens för T7 RNA-polymeras) av målsekvensen. T7 RNA-polymeras producerar flera kopior av RNA-amplicon från DNA-mallen. Aptima HBV Quant Assay använder TMA-metoden för att amplifiera två regioner på HBV-genomet (polymeras- och ytgen). Amplifiering av dessa regioner uppnås med specifika primrar som är utformade för att amplifiera HBV-genotyperna A, B, C, D, E, F, G och H. Metoden med dubbla målområden med primerdesign inriktad på väl konserverade regioner säkerställer korrekt beräkning av HBV DNA.

Detekteringen uppnås med hjälp av enkelsträngade nukleinsyre-torches som är närvarande under amplifieringen av målområdet och som hybridiseras specifikt till ampliconet i realtid. Varje torch har en fluorofor och en quencher. När torchen inte hybridiseras till ampliconet befinner sig quenchern i fluoroforens närhet och dämpar fluorescensen. När torchen binds till ampliconet flyttas quenchern längre bort från fluoroforen och sänder ut en signal på en särskild våglängd när den exciteras av en ljuskälla. När fler torches hybridiseras till amplicon uppstår en starkare fluorescerande signal. Den tid det tar för den fluorescerande signalen att nå ett angivet tröskelvärde är proportionell mot den inledande koncentrationen av HBV. Varje reaktion har en inre kalibrator/inre kontroll (IC) som kontrollerar för variationer i behandling, amplifiering och detektering av provmaterial. Provets koncentration bestäms av Panther System-programvaran med hjälp av HBV- och IC-signalerna för varje reaktion, vilka sedan jämförs med kalibreringsinformationen.

Sammanfattning av säkerhet och prestanda

SSP (sammanfattning av säkerhet och prestanda) finns i den europeiska databasen för medicintekniska produkter (Eudamed), där den är kopplad till produktidentifierare (grundläggande UDI-DI). För att hitta SSP för Aptima HBV Quant Assay, se Grundläggande unik produktidentifierare (BUDI): 54200455DIAGAPTHBVAf.

Varningar och försiktighetsåtgärder

- A. För *in vitro*-diagnostisk användning.
- B. För yrkesmässig användning.
- C. Minska risken för ogiltiga resultat genom att noggrant läsa bipacksedeln och *Användarhandledning för Panther/Panther Fusion™ System* innan du utför den här assayen.
- D. Target Enhancer-reagens (TER) är frätande. Se säkerhetsdatabladet i slutet av detta avsnitt.

Laboratorierelaterad information

- E. FÖRSIKTIGHET: Kontrollerna för den här assayen innehåller human plasma. Plasman har befunnits vara icke-reaktiv för hepatit B-ytantigen (HBsAg), antikroppar mot HCV, antikroppar mot HIV-1 och HIV-2 samt HIV-antigen när den analyserades med metoder licensierade av U.S. Food and Drug Administration. Plasman var dessutom icke-reaktiv för HBV DNA, HCV RNA, och HIV-1 RNA när den analyserades med licensierade nukleinsyratest. Alla ämnen som har varit i kontakt med eller har sitt ursprung i blod från människa ska betraktas som potentiellt smittförande och bör hanteras med allmänt vedertagna försiktighetsåtgärder.^{7,8,9}
- F. Endast personal med adekvat utbildning i användningen av Aptima HBV Quant assay och hantering av potentiellt smittförande ämnen bör utföra den här proceduren. I händelse av spill ska ytan omedelbart desinfekteras enligt lämpliga lokala rutiner.
- G. Använd endast medföljande eller föreskriven laboratorieutrustning för engångsbruk.
- H. Iaktta sedvanliga säkerhetsrutiner för arbete i laboratorium. Pipettera inte med hjälp av munnen. Undvik att äta, dricka eller röka i utsedda arbetsområden. Använd puderfria engångshandskar, skyddsglasögon och laboratorierockar vid hantering av prover och reagenssatser. Tvätta händerna noga efter hantering av prover och reagenssatser.
- I. Arbetsytor, pipetter och annan utrustning måste regelbundet desinficeras med 2,5 % till 3,5 % (0,35 till 0,5 M) natriumhypokloritlösning.
- J. Kassera alla material som har varit i kontakt med provmaterial och reagenser i enlighet med tillämpliga lokala föreskrifter eller myndighetsföreskrifter.^{7,8,9,10} Rengör och desinficera alla arbetsytor noggrant.
- K. Kontrollerna innehåller natriumazid som konserveringsmedel. Överför inte reagens med hjälp av metallrör. Om lösningar som innehåller natriumazidföreningar kasseras i avloppssystemet ska de spädas ut och spolade ned tillsammans med rikliga mängder rinnande vatten. Dessa försiktighetsåtgärder rekommenderas i syfte att undvika ansamling av avlagringar i metallrör där explosiva förhållanden kan uppstå.
- L. God standardpraxis för molekylärbiologiska laboratorier inbegriper miljöövervakning. För kontroll av laboratoriemiljön rekommenderas följande förfarande:
 - 1. Hämta en provpinne med bomullstopp och koppla den till ett Aptima SAT.
 - 2. Märk alla SAT-enheter på lämpligt sätt.
 - 3. Fyll varje SAT-enhet med 1 mL Aptima provspädningsmedel.
 - 4. Samla in prov på ytan genom att fukta provpinnen lätt med nukleasfritt avjoniserat vatten.

5. Ta ett pinnprov från ytan av intresse med en vertikal rörelse uppifrån och ned. Vrid provpinnen ungefär ett halvt varv medan du tar provet.
6. Placera omedelbart provpinnen i röret och rör försiktigt om den i utspädningsmedlet för att extrahera potentiellt uppsamlat material. Tryck provpinnen mot transportrörets ena sida för att extrahera så mycket vätska som möjligt. Kassera provpinnen och sätt ett lock på provröret.
7. Upprepa proceduren med övriga pinnprover.
8. Testa provpinnen med en molekyllär assay.

Provinformation

- M. Prover kan vara smittförande. Vidta allmänt vedertagna försiktighetsåtgärder^{7,8,9} när du genomför den här analysen. Korrekta hanterings- och kasseringsmetoder bör fastställas i enlighet med tillämpliga regler.¹⁰ Endast personal med adekvat utbildning i användningen av Aptima HBV Quant Assay och hantering av potentiellt smittförande ämnen bör utföra den här proceduren.
- N. Upprätthåll korrekta förvaringsförhållanden vid transport av prover för att säkerställa provets kvalitet. Provernas hållbarhet har inte utvärderats under andra fraktförhållanden än de som rekommenderas.
- O. Undvik korskontaminering under provhantering. Var särskilt noga med att undvika kontaminering genom spridning av aerosoler när locken lossas eller tas av. Prover kan innehålla mycket höga nivåer av organismer. Se till att olika provbehållare inte kommer i kontakt med varandra och kassera använda material utan att flytta dem över öppna behållare. Byt handskar om de kommer i kontakt med prover.

Assayrelaterad information

- P. Använd inte reagenssatsen, kalibratoren eller kontrollerna efter utgångsdatum.
- Q. Analysreagens från satser med olika huvudsatsnummer får inte bytas, blandas eller kombineras. Assayvätskor kan komma från olika batchnummer. Kontroller och kalibratorer kan komma från olika batchnummer.
- R. Undvik att reagens kontamineras med mikrober och nukleas.
- S. Assayreagens ska förvaras med lock på och i specificerade temperaturer. Assayens prestanda kan påverkas om du använder assayreagens som har förvarats på ett olämpligt sätt. Se *Förvaring och hantering av reagens* och *Analysmetod för Panther System* för mer information.
- T. Blanda inte analysreagens eller vätskor såvida du inte har fått särskilda instruktioner att göra det. Fyll inte behållare med ytterligare reagens eller vätskor. Panther System kontrollerar reagensnivåerna.
- U. Undvik att TER kommer i kontakt med hud, ögon och slemhinnor. Tvätta med vatten vid kontakt med det här reagenset. Om reagenset spills ut, späd med vatten och följ lämpliga lokala rutiner.
- V. Vissa reagens i den här satsen är märkta med information om faror.

Obs! Faroinformationen återspeglar klassificeringar i EU-säkerhetsdatablad (SDS). För information i farokommunikation som är specifik för din region, se regionsspecifikt SDS på Safety Data Sheet Library (bibliotek med säkerhetsdatablad) på www.hologicsds.com. Mer information om symbolerna finns i symbolförklaringen på <https://www.hologic.com/package-inserts>.

Faroinformation för Nordamerika	
	HBV VL Kit Controls <i>Humant serum/human plasma 95–100 %</i> <i>Natriumazid < 1 %</i> — —
	Target Enhancer Reagent <i>Lithium Hydroxide, Monohydrate 5–10 %</i> — — FARA H302 – Skadligt vid förtäring. H314 – Orsakar allvarliga frätskador på hud och ögon. P264 – Tvätta ansikte, händer och eventuell exponerad hud grundligt efter användning. P270 – Ät inte, drick inte och rök inte när du använder produkten. P330 – Skölj munnen. P501 – Innehållet/behållaren lämnas till godkänd avfallsanläggning. P260 – Inandas inte damm/rök/gaser/dimma/ångor/sprej. P280 – Använd skyddshandskar/skyddskläder/ögonskydd/ansiktsskydd. P301 + P330 + P331 – VID FÖRTÄRING: Skölj munnen. Framkalla INTE kräkning. P303 + P361 + P353 – VID HUDKONTAKT (även håret): Ta omedelbart av alla nedstänkta kläder. Skölj huden med vatten/duscha. P304 + P340 – VID INANDNING: Flytta personen till frisk luft och se till att andningen underlättas. P305 + P351 + P338 – VID KONTAKT MED ÖGONEN: Skölj försiktigt med vatten i flera minuter. Ta ur eventuella kontaktlinser om det går lätt. Fortsätt skölja. P321 – Särskild behandling (se kompletterande instruktioner om första hjälpen i säkerhetsdatabladet). P363 – Nedstänkta kläder ska tvättas innan de används igen. P405 – Förvaras inlåst. P301 + P317 – VID FÖRTÄRING: Sök läkarvård. P316 – Sök akut läkarvård omedelbart.
Faroangivelse för EU	
—	Amplification Reagent <i>Magnesium Chloride 60–65 %</i> — H412 – Skadliga långtidseffekter för vattenlevande organismer. P273 – Undvik utsläpp till miljön. P501 – Innehållet/behållaren lämnas till en godkänd avfallsanläggning.
	Enzyme Reagent <i>HEPES 1–5 %</i> <i>Triton X-100 1–5 %</i> — — H412 – Skadliga långtidseffekter för vattenlevande organismer. P273 – Undvik utsläpp till miljön. P501 – Innehållet/behållaren lämnas till en godkänd avfallsanläggning.
—	Enzyme Reconstitution Solution <i>Glycerol 20–25 %</i> <i>Triton X-100 5–10 %</i> <i>HEPES 1–5 %</i> — — H412 – Skadliga långtidseffekter för vattenlevande organismer. P273 – Undvik utsläpp till miljön. P501 – Innehållet/behållaren lämnas till en godkänd avfallsanläggning.

—	Promoter Reagent Magnesium Chloride 60–65 % H412 – Skadliga långtidseffekter för vattenlevande organismer. P273 – Undvik utsläpp till miljön. P501 – Innehållet/behållaren lämnas till en godkänd avfallsanläggning.
—	Target Capture Reagent HEPES 15-20% Lauryl Sulfate Lithium Salt 5-10% Succinic Acid 1-5% Lithium Hydroxide, Monohydrate 1-5% H412 – Skadliga långtidseffekter för vattenlevande organismer. P273 – Undvik utsläpp till miljön. P501 – Innehållet/behållaren lämnas till en godkänd avfallsanläggning.
—	HBV VL Kit Calibrators HEPES 15–20 % Lauryl Sulfate Lithium Salt 5-10% Succinic Acid 1-5% Lithium Hydroxide, Monohydrate 1-5% H412 – Skadliga långtidseffekter för vattenlevande organismer. P273 – Undvik utsläpp till miljön. P501 – Innehållet/behållaren lämnas till en godkänd avfallsanläggning.
  	HBV VL Kit Controls Humant serum/human plasma 95–100 % Natriumazid < 1 % FARA H300 – Dödligt vid förtäring. H410 – Mycket giftigt för vattenlevande organismer med långtidseffekter. P264 – Tvätta ansiktet, händerna och exponerad hud grundligt efter användning. P273 – Undvik utsläpp till miljön. P301 + P310 – VID FÖRTÄRING: Kontakta genast GIFTINFORMATIONSCENTRALEN eller läkare. P321 – Särskild behandling (se kompletterande instruktioner om första hjälpen på etiketten). P330 – Skölj munnen. P391 – Samla upp spill.
 	Target Enhancer Reagent Lithium Hydroxide, Monohydrate 5–10 % FARA H302 – Skadligt vid förtäring. H314 – Orsakar allvarliga frätskador på hud och ögon. P264 – Tvätta ansiktet, händerna och exponerad hud grundligt efter användning. P270 – Undvik att äta, dricka eller röka i utsedda arbetsområden. P330 – Skölj munnen. P501 – Innehållet/behållaren lämnas till en godkänd avfallsanläggning. P260 – Inandas inte damm/rök/gaser/dimma/ångor/sprej. P280 – Använd skyddshandskar/skyddskläder/ögonskydd/ansiktsskydd. P301 + P330 + P331 – VID FÖRTÄRING: Skölj munnen. Framkalla INTE kräkningar. P303 + P361 + P353 – VID HUDKONTAKT (även håret): Ta omedelbart av alla nedstänkta kläder. Skölj huden med vatten (eller duscha). P304 + P340 – VID INANDNING: Flytta personen till frisk luft och se till att andningen är bekväm. P305 + P351 + P338 – VID KONTAKT MED ÖGONEN: Skölj försiktigt med vatten i flera minuter. Ta ur eventuella kontaktlinser om det går lätt. Fortsätt skölja. P310 – Kontakta genast GIFTINFORMATIONSCENTRAL eller läkare. P321 – Särskild behandling (se kompletterande instruktioner om första hjälpen på etiketten). P363 – Tvätta förorenade kläder innan de används igen. P405 – Förvaras inlåst.

Förvaring och hantering av reagens

- A. Följande tabell visar förvaringsförhållanden och stabilitet för reagens, kontroller och kalibrator.

Reagens	Förvaring, öppnat	Öppnad sats (rekonstituerad)	
		Förvaring	Stabilitet
qHBV-amplifieringsreagens	2 °C till 8 °C		
qHBV-amplifieringsrekonstitutionslösning	2 °C till 8 °C	2 °C till 8 °C	30 dagar ^a
qHBV-enzymreagens	2 °C till 8 °C		
qHBV-enzymrekonstitutionslösning	2 °C till 8 °C	2 °C till 8 °C	30 dagar ^a
qHBV-promotorreagens	2 °C till 8 °C		
qHBV-promotorrekonstitutionslösning	2 °C till 8 °C	2 °C till 8 °C	30 dagar ^a
qHBV Target Capture-reagens	2 °C till 8 °C	2 °C till 8 °C	30 dagar ^a
qHBV PCAL (positivkalibrator)	-15 °C till -35 °C	15 °C till 30 °C	Ampull för engångsbruk Använd inom 24 timmar
qHBV NC CONTROL – (negativ kontroll)	-15 °C till -35 °C	15 °C till 30 °C	Ampull för engångsbruk Använd inom 24 timmar
qHBV LPC CONTROL + (låg positiv kontroll)	-15 °C till -35 °C	15 °C till 30 °C	Ampull för engångsbruk Använd inom 24 timmar
qHBV HPC CONTROL + (hög positiv kontroll)	-15 °C till -35 °C	15 °C till 30 °C	Ampull för engångsbruk Använd inom 24 timmar
qHBV Target Enhancer-reagens	15 °C till 30 °C	15 °C till 30 °C	30 dagar ^a

^a Reagens som avlägsnas från Panther-systemet ska omedelbart återböras till lämpliga förvaringstemperaturer.

- B. Kassera eventuella oanvända rekonstituerade reagens, reagens för målsekvensinfångning (TCR) och Target Enhancer-reagens (TER) efter 30 dagar eller efter huvudsatsens utgångsdatum, beroende på vilket som inträffar först.
- C. Reagens som förvaras i Panther System har 72 timmars hållbarhet i instrumentet. Reagens kan laddas i Panther-systemet upp till 8 gånger. Panther System loggar varje tillfälle då reagensen laddas.
- D. När kalibratoren har tinats upp måste lösningen vara klar, det vill säga den får inte vara grumlig eller ha utfällningar. Se till att utfällningar löses upp. Använd inte kalibratoren om det förekommer gelering, utfällning eller grumlighet.
- E. Promotorreagens och rekonstituerat promotorreagens är fotosensitiva. Skydda dessa reagens från ljus under förvaring och beredning för användning.
- F. qHBV Target Enhancer-reagenset måste ha en temperatur på 15 °C till 30 °C innan det används.

Provtagning och provförvaring

Obs! Hantera alla prover som om de innehöll potentiellt smittförande ämnen. Vidta allmänt vedertagna försiktighetsåtgärder.

Obs! Undvik korskontamination under hantering av prover. Använt material ska exempelvis kasseras utan att passera över öppna rör.

Obs! Endast sekundära rör av plast rekommenderas för förvaring.

Helblodsprover som har samlats in i följande glas- eller plaströr kan användas:

- provrör innehållande etylendiamintetraättiksyra (EDTA) eller ACD-antikoagulanter
- plasmaberedningsrör
- serumrör
- serumseparationsrör.

För serum ska koagel hinna bildas före fortsatt behandling.

A. Provtagning

Helblod kan förvaras i 2 °C till 30 °C i upp till 24 timmar, och plasma ska separeras genom centrifugering i ett primärt rör före bearbetning. Separera plasma eller serum från de röda blodkropparna i enlighet med tillverkarens anvisningar för det provrör som används. Plasma eller serum kan testas i Panther-systemet i ett primärt rör eller överföras till ett sekundärt rör, som Aptima® provalikvotrör. För att erhålla en reaktionsvolym på 500 µL är den lägsta volymen plasma eller serum för primära provtagningsrör 1200 µL, och för sekundära rör är den lägsta volymen 700 µL. Följande tabell identifierar dödvolymskrav för varje primär och sekundär rörtyp.

Rör (storlek och typ)	Dödvolymskrav på Panther
Aptima Sample Aliquot Tube (SAT)	0,2 mL
12 x 75 mm	0,5 mL
13 x 100 mm	0,5 mL
13 x 100 mm med gel	0,3 mL
16 x 100 mm med gel	0,7 mL

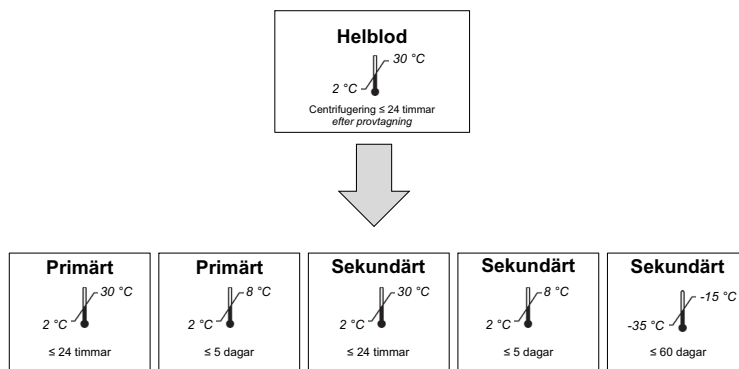
Plasma och serum som inte analyseras omedelbart kan förvaras i enlighet med nedanstående anvisningar. Plasma och serum som överförs till SAT eller ett sekundärt rör kan frysas ned i -20 °C. Överskrid inte tre nedfrysings-upptiningscykler. Frys inte prover i EDTA, ACD eller primära provtagningsrör för serum.

B. Provförvaringsförhållanden

1. EDTA- och ACD-plasmaprover

Helblod kan förvaras i 2 °C till 30 °C och måste centrifugeras inom 24 timmar efter provtagningen. Plasma kan sedan förvaras under något av följande förhållanden:

- i det primära provtagningsröret eller ett sekundärt rör vid 2 °C till 30 °C i upp till 24 timmar
- i det primära provtagningsröret eller ett sekundärt rör vid 2 °C till 8 °C i upp till 5 dagar
- i det sekundära röret vid –20 °C i upp till 60 dagar.

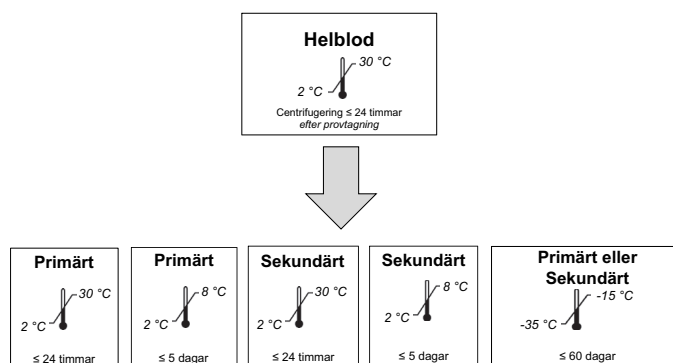


Figur 1. Förvaringsförhållanden för EDTA-/ACD-rör

2. PPT-prover

Helblod kan förvaras i 2 °C till 30 °C och måste centrifugeras inom 24 timmar efter provtagningen. Plasma kan sedan förvaras under något av följande förhållanden:

- i PPT eller ett sekundärt rör vid 2 °C till 30 °C i upp till 24 timmar
- i PPT eller ett sekundärt rör vid 2 °C till 8 °C i upp till 5 dagar
- i PPT eller ett sekundärt rör vid –20 °C i upp till 60 dagar.

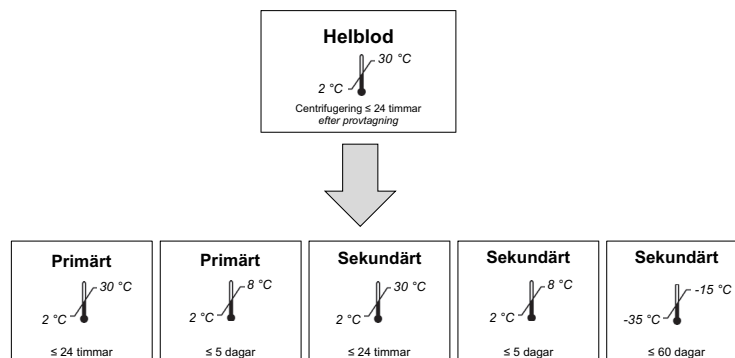


Figur 2. Förvaringsförhållanden för PPT-enheter

3. Prover i serumrör

Helblod kan förvaras i 2 °C till 30 °C och måste centrifugeras inom 24 timmar efter provtagningen. Serum kan förvaras under något av följande förhållanden:

- i serumröret eller ett sekundärt rör vid 2 °C till 30 °C i upp till 24 timmar
- i serumröret eller ett sekundärt rör vid 2 °C till 8 °C i upp till 5 dagar
- i det sekundära röret vid –20 °C i upp till 60 dagar.

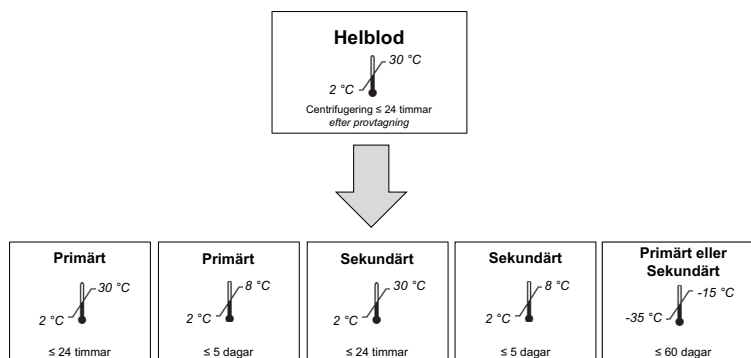


Figur 3. Förvaringsförhållanden för serumrör

4. SST-prover

Helblod kan förvaras i 2 °C till 30 °C och måste centrifugeras inom 24 timmar efter provtagningen. Serum kan förvaras under något av följande förhållanden:

- i provalikvotröret eller ett sekundärt rör vid 2 °C till 30 °C i upp till 24 timmar
- i SST eller ett sekundärt rör vid 2 °C till 8 °C i upp till 5 dagar
- i provalikvotröret eller ett sekundärt rör vid –20 °C i upp till 60 dagar.



Figur 4. Förvaringsförhållanden för SST-enheter

C. Långtidsnedfrysning

Plasma- eller serumprover kan förvaras i –70 °C i upp till 60 dagar i SAT.

D. Utspädning av plasma- och serumprovmaterial

Plasma- och serumprover kan spädas i SAT eller ett sekundärt rör för analys i Panther-systemet. Se *Analysmetod för Panther System*, steg E.5 nedan för mer information.

Obs! Om ett prov späds ut bör det analyseras omedelbart efter utspädningen. Frys inte ett utspätt prov.

Prover i Panther System

Prover kan lämnas kvar i Panther-systemet utan lock i upp till 8 timmar. Prover kan tas ut från Panther System och analyseras så länge den totala tiden i instrumentet inte överstiger 8 timmar före pipettering av provet i Panther System.

Transport av provmaterial

Se till att följa de provförvaringsförhållanden som beskrivs i *Provtagning och provförvaring*.

Obs! Prover måste fraktas i enlighet med tillämpliga nationella, internationella och regionala transportbestämmelser.

Panther System

Reagens för Aptima HBV Quant Assay anges nedan för Panther-systemet. Symboler för identifiering av reagens anges även bredvid respektive reagensnamn.

Medföljande reagens och material

Aptima HBV Quant Assay Kit, 100 analyser (artikelnummer PRD-03424)
(1 assaybox, 1 kalibratorsats, 1 kontrollsats och 1 box med Target Enhancer Reagent)

Ytterligare kalibratorer och kontroller kan beställas separat. Se respektive artikelnummer nedan.

Aptima HBV Quant Assay Box

(förvaras i 2 °C till 8 °C efter leverans)

Symbol	Komponent	Antal
A	qHBV-amplifieringsreagens <i>Icke smittförande nukleinsyror torkade i buffrad lösning.</i>	1 ampull
E	qHBV-enzymreagens <i>Omvänt transkriptas och RNA-polymeras som torkats i HEPES-buffrad lösning.</i>	1 ampull
PRO	qHBV-promotorreagens <i>Icke smittförande nukleinsyror torkade i buffrad lösning.</i>	1 ampull
AR	qHBV-amplifieringsrekonstitutionslösning <i>Vattenlösning innehållande glycerol och konserveringsmedel.</i>	1 x 7,2 ml
ER	qHBV-enzymrekonstitutionslösning <i>HEPES-buffrad lösning innehållande ett ytaktivt ämne och glycerol.</i>	1 x 5,8 ml
PROR	qHBV-promotorrekonstitutionslösning <i>Vattenlösning innehållande glycerol och konserveringsmedel.</i>	1 x 4,5 ml
TCR	qHBV Target Capture-reagens <i>Nukleinsyror i buffrad saltlösning innehållande icke smittförande nukleinsyror i fast fas samt en inre kalibrator.</i>	1 x 72,0 ml
	Rekonstitutionskragar	3
	Streckkodsblad för huvudsats	1 ark

Aptima HBV Quant kalibratorsats (artikelnummer PRD-03425)

(förvaras i –15 °C till –35 °C efter leverans)

Symbol	Komponent	Antal
PCAL	qHBV positivkalibrator <i>Plasmid-DNA i buffrad lösning</i>	5 x 2,5 ml
	Streckkodsetikett för kalibrator	—

Aptima HBV Quant kontrollsats (artikelnummer PRD-03426)
 (förvaras i –15 °C till –35 °C efter leverans)

Symbol	Komponent	Antal
NC	qHBV negativ kontroll <i>HBV-negativ defibrinerad human plasma innehållande gentamicin och 0,2 % natriumazid som konserveringsmedel.</i>	5 x 0,8 ml
LPC	qHBV låg positivkontroll <i>Inaktiverad HBV-positiv plasma i defibrinerad human plasma innehållande gentamicin och 0,2 % natriumazid som konserveringsmedel.</i>	5 x 0,8 ml
HPC	qHBV hög positivkontroll <i>Inaktiverad HBV-positiv plasma i defibrinerad human plasma innehållande gentamicin och 0,2 % natriumazid som konserveringsmedel.</i>	5 x 0,8 ml
	Streckkodsetikett för kontroll	—

Aptima HBV Quant Target Enhancer Reagent Box
 (förvaras i 15 °C till 30 °C efter leverans)

Symbol	Komponent	Antal
TER	qHBV Target Enhancer-reagens <i>En koncentrerad litiumhydroxidlösning.</i>	1 x 46,0 ml

Nödvändiga material som införskaffas separat

Obs! Material som finns tillgängliga hos Hologic anges med respektive artikelnummer om inget annat anges.

Material	Art. Nr
Panther™ System	303095
Panther Fusion™ System	PRD-04172
Panther™ System Continuous Fluid and Waste (Panther Plus)	PRD-06067
Aptima® HBV Quant Calibrator Kit	PRD-03425
Aptima® HBV Quant Controls Kit	PRD-03426
Panther Run Kit for Real Time Assays (endast för realtidsassayer)	PRD-03455 (5 000 analyser)
Aptima® Assay Fluids Kit (kallas även Universal Fluids Kit) innehåller Aptima® Wash Solution, Aptima® Buffer for Deactivation Fluid och Aptima® Oil Reagent	303014 (1 000 analyser)
Multirörsenheter (MTU-enheter)	104772-02
Panther™ Waste Bag Kit	902731
Panther™ Waste Bin Cover	504405
Eller, Panther™ System Run Kit (vid körning av TMA-assayer som inte utförs i realtid, parallellt med TMA-assayer i realtid) Innehåller MTU-enheter, avfallspåsar, lock till avfallsbehållare, Auto Detect och assayvätskor	303096 (5 000 analyser)

Material	Art. Nr
Spetsar, 1 000 µL, konduktiva, vätskeavkännande	901121 (10612513 Tecan)
	903031 (10612513 Tecan)
<i>Alla produkter är inte tillgängliga i alla regioner. Kontakta din representant för regionspecifik information.</i>	MME-04134 (30180117 Tecan)
	MME-04128
Blekmedel, 5 % till 8,25 % (0,7 M till 1,16 M) natriumhypokloritlösning	—
Puderfria engångshandskar	—
Ogenomträngliga utbyteslock	103036A
Utbyteslock till reagens	
<i>Rekonstitutionsflaskor för amplifierings-, enzym- och promotorreagens</i>	CL0041 (100 lock)
<i>TCR-flaska</i>	CL0040 (100 lock)
<i>TER-flaska</i>	501604 (100 lock)
Skyddspapper för laboratoriebänk med plastad baksida	—
Luddfria dukar	—
Pipetterare	—
Spetsar	—
Alternativ för primära provtagningsrör:	
<i>13 mm x 100 mm</i>	—
<i>13 mm x 75 mm</i>	—
<i>16 mm x 100 mm</i>	—
Centrifug	—
Vortexblandare	—

Tillvalsmaterial

Material	Art. Nr
Alternativ för sekundära rör:	
<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-pack)</i>	FAB-18184
Lock till transportrör (100-pack)	504415
<i>lock till SAT-rör</i>	
Aptima® Specimen Diluent	PRD-03003
Aptima® Specimen Diluent Kit	PRD-03478
<i>innehåller provspädningsmedel, 100 SAT-enheter och 100 lock</i>	
Överföringspipetter	—
Provpinnar med bomullstopp	—
Provrörsvagga	PRD-03488

Analysmetod för Panther System

Obs! Se Användarhandledning för Panther/Panther Fusion System för ytterligare information om förfaranden.

A. Förbereda arbetsytan

1. Rengör arbetsytor där reagens ska beredas. Torka av arbetsytorna med 2,5 % till 3,5 % (0,35 M till 0,5 M) natriumhypokloritlösning. Låt natriumhypokloritlösningen verka minst 1 minut på arbetsytorna och skölj sedan med avjoniserat vatten (DI). Låt inte natriumhypokloritlösningen torka. Täck bänkytan med rena och absorberande skyddspapper för laboratoriebänk med plastad baksida.
2. Rengör en separat bänkyta för beredning av prover. Följ proceduren som beskrivs ovan (steg A.1).
3. Rengör eventuella pipetter. Använd rengöringsproceduren som beskrivs ovan (steg A.1).

B. Bereda kalibrator och kontroller

Låt kalibratoren och kontrollerna nå 15 °C till 30 °C före behandling enligt följande:

1. Ta ut kalibratorerna och kontrollerna från förvaringen (-15 °C till -35 °C) och placera dem i en temperatur på 15 °C till 30 °C. Invertera försiktigt varje rör under upptagningsproceduren så att innehållet blandas ordentligt. Kontrollera att provrörsinnehållet är helt upptinat före användning.

Alternativ. Kalibrator- och kontrollrören kan placeras på en provrörsvagga så att innehållet blandas ordentligt. Kontrollera att provrörsinnehållet är helt upptinat före användning.

Obs! Undvik överdriven skumbildning när du vänder på kalibratoren och kontrollerna. Skummet försämrar nivåavkänningsfunktionen i Panther-systemet.

2. När rörinnehållet har tinat upp torkar du rörets utsida med en ren och torr engångsduk.
3. Öppna inte rören i det här stadiet eftersom det kan leda till kontaminering av innehållet.

C. Rekonstituera reagens/bereda en ny sats

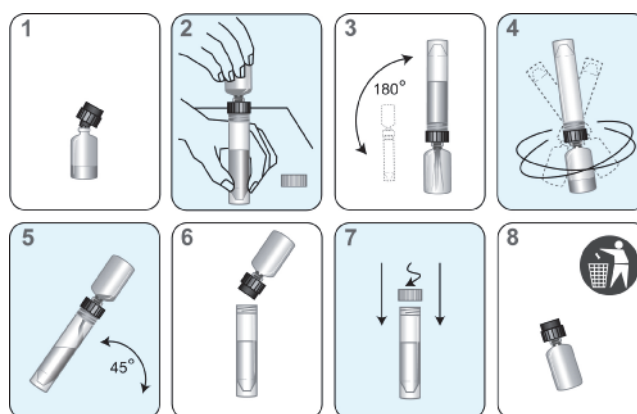
Obs! Innan du börjar arbeta med Panther-systemet ska reagensen rekonstitueras.

1. Gör följande för att preparera TCR:
 - a. Ta ut TCR från förvaringen (2 °C till 8 °C). Kontrollera att batchnumret på TCR-flaskan motsvarar batchnumret på huvudsatsens streckkodsblad.
 - b. Skaka omedelbart TCR-flaskan kraftigt 10 gånger. Låt TCR-flaskan stå i 15 °C till 30 °C så att den värms upp i minst 45 minuter. Snurra och invertera TCR-flaskan minst var 10:e minut under den här perioden.

Alternativ. TCR-flaskan kan prepareras på en provrörsvagga enligt följande: Ta ut TCR från förvaringen (2 °C till 8 °C) och skaka det omedelbart 10 gånger kraftigt. Placera TCR-flaskan på en provrörsvagga och låt reagenset värmas upp i minst 45 minuter vid 15 °C till 30 °C.
 - c. Kontrollera att alla utfällningar har lösts upp och att magnetpartiklarna har suspenderats före användning.
2. Så här rekonstituerar du amplifierings-, enzym- och promotorreagens:
 - a. Ta ut frystorkade reagens och motsvarande rekonstitutionslösningar från förvaring (2 °C till 8 °C). Para ihop varje rekonstitutionslösning med respektive frystorkat reagens.
 - b. Se till att rekonstitutionslösningen och det frystorkade reagenset har matchande etikettfärger. Kontrollera batchnumret på huvudsatsens streckkodsblad så att korrekta reagens paras ihop.

- i. Öppna den frystorkade reagensampullen genom att ta bort metalltätningen och gummistoppet.
- ii. För bestämt in den skårade änden av rekonstitutionskragen (svart) på ampullen (Figur 5, steg 1).
- iii. Öppna motsvarande flaska med rekonstitutionslösning och lägg locket på en ren, täckt arbetsyta.
- iv. Placera flaskan med rekonstitutionslösning på en stabil yta (till exempel bänken). Invertera sedan ampullen med frystorkat reagens över rekonstitutionslösningsflaskan och anslut kragen ordentligt till rekonstitutionslösningsflaskan (Figur 5, steg 2).
- v. Invertera försiktigt de hopmonterade flaskorna (ampull ansluten till flaskan med lösning) igen så att lösningen rinner tillbaka in i glasampullen (Figur 5, steg 3).
- vi. Plocka upp de hopmonterade flaskorna och snurra dem i minst 10 sekunder (Figur 5, steg 4).
- vii. Vänta i minst 30 minuter tills det frystorkade reagenset har lösts upp i lösningen.
- viii. När det frystorkade reagenset har lösts upp i lösningen virvlar du de hopmonterade flaskorna i minst 10 sekunder och vaggar sedan lösningen i glasampullen fram och tillbaka så att den blandas ordentligt.
- c. Luta långsamt de hopmonterade flaskorna på nytt så att all lösning rinner tillbaka in i flaskan med rekonstitutionslösning (Figur 5, steg 5).
- d. Avlägsna försiktigt rekonstitutionskragen och glasampullen (Figur 5, steg 6).
- e. Sätt tillbaka locket på flaskan. Notera operatörens initialer och rekonstitutionsdatum på etiketten (Figur 5, steg 7).
- f. Kassera rekonstitutionskragen och glasampullen (Figur 5, steg 8).

Varning: Undvik överdriven skumbildning när du rekonstituerar reagens. Skummet försämrar nivåavkänningsfunktionen i Panther-systemet.



Figur 5. Rekonstitution av reagens

3. Ta ut qHBV Target Enhancer-reagenset från förvaringen (15 °C till 30 °C). Notera operatörens initialer och öppningsdatum på etiketten. Kontrollera att batchnumret på TER-flaskan motsvarar batchnumret på huvudsatsens streckodsblad.

D. Reagensberedning av tidigare beredda reagens

1. Ta ut tidigare beredda reagens från förvaringen (2 °C till 8 °C). Tidigare beredda amplifierings-, enzym- och promotorreagens samt TCR måste nå rumstemperatur (15 °C till 30 °C) innan assayen påbörjas.
2. Ta ut TER från förvaringen (15 °C till 30 °C).
3. För tidigare berett TCR utför du steg C.1 ovan före laddning i systemet.
4. Virvla och invertera amplifierings-, enzym- och promotorreagensen så att de blandas ordentligt innan de laddas i systemet. Undvik överdriven skumbildning när du inverterar reagens.

ALTERNATIV: Tidigare beredda reagens kan beredas i en provrörsvagga. Följ då dessa instruktioner: Ta bort reagens från förvaring (2 °C till 8 °C). Placera reagens i en provrörsvagga och låt stå i 15 °C till 30 °C för att värmas i minst 30 minuter.

5. Fyll inte reagensflaskor. Panther System känner av och avvisar flaskor med mer reagens än beräknat.

E. Provhantering

1. Se till att behandlade prover i primära rör eller utspädda plasmaprover i sekundära rör har förvarats korrekt enligt *Provtagning*.
2. Frysta prover måste tinas upp ordentligt. Vortexblanda de tinade provmaterialen i 3 till 5 sekunder så att de blandas ordentligt.
3. Låt proverna nå 15 °C till 30 °C före behandling. Se *Prover i Panther System* för ytterligare information om hantering av prover i instrumentet.
4. Se till att varje primärt provtagningsrör innehåller upp till 1200 µL provmaterial eller att varje provalikvotrör innehåller minst 700 µL provmaterial. Se tabellen i *Provtagning* för att identifiera dödvolymkrav för varje primär och sekundär rörtyp. Om det är nödvändigt med provutspädning, se steg E.5 nedan för ytterligare information.
5. Späd ut plasma- eller serumprov 1:3 i ett provalikvotrör eller 1:100 i ett sekundärt rör. Ett provmaterial kan spädas ut i ett sekundärt rör för analys i Panther-systemet.

OBS! Om ett prov späds ut måste det analyseras omedelbart efter utspädningen.

a. Utspädning av prover med låg volym

Volymen av provmaterial kan ökas till den erforderliga minimivolymer (700 µL) med hjälp av Aptima spädningsmedel för provmaterial. Provmaterial bestående av minst 240 µL kan spädas ut med två delar spädningsmedel för provmaterial (1:3) enligt följande:

- i. Placera 240 µL prov i SAT.
- ii. Tillsätt 480 µL Aptima provspädningsmedel.
- iii. Sätt lock på röret.
- iv. Invertera försiktigt 5 gånger för att blanda.

Prov som späds ut med förhållandet 1:3 kan analyseras i Panther-systemet med alternativet 1:3 (se *Användarhandledning för Panther/Panther Fusion System* för mer information). Programvaran rapporterar automatiskt det rena resultatet genom att tillämpa utspädningsfaktorn. Dessa prover flaggas som utspädda prover.

b. Utspädning av prover med högre titrer

Om resultatet för ett prov befinner sig ovanför den övre kvantifieringsgränsen (ULoQ) kan det spädas ut med 99 delar Aptima Specimen Diluent (1:100) enligt följande:

- i. Placera 30 µL provmaterial i provalikvotröret eller i ett sekundärt rör.
- ii. Tillsätt 2970 µL Aptima provspädningsmedel.
- iii. Sätt lock på röret.
- iv. Invertera försiktigt 5 gånger för att blanda.

Prov som späds ut med förhållandet 1:100 kan analyseras i Panther-systemet med alternativet 1:100 (se *Användarhandledning för Panther/Panther Fusion System* för mer information). Programvaran rapporterar automatiskt det rena resultatet genom att tillämpa utspädningsfaktorn. Dessa prover flaggas som utspädda prover.

OBS! För utspädda prover med rena koncentrationer högre än den övre kvantifieringsgränsen rapporteras resultaten med hjälp av vetenskaplig notering.

6. Alla prover ska centrifugeras i 1 000 till 3 000 g i 10 minuter innan de laddas i provstället. Avlägsna inte locken. Bubblor i rören kan försämra nivåavkänningsfunktionen i Panther System. Se *Systemförberedelse*, steg F.2 nedan för information om laddning av ställ och avlägsnande av lock.

F. Systemförberedelse

1. Konfigurera systemet enligt anvisningarna i *Användarhandledning för Panther/Panther Fusion System* och *Metodanmärkningar*. Se till att använda reagensställ och TCR-adaptrar av lämplig storlek.
2. Ladda proverna i provstället. Utför följande steg för varje provrör (prov, och, om nödvändigt, kalibrator och kontroller):
 - a. Lossa på ett av provrörslocken, men ta inte bort det ännu.

OBS! Var särskilt noga med att undvika kontamination genom spridning av aerosoler. Lossa försiktigt locken på proverna.

- b. Ladda provröret i provstället.
- c. Upprepa steg 2.a och 2.b för varje återstående prov.
- d. När proverna har laddats i provstället tar du bort och kasserar varje provrörslock i ett provställ. Håll inte lock ovanför andra provställ eller provrör eftersom det kan leda till kontaminering.
- e. Använd om så krävs en ny överföringspipett för engångsbruk för att avlägsna eventuella bubblor eller skum.
- f. När det sista locket har tagits bort laddar du provstället i provfacket.

Obs! Om du kör andra assayer och provtyper samtidigt måste du säkra provhållaren innan provstället laddas i provfacket.

- g. Upprepa steg 2.a till 2.f med nästa provställ.

Metodanmärkningar

A. Kalibrator och kontroller

1. Rören för qHBV positivkalibrator, qHBV låg positiv kontroll, qHBV hög positiv kontroll och qHBV negativ kontroll kan laddas i alla positioner i provstället och i alla provfackbanor i Panther System. Provpipettering inleds när ett av följande två villkor är uppfyllt:
 - a. Systemet behandlar kalibratoren och kontrollerna.
 - b. Systemet registrerar giltiga resultat för kalibratoren och kontrollerna.
2. När kalibrator- och kontrollrören har pipetterats och behandlar för reagenssatsen för Aptima HBV Quant Assay kan proverna testas med motsvarande rekonstituerad sats i upp till 24 timmar, **såvida inte**:
 - a. Kalibrator- eller kontrollresultaten är ogiltiga.
 - b. Den tillhörande analysreagenssatsen avlägsnas från systemet.
 - c. Tillhörande analysreagenssats har passerat stabilitetsgränsen.
3. Kalibratoren och varje kontrollrör kan användas en gång. Om du försöker använda röret mer än en gång kan behandlingsfel uppstå.

B. Handskpuder

Precis som i alla reagenssystem kan stora mängder puder på vissa handskar orsaka kontaminering i öppna rör. Puderfria handskar rekommenderas.

Kvalitetskontroll

Körningar eller provresultat kan ogiltigförklaras av en operatör om tekniska, operativa eller instrumentrelaterade problem observeras och dokumenteras i samband med analysen. I det här fallet måste proverna analyseras igen.

Analyskalibrering

För att få fram giltiga resultat måste en assaykalibrering utföras. En enskild positivkalibrator körs i tre replikat varje gång en reagenssats laddas i Panther System. En utförd kalibrering är giltig i upp till 24 timmar. Programvaran i Panther System meddelar operatören när en kalibrering krävs. Operatören skannar en kalibreringskoefficient som finns på huvudsatsens streckodsblad som medföljer alla reagenssatser.

Under behandlingen verifierar programvaran för Panther System automatiskt acceptanskriterier för kalibratoren. Om färre än två kalibratorreplikat är giltiga ogiltigförklaras körningen automatiskt av programvaran. Prover i ogiltigförklarade körningar måste analyseras på nytt med hjälp av nyberedda kalibrаторer och kontroller.

Negativa och positiva kontroller

För att kunna erhålla giltiga resultat måste en uppsättning analyskontroller analyseras. Ett replikat av den negativa kontrollen, den låga positiva kontrollen och den höga positiva kontrollen måste testas varje gång en reagenssats laddas i Panther-systemet. En utförd kontroll är giltig i upp till 24 timmar. Programvaran i Panther System meddelar operatören när kontroller krävs.

Under behandlingen verifierar programvaran i Panther System automatiskt acceptanskriterier för kontrollerna. För att generera giltiga resultat måste den negativa kontrollen ge resultatet "Ej detekterat" och de positiva kontrollerna måste ge resultat inom på förhand definierade parametrar (nominellt mål för LPC: $2,7 \log_{10}$ IE/mL, nominellt mål för HPC: $4,6 \log_{10}$ IE/mL). Om någon av kontrollerna ger ett ogiltigt resultat kommer programvaran automatiskt att ogiltigförklara körningen. Prover i ogiltigförklarade körningar måste analyseras på nytt med hjälp av nyberedda kalibrаторer och kontroller.

Intern kalibrator/intern kontroll

Varje prov innehåller en intern kalibrator/intern kontroll (IC). Under behandlingen verifierar Panther System programvara automatiskt acceptanskriterier för IC. Om ett IC-resultat är ogiltigt blir även provresultatet ogiltigförklarat. Alla prover med ogiltiga IC-resultat måste analyseras på nytt för att ett giltigt resultat ska kunna erhållas.

Programvaran för Panther-systemet är konstruerad för exakt verifiering av processer då procedurerna utförs i enlighet med anvisningarna i den här bipacksedeln och *Användarhandledning för Panther/Panther Fusion System*.

Tolkning av resultat

Panther System fastställer automatiskt koncentrationen av HBV DNA för prover och kontroller genom att jämföra resultaten med en kalibreringskurva. HBV DNA-koncentrationer rapporteras i IE/mL och $\log_{10}$ IU/mL. Tolkningen av resultaten ges i Tabell 1.

Om utspädningsalternativet används beräknar Panther System automatiskt HBV DNA-koncentrationen för det rena provet genom att multiplicera den utspädda koncentrationen med utspädningsfaktorn, och utspädda prover flaggas som utspädda.

Obs! Med utspädda prover kan resultat listade som "Ej detekterat" eller "< 10 detekterat" komma att genereras vid utspädning av ett prov med en koncentration över men i närheten av LoD (detekteringsgränsen) eller LLoQ (beräkningsgränsen). Du rekommenderas ta och analysera ytterligare ett rent prov om ett kvantitativt resultat inte erhålls.

Tabell 1: Tolkning av resultat

Rapporterat resultat av Aptima HBV Quant Assay		Tolkning
IE/mL	$\log_{10}$ IE/mL ^a	
Ej detekterat	Ej detekterat	HBV DNA ej detekterat.
< 10 detekterat	< 1,00	HBV DNA har detekterats, men på en nivå under LLoQ.
10 till 1 000 000 000	1,00 till 9,00	HBV DNA-koncentrationen är inom det linjära intervallet på 10 till 1 000 000 000 IE/mL.
> 1 000 000 000	> 9,00	HBV DNA-koncentrationen ligger över ULoQ.
Ogiltigt ^b	Ogiltigt ^b	Fel som indikerats vid genereringen av resultatet. Provet bör analyseras på nytt.

^a Värdet trunckeras till två decimaler.

^b Ogiltiga resultat visas med blå text.

För utspädda prover med rena koncentrationer högre än den övre kvantifieringsgränsen rapporteras resultaten med hjälp av vetenskaplig notering.

Acceptanskriterierna för var och en av Aptima HBV Quant Assay-kontrollerna beskrivs i Tabell 2 nedan.

Obs! Återställningsintervallet som anges nedan förskjuts baserat på det tilldelade värdet för varje specifik batch. Se den tilldelade koncentrationen som anges på bipacksedeln för kontrollens streckkodsblad som medföljer varje kontrollbox.

Tabell 2: Acceptanskriterier för återställningsintervall för Aptima HBV Quant Assay-kontroller

Komponent	Återställningsintervall för giltiga körningar
Negativ kontroll	Ej tillämpligt
Låg positivkontroll	+/- 0,55 $\log_{10}$ IE/mL
Hög positivkontroll	+/- 0,5 $\log_{10}$ IE/mL

Begränsningar

- A. Den här assayen får endast utföras av personal med utbildning i proceduren.
Om anvisningarna i bipacksedeln inte följs finns det risk för felaktiga resultat.
- B. Pålitliga resultat förutsätter att prover tas, transporteras, förvaras och behandlas på ett korrekt sätt.

Analytiska prestanda

Detekteringsgräns vid användning av WHO:s tredje internationella standard

Detekteringsgränsen (LoD) för assayen definieras som den HBV DNA-koncentration som detekteras vid en sannolikhet på 95 % eller högre, i enlighet med CLSI EP17-A2.¹¹

LoD fastställdes genom analys av paneler utifrån WHO:s tredje internationella standard för hepatit B-virus DNA (NIBSC 10/264, genotyp A) som har späts ut i HBV-negativ mänsklig EDTA-plasma och -serum. Minst 36 replikat av varje utspädning analyserades med var och en av tre reagensbatcher för minst 108 replikat per utspädning. En probit-analys utfördes i syfte att generera de förväntade detekteringsgränserna på 95 %. LoD-värdena utgör resultaten från reagensbatchen med den översta förväntade detekteringsgränsen. LoD för Aptima HBV Quant Assay med användning av WHO:s tredje internationella standard är 4,8 IE/mL för plasma och 5,9 IE/mL för serum.

Detekteringsgräns för HBV-genotyper

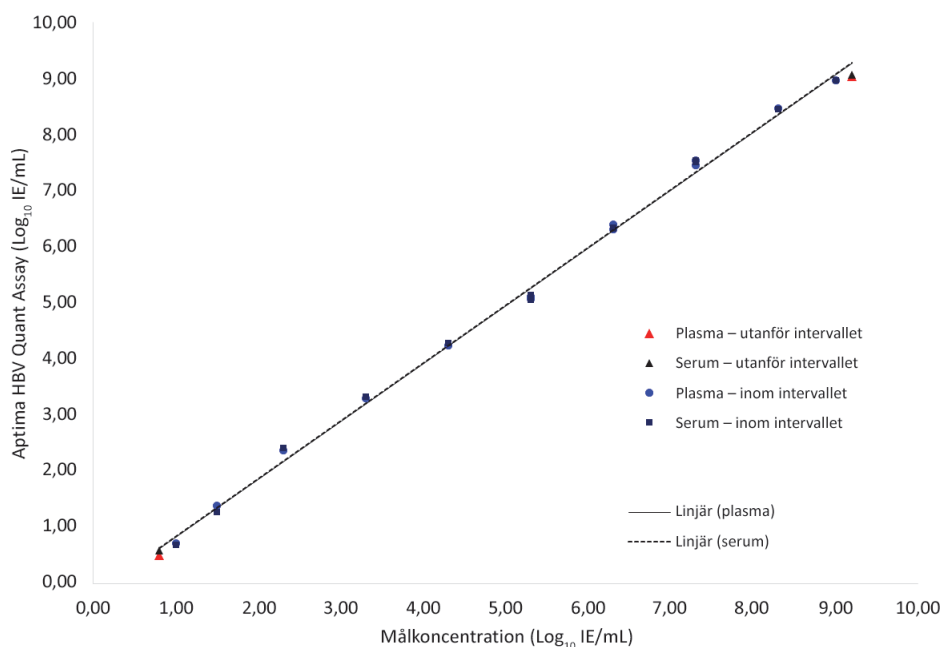
LoD fastställdes genom analys av utspädningar av HBV-positiva kliniska prover för genotyperna A, B, C, D, E, F, G och H i HBV-negativ human plasma och serum. Koncentrationerna fastställdes med hjälp av en godkänd assay. Minst 24 replikat av varje panelmedlem analyserades med två reagensbatcher var för sig, för minst 48 replikat per panelmedlem. En probit-analys utfördes i syfte att generera de förväntade detekteringsgränserna på 95 %. LoD-värdena som visas i Tabell 3 utgör resultaten från reagensbatchen med den översta förväntade detekteringsgränsen.

Tabell 3: Detekteringsgräns (95 % förväntad detekteringsgräns) för HBV-genotyper med användning av kliniska prover

Genotyp	Koncentration (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

Linjärt intervall

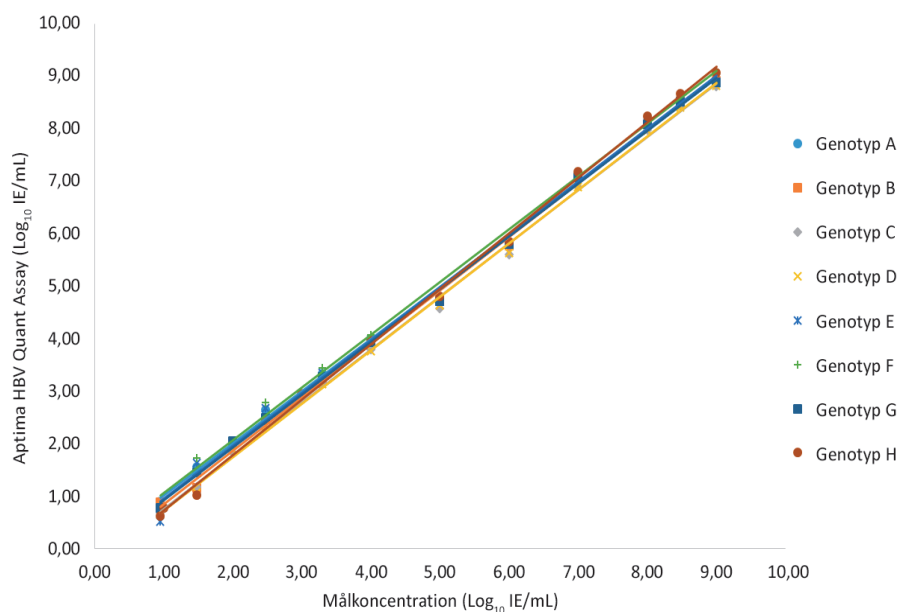
Det linjära intervallet fastställdes genom att analysera paneler med HBV genotyp A-virus ($0,78 \log_{10}$ IE/mL till $7,30 \log_{10}$ IE/mL) och plasmid-DNA ($5,30 \log_{10}$ IE/mL till $9,18 \log_{10}$ IE/mL) som har späts ut i HBV-negativ human plasma och serum enligt CLSI EP06-A.¹² Aptima HBV Quant Assay uppvisade linjäritet i hela analysintervallet, med en övre kvantifieringsgräns (ULoQ) på $9 \log_{10}$ IU/ml enligt Figur 6.



Figur 6. Linjäritet i plasma och serum

Linjäritet för HBV-genotyper

Linjäriteten hos HBV-genotyper fastställdes genom att analysera enskilda kliniska positiva prover för genotyp A, E, F, G och H och referenspaneler för PEI WHO:s första internationella standard (PEI 5086/08) för genotyp B, C och D. användes för assayens nedre intervall ($4 \log_{10}$ IE/mL och lägre för genotyp A-G, $3 \log_{10}$ IE/mL och lägre för genotyp H). Plasmid-DNA användes för det övre intervallet med en överlappning på $2 \log_{10}$. Utspädningar i negativ human plasma har testats för alla genotyper. Linjäritet påvisades i det analyserade intervallet för alla analyserade genotyper, såsom visas i Figur 7.



Figur 7. Linjärt intervall och linjäritet (plasma)

Nedre kvantifieringsgräns enligt WHO:s tredje internationella standard

Nedre kvantifieringsgränsen definieras som den lägsta koncentration vid vilken HBV DNA är tillförlitligt kvantifierat inom en felmarginal, enligt CLSI EP17-A2.¹¹ Felmarginalen uppskattades med följande två metoder:

Analytisk felmarginal (Total Analytical Error, TAE) = $|\text{bias}| + 2\text{SD}$, och felmarginal (Total Error, TE) = $\text{SQRT}(2) \times 2\text{SD}$.

För att garantera mätningarnas noggrannhet och precision bestämdes felmarginalen för Aptima HBV Quant Assay till $1 \log_{10}$ IE/mL (det vill säga att vid den nedre kvantifieringsgränsen är skillnaden mellan två mätningar av mer än $1 \log_{10}$ IE/mL statistiskt signifikant).

Den nedre kvantifieringsgränsen fastställdes genom analys av paneler utifrån WHO:s tredje internationella standard för hepatit B-virus DNA (NIBSC 10/264, genotyp A) som har späts ut i HBV-negativ human plasma och -serum. Fyrtiofem (45) replikat av varje utspädning analyserades med var och en av de tre reagensbatcherna för totalt 135 replikat per utspädning. Resultaten för de tre reagensbatcherna visas i Tabell 4 för plasma och Tabell 5 för serum. Resultaten för den lägsta observerade koncentration som uppfyllde noggrannhetsmålet ($\text{TE} \leq 1 \log_{10}$ IE/mL och $\text{TE} \leq 1 \log_{10}$ IE/mL) med $> 95\%$ detektering och större än eller lika med LoD är nedtonade i båda tabellerna och sammanfattas i Tabell 6.

Beräknad LLoQ för WHO:s tredje internationella standard för hepatit B-virus är 6 IE/mL ($0,79 \log_{10}$ IE/mL) för plasma och 8 IE/mL ($0,88 \log_{10}$ IE/mL) för serum, vilka baseras på den högsta beräknade koncentrationen av de tre reagensbatcherna i enlighet med CLSI EP17-A2. LLoQ fastställdes i genotyper (se *Nedre beräkningsgräns för HBV-genotyper*).

Dessa genotypdata bestämmer den övergripande nedre kvantifieringsgränsen (LLoQ) för assayen till 10 IE/mL.

Tabell 4: Bestämning av LLoQ vid användning av WHO:s tredje internationella standard för HBV utspädd i plasma

Reagensbatch	Aptima HBV Quant (IE/mL)	Aptima HBV Quant ($\log_{10}$ IE/mL)	SD ($\log_{10}$ IE/mL)	Bias ($\log_{10}$ IE/mL)	Beräknat TE ($\log_{10}$ IE/mL)	Beräknat 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 = standardavvikelse.

Panelmedlemmar som uppfyllde målet för noggrannhet ($TE \leq 1$ och $TAE \leq 1$), > LoD och > 95 % detektering för reagensbatcher 1, 2 och 3 har skuggats.

Tabell 5: Bestämning av LLoQ vid användning av WHO:s tredje internationella standard för HBV utspädd i serum

Reagensbatch	Aptima HBV Quant (IE/mL)	Aptima HBV Quant ($\log_{10}$ IE/mL)	SD ($\log_{10}$ IE/mL)	Bias ($\log_{10}$ IE/mL)	Beräknat TE ($\log_{10}$ IE/mL)	Beräknat 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 = standardavvikelse.

Panelmedlemmar som uppfyllde målet för noggrannhet ($TE \leq 1$ och $TAE \leq 1$), > LoD och > 95 % detektering för reagensbatcher 1, 2 och 3 har skuggats.

Tabell 6: Sammanfattning av beräknad LLoQ vid användning av WHO:s tredje internationella standard för HBV

Reagensbatch	Nedre kvantifieringsgräns för plasma		Nedre kvantifieringsgräns för serum	
	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

Nedre beräkningsgräns för HBV-genotyper

Den nedre kvantifieringsgränsen fastställdes genom analys av utspädningar av HBV-positiva kliniska prover för genotyperna A, B, C, D, E, F, G och H i HBV-negativ human plasma och serum. Tilldelning av koncentration för kliniska prover fastställdes med hjälp av en jämförelseassay. Totalt 36 replikat av varje panelmedlem analyserades med två reagensbatcher var för sig, Totalt 72 replikat per panelmedlem. Resultaten för den lägsta observerade koncentration som uppfyllde noggrannhetsmålet ($TE \leq 1 \log_{10} \text{ IE/mL}$ och $TE \leq 1 \log_{10} \text{ IE/mL}$) med $> 95 \%$ detektering för varje reagensbatch visas i Tabell 7 för plasma och Tabell 8 för serum. Den högsta observerade koncentrationen bland reagensbatcherna för varje genotyp sammanfattas i Tabell 9. Genotyp D i serum hade den högsta nedre kvantifieringsgränsen, 9 IE/mL ($0,96 \log_{10} \text{ IE/mL}$). Detta stödde den övergripande nedre kvantifieringsgränsen för assayen som 10 IE/mL.

Tabell 7: Bestämning av nedre kvantifieringsgräns i HBV-genotyper i plasma

HBV-genotyp	Reagens-batch	Aptima HBV Quant ^a (IE/mL)	Aptima HBV Quant ^a ($\log_{10} \text{ IE/mL}$)	SD ($\log_{10} \text{ IE/mL}$)	Bias ($\log_{10} \text{ IE/mL}$)	Beräknat TE ($\log_{10} \text{ IE/mL}$)	Beräknat TAE ($\log_{10} \text{ IE/mL}$)
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 = standardavvikelse.

^a Ytterligare nivåer kördes, men dessa data visas inte i tabellen.

Tabell 8: Bestämning av nedre kvantifieringsgräns i HBV-genotyper i serum

HBV-genotyp	Reagens- batch	Aptima HBV Quant ^a (IE/mL)	Aptima HBV Quant ^a (Log ₁₀ IE/mL)	SD (Log ₁₀ IE/mL)	Bias (Log ₁₀ IE/mL)	Beräknat TE (Log ₁₀ IE/mL)	Beräknat TAE (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 = standardavvikelse.

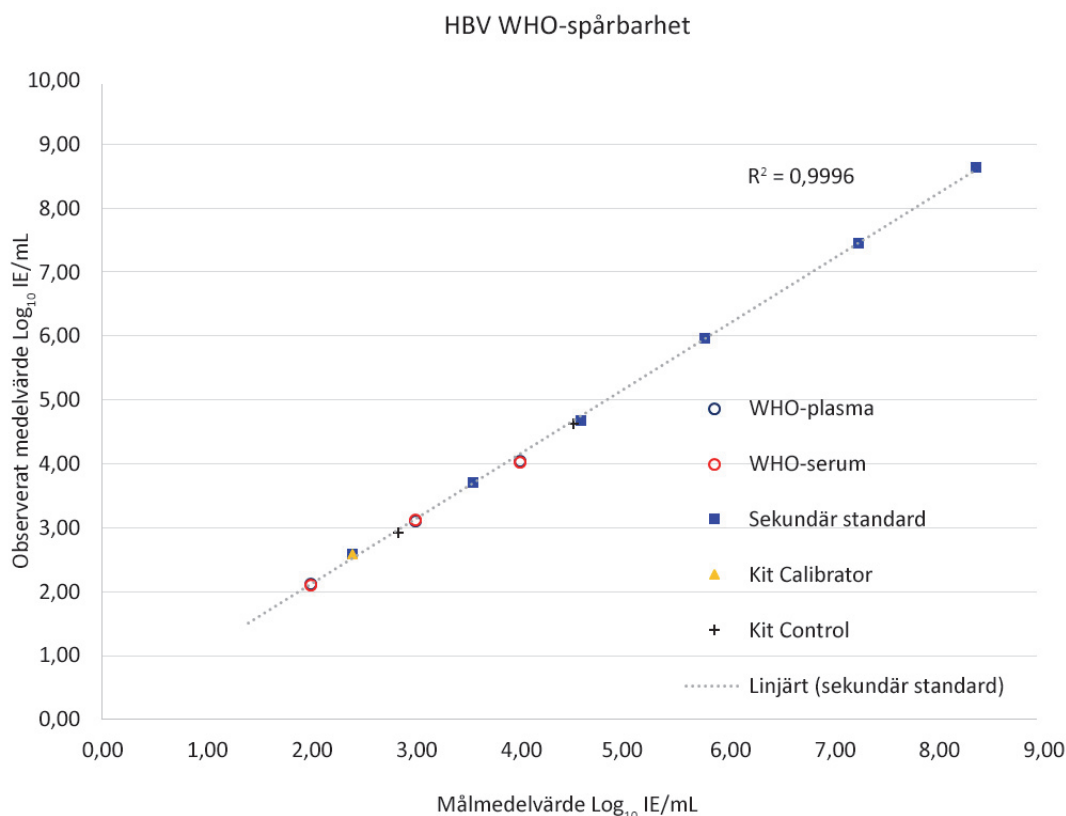
^a Ytterligare nivåer kördes, men dessa data visas inte i tabellen.

Tabell 9: Sammanfattning av LLoQ i genotyper i plasma och serum

Genotyp	Nedre kvantifieringsgräns för plasma		Nedre kvantifieringsgräns för serum	
	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

Spårbarhet till WHO:s tredje internationella standard

En serie sekundära standarder med kända koncentrationer användes genomgående i produktutvecklingen och produkttillverkningen för att etablera spårbarhet till WHO-standard. Koncentrationerna som analyserades för HBV WHO-standard var mellan 2,0 och 4,0 log₁₀ IE/mL, koncentrationen för de sekundära standarderna varierade från 2,4 till 8,4 log₁₀ IE/mL. Kontroller och kalibratorer för Aptima HBV Quant Assay analyserades också tillsammans med de sekundära standarderna och WHO-standard. Alla paneler hade liknande resultat, och de fördelades linjärt över assayens linjära intervall, vilket presenteras i Figur 8.



Figur 8. Spårbarhet mellan WHO:s tredje HBV-standard för målkoncentrationer och observerad koncentration från Aptima HBV Quant Assay

Precision

Precisionspanelen för Aptima HBV Quant Assay byggdes upp genom utspädning av HBV-genotyp A-virus och HBV-plasmid-DNA i HBV-negativ klinisk plasma och HBV-negativt kliniskt serum (de fyra högsta panelmedlemmarna i varje matris var plasmid-DNA). Elva panelmedlemmar i varje matris täckte assayens intervall (målkoncentrationer på 1,30 log₁₀ IE/mL till 8,90 log₁₀ IE/mL) och analyserades i tre replikat per körning av en operatör, med tre reagensbatcher på ett Panther-system under tre dagar, två körningar per dag.

Tabell 10 visar assayresultatens precision (i SD log₁₀ IE/mL) mellan dagar, mellan satser, mellan körningar, inom körningar och totalt. Den totala variabiliteten berodde främst på mätningen inom körningen (det vill säga slumpfel).

Tabell 10: Precision för Aptima HBV Quant Assay

Matris	Prov	N	Medelkon- centration	Medelkon- centration	Mellan batcher	Mellan batcher	Mellan dagar	Mellan dagar	Mellan körningar	Mellan körningar	Inom körning	Inom körning	Totalt	Totalt
			(IE/mL)	(log ₁₀ IE/mL)	SD	Log-normal CV (%)	SD	Log-normal CV (%)	SD	Log-normal CV (%)	SD	Log-normal CV (%)	SD	Log-normal 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
	Plasmid-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
	Plasmid-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
	Plasmid-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
	Plasmid-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
	Plasmid-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
	Plasmid-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 = standardavvikelse.

^a Detekterade replikat med kvantifierade resultat, totalt antal detekterade replikat = 54.^b Ett replikat hade ett ogiltigt resultat.Log-normal CV (%) = $\sqrt{10^{(SD^2 * \ln(10)) - 1}} * 100$

Potentielt interfererande ämnen

Känsligheten hos Aptima HBV Quant Assay för interferens från förhöjda nivåer av endogena substanser och läkemedel som ofta ordineras till personer som är infekterade med HBV utvärderades. HBV-negativa plasmaprover och prover med HBV-tillsats till koncentration på cirka 30 IE/mL ($1,48 \log_{10}$ IE/mL) och 20 000 IE/mL ($4,30 \log_{10}$ IE/mL) analyserades.

Ingen interferens observerades gällande resultaten för assayen i närvaro av albumin (90 mg/mL), hemoglobin (5 mg/mL), triglycerider (30 mg/mL) eller okonjugerat bilirubin (0,2 mg/mL).

Kliniska plasmaprover från patienter med förhöjda nivåer av definierade substanser eller från patienter med de sjukdomar, tio prover för varje substans, som anges i Tabell 11 analyserades med Aptima HBV Quant Assay. Ingen interferens observerades gällande assayens resultat.

Tabell 11: Typer av kliniska prover som analyserats

Kliniska provtyper	
1	Antinukleär antikropp (ANA)
2	Reumatoid faktor (RF)
3	Alkoholcirros (AC)
4	Alkoholbetingad hepatit
5	Icke-alkoholbetingad hepatit
6	Autoimmun hepatit
7	Förhöjd alaninaminotransferas (ALT)
8	Hepatocellulärt karcinom (HCC)
9	Multipel skleros (MS)
10	Systemisk lupus erythematosus (SLE)
11	Hyperglobulinemi
12	Ledgångsreumatism (RA)
13	Anti-Jo-1-antikropp (JO-1)
14	Multipelt myelom (MM)
15	Hemolyserade (förhöjda hemoglobinnivåer)
16	Ikteriska (förhöjda bilirubinnivåer)
17	Lipemiska (förhöjda lipidnivåer)
18	Förhöjt protein

Ingen interferens observerades gällande assayens resultat i närvaro av de exogena substanser som anges i Tabell 12 vid koncentrationer på minst tre gånger $c_{\max}$ (human plasma).

Tabell 12: Exogena substanser

Exogen substanspoolning		Analyserade exogena substanser
1		Sakvinavir, ritonavir, amprenavir, indinavir, lopinavir, nelfinavirmesylat
2		Clarithromycin, valganciklovirhydroklorid, efavirenz, nevirapin
3		Paroxetin HCl, enfuvirtid, zidovudin, didanosin, abakavirsulfat
4		Ribavirin, entekavir, adefovirdipivoxil, tenofoviridisoproxilfumarat, lamivudin, ganciklovir, acyklovir
5		Stavudin, ciprofloxacin, fluoxetin, azitromycin, valacyklovir, sertralin, zalcitabin
6		Alfa-interferon-2a, alfa-interferon-2b, pegylerad alfa-interferon-2b

Analytisk specificitet

Potentiell överkorsningsreaktivitet för patogenerna i Tabell 13 utvärderades för HBV-negativ plasma från människa i närvaro eller frånvaro av 30 IE/mL ($1,5 \log_{10}$ IE/mL) och 20 000 ($4,3 \log_{10}$ IE/mL) HBV DNA. Ingen överkorsningsreaktivitet observerades. Ingen interferens observerades i närvaro av patogenerna.

Tabell 13: Patogener som har testats för analytisk specificitet

Mikroorganism/patogen	Koncentration		Mikroorganism/patogen	Koncentration	
Adenovirus 5	100 000	TCID ₅₀ /mL ^a	<i>Candida albicans</i>	1 000 000	CFU/mL ^e
BK mänskligt polyomavirus	1 000	TCID ₅₀ /mL	<i>Chlamydia trachomatis</i>	1 000 000	IFU/mL ^f
Cytomegalovirus	100 000	TCID ₅₀ /mL	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	1 000 000	CFU/mL
Denguevirus 1	10 000	TCID ₅₀ /mL	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1 000 000	CFU/mL
Denguevirus 2	10 000	TCID ₅₀ /mL	<i>Propionibacterium acnes</i>	1 000 000	CFU/mL
Denguevirus 3	10 000	TCID ₅₀ /mL	<i>Staphylococcus aureus</i>	1 000 000	CFU/mL
Denguevirus 4	100 000	TCID ₅₀ /mL	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1 000 000	CFU/mL
Epstein-Barrvirus	100 000	kopior/mL	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1 000 000	CFU/mL
Influensa H1N1	100 000	TCID ₅₀ /mL	<i>Trichomonas vaginalis</i>	1 000 000	CFU/mL
Hepatit A-virus	100 000	TCID ₅₀ /mL	^a TCID ₅₀ /mL = Infektiös dos i vävnadskultur, enheter per mL		
Hepatit C-virus	100 000	IE/mL ^b	^b IE/mL = Internationella enheter per mL		
Hepatit G-virus	100 000	kopior/mL	^c vp/mL = Viruspartiklar per mL		
Humant herpesvirus 6B	100 000	kopior/mL	^d LD ₅₀ /mL = Dödlig dos per mL		
Humant herpesvirus 8	100 000	kopior/mL	^e CFU/mL = Kolonibildande enheter per mL		
HIV-1	100 000	IE/mL	^f IFU/mL = Inklusionsbildande enheter per mL		
HIV-2	10 000	TCID ₅₀ /mL			
Humant papillomvirus	100 000	kopior/mL			
Herpes simplex-virus 1 (HSV-1)	100 000	TCID ₅₀ /mL			
Herpes simplex-virus 2 (HSV-2)	100 000	TCID ₅₀ /mL			
Humant lymfotropiskt T-cellsvirus 1 (HTLV-1)	100 000	vp/mL ^c			
Humant lymfotropiskt T-cellsvirus 2 (HTLV-2)	100 000	vp/mL			
Japanskt encefalitvirus	Ej tillämpligt	Ej tillämpligt			
Murray Valley-encefalitvirus	2 000	LD ₅₀ /mL ^d			
Parvovirus B19	100 000	IE/mL			
Rubellavirus	10 000	TCID ₅₀ /mL			
St. Louis-encefalitvirus	100 000	TCID ₅₀ /mL			
Vacciniavirus	1 000	TCID ₅₀ /mL			
West Nile-virus	100 000	TCID ₅₀ /mL			
Gula febern-virus	100 000	TCID ₅₀ /mL			

Matrisekvivalens

118 provuppsättningar av matchade blodprovtagningsrör (serumslang, ACD, K2 EDTA, K3 EDTA, PPT, SST) bedömdes med avseende på matrisekvivalens. Av dessa var 44 uppsättningar naturligt infekterade HBV-positiva och 74 uppsättningar HBV-negativa som spetsats med HBV-virus. Korrelationen för varje typ av blodprovtagningsrör, mätt med serumprovtagningsröret som jämförelse, visas i Tabell 14.

Tabell 14: Matrisekvivalensstudie

Blodprovtagning Rör	Deming- regression	95 % CI på lutning		95 % CI på Intercept		R ²	Medelvär- desskillnad (Log ₁₀)
		Nedre Begränsning	Övre Begränsning	Nedre Begränsning	Övre Begränsning		
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

CI = konfidensintervall

Provutspädning med Aptima spädningsmedel för provmaterial (1:3)

För att bedöma detekteringsnoggrannheten för HBV DNA i prover som späts ut med Aptima Specimen Diluent för prover späddes prover som låg inom det linjära området 1:3 ut med Aptima Specimen Diluent (till exempel 240 µL prov kombinerat med 480 µL Aptima Specimen Diluent). Varje prov analyserades både rent och utspädd (1:3) i tre replikat. Analyserna utfördes med en batch assayreagens på två Panther-system med två batcher Aptima Specimen Diluent. Skillnaderna mellan den genomsnittliga rapporterade koncentrationen i inbyggd matris (utspädningsfaktor applicerad på det utspädda provresultatet) och genomsnittlig koncentration i Aptima Specimen Diluent visas i Tabell 15 för plasma och Tabell 16 för serum. Provkoncentrationerna återvanns korrekt i de utspädda proverna.

Tabell 15: Plasmaprover 1:3 utspädningsmatris – sammanfattning av jämförelse

Plasmamatrix Genomsnittlig rapporterad koncentration (Log ₁₀ IE/mL) n = 9	Spädningsmedel Genomsnittlig rapporterad koncentration (Log ₁₀ IE/mL) n = 18	Skillnad Spädningsmedel från plasmamatrix (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

Tabell 16: Serumprovbehandling 1:3 utspädningsmatris – sammanfattning av jämförelse

Serummatrix Genomsnittlig rapporterad koncentration (Log ₁₀ IE/mL) n = 9	Spädningsmedel Genomsnittlig rapporterad koncentration (Log ₁₀ IE/mL) n = 18	Skillnad Spädningsmedel från 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

Provutspädning med Aptima spädningsmedel för provmaterial (1:100)

För att bedöma detekteringsnoggrannheten för HBV DNA i prover som späts ut med Aptima Specimen Diluent, plasma eller serum, analyserades åtta enskilda plasmaprover och åtta enskilda serumprover som var spetsade med HBV-virus med en inriktning på mellan 6 och 8 log₁₀ IE/mL, tillsammans med åtta enskilda plasmaprover och åtta enskilda serumprover som var spetsade med HBV-plasmid-DNA med en inriktning på 9,16 log₁₀ IE/mL, i fem replikat. En utspädning på 1:100 utfördes med en del prov och 99 delar Aptima Specimen Diluent strax före analysen. Analyserna utfördes med en batch assayreagens på två Panther-system med två batcher Aptima Specimen Diluent. Skillnaden mellan den genomsnittliga rapporterade koncentrationen i inbyggd matris (spädningsfaktor applicerad på

det utspädda provresultatet) och genomsnittlig koncentration i Aptima Specimen Diluent beräknades för varje provuppsättning enligt vad som visas i Tabell 17 för plasma och Tabell 18 för serum.

Tabell 17: Plasmaprover 1:100 utspädningsmatris – sammanfattning av jämförelse

Plasmamatrix Genomsnittlig rapporterad koncentration (Log ₁₀ IE/mL) n = 5	Spädningsmedel Genomsnittlig rapporterad koncentration (Log ₁₀ IE/mL) n = 10	Skillnad Spädningsmedel från plasmamatrix (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 Spetsad med plasmid-DNA

Tabell 18: Serumprovbehandling 1:100 utspädningsmatris – sammanfattning av jämförelse

Serummatrix Genomsnittlig rapporterad koncentration (Log ₁₀ IE/mL) n = 5	Spädningsmedel Genomsnittlig rapporterad koncentration (Log ₁₀ IE/mL) n = 10	Skillnad Spädningsmedel från 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 Spetsad med plasmid-DNA

Bekräftelse av LLoQ i prover som späts ut med Aptima Specimen Diluent

LLoQ för Aptima HBV Quant Assay bekräftades med kliniska prover av HBV genotyp A utspädda i Aptima Specimen Diluent. Proverna preparerades i HBV-negativ human plasma och serum vid 21, 30 och 45 IE/mL. Varje panel späddes 1:3 i Aptima Specimen Diluent strax före analysen för att ge slutliga koncentrationer på cirka 7, 10 och 15 IE/mL. Sammanlagt 36 replikat på varje panelmedlem analyserades med en reagensbatch i tre dagar. Nedre kvantifieringsgräns ≤ 10 IE/mL för HBV plasma och serum utspädd i Aptima Specimen Diluent bekräftades enligt Tabell 19.

Tabell 19: Bekräftelse av LLoQ - Prover i Aptima Specimen Diluent

Matris	% detekterat	Aptima HBV Quant (IE/mL)	Aptima HBV Quant (Log ₁₀ IE/mL)	SD (Log ₁₀ IE/mL)	Bias (Log ₁₀ IE/mL)	Beräknat TE (Log ₁₀ IE/mL)	Beräknat 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

Precision för utspädda prover

Precisionspanelen för Aptima HBV Quant byggdes upp genom utspädning av HBV-positiv plasma och HBV-plasmid-DNA i HBV-negativ klinisk plasma och serum. Positiva paneler späddes ut i Aptima Specimen Diluent. Dessa analyserades i fem replikat per körning av en operatör som använde tre batcher Aptima Specimen Diluent på ett Panther-system under tre analysdagar, två körningar per dag.

Tabell 20 visar assayresultatens precision (i SD log₁₀ IE/mL) för tre batcher av Aptima Specimen Diluent. Den totala variabiliteten var $\leq 0,15$ SD för alla panelmedlemmar och batcher av spädningsmedel.

Tabell 20: Precision hos paneler utspädda i Aptima spädningsmedel för provmaterial

Matris	Målkon- centration (Log ₁₀ IE/mL)	Utspäd- ning	Batch 1 provspädningsmedel (n = 10)		Batch 2 provspädningsmedel (n = 10)		Batch 3 provspädningsmedel (n = 10)		Kombinerade batcher (n = 30)	
			Genomsnittlig Log ₁₀ IE/mL	SD	Genomsnittlig Log ₁₀ IE/mL	SD	Genomsnittlig Log ₁₀ IE/mL	SD	Genomsnittlig Log ₁₀ IE/mL	SD
Plasma	3,30	Ren	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	Ren	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	Ren	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	Ren	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	Ren	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	Ren	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 = standardavvikelse

^a 1 replikat uteslöts (över det beräkningsbara intervallet).

^b 2 replikat uteslöts (över det beräkningsbara intervallet).

Överföring

För att fastställa att programvaran i Panther-systemet minimerar risken för falska positiva resultat på grund av kontamination genom överföring genomfördes en studie med paneler med tillsatser på tre Panther-system. Överföring bedömdes med användning av plasmaprover med tillsats av HBV DNA med höga titrer ($8 \log_{10}$ IE/mL) spridda mellan HBV-negativa prover i ett schackrutigt mönster. Analyserna gjordes över fem körningar. Den övergripande överföringen var 0,14 % (1/705).

Reproducerbarhet

Reproducerbarheten utvärderades på Panther System på tre externa platser i USA. Två operatörer utförde analys på respektive plats. Varje operatör utförde två körningar per dag i tre dagar, med tre reagensbatcher under analysens gång. Varje körning hade tre replikat av varje paneldeltagare. Totalt analyserades 108 replikat av varje panelmedlem.

Reproducerbarheten analyserades med användning av panelmedlemmar som preparerats med HBV-negativ plasma. De positiva panelmedlemmarna var positiva för HBV-genotyp A eller C. Koncentrationerna av HBV DNA låg inom assayens linjära intervall.

Tabell 21 visar reproducerbarheten och precisionen hos assayresultaten för varje positiv panelmedlem mellan platser, mellan operatörer/dagar, mellan batcher, mellan körningar, inom körningar samt totalt.

Variationskoefficienten beräknades med hjälp av följande ekvation där σ^2 är variansen i provet för data efter $\log_{10}$ -transformation.

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

För alla HBV-positiva panelmedlemmar var överensstämmelsevärdena 100 %.

Tabell 21: Reproducerbarhet hos HBV DNA-nivåer hos i Aptima HBV Quant Assay på Panther System för positiva panelmedlemmar

GT	N	Observerat medelvärde		Procent bidrag till total varians SD (%CV)					Total Varians SD (%CV)
		IE/mL	Log ₁₀ IE/mL	Mellan platser	Mellan operatörer/ dagar ^a	Mellan batcher	Mellan analyser	Inom analyser	
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	188 172,1	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	9 389 094,1	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	86 664 677,2	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	753 726 183,2	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	217 400,5	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	12 087 179,5	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	57 743 712,8	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	572 184 754,9	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-normal variationskoefficient, GT = genotyp, SD = standardavvikelse

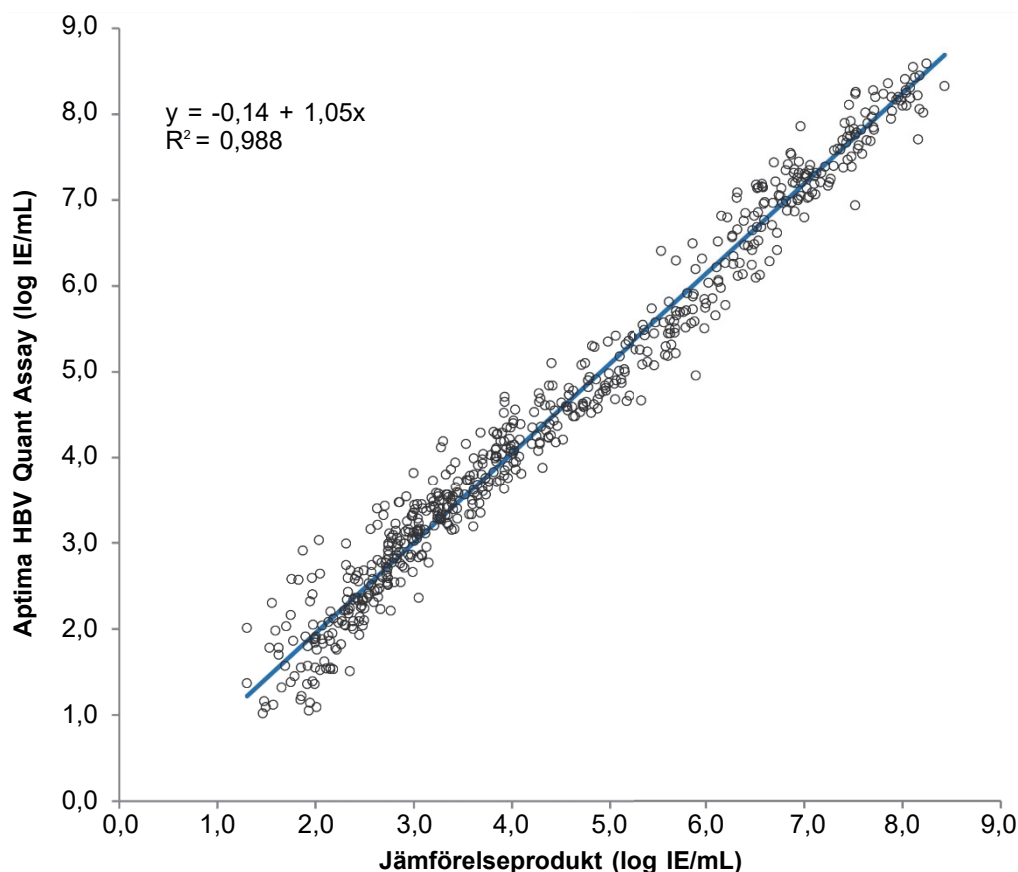
OBS! Variabiliteten från vissa faktorer kan vara numeriskt negativ. Detta kan ske om variabiliteten är mycket liten på grund av dessa faktorer. I dessa fall visas SD och CV som 0.

^a Uppskattningsarna mellan operatörer kan förväxlas med mellan dagar; därför kombineras uppskattningsarna mellan operatörer och mellan dagar i Mellan operatörer/dagar.

Kliniska prestanda

Metodkorrelation

Resultaten för Aptima HBV Quant Assay bedömdes mot en CE-märkt Health Canada-licensierad jämförelseassay genom analys av outspädda kliniska prover från HBV-infekterade patienter. Sammanlagt 614 kliniska prover inom det linjära intervall som är gemensamt för båda assayerna användes för linjär regression enligt Figur 9.



Figur 9. Korrelation mellan Aptima HBV Quant Assay och den jämförande assayen

Klinisk nytta

Studien var utformad för att bedöma Aptima HBV Quant Assays förmåga att förutsäga virologiska, biokemiska och serologiska kliniska effektmått 48 veckor efter påbörjad behandling. Prover samlades prospektivt in från personer med kronisk HBV-infektion som inledde monoterapi med entekavir eller tenofovir som en del av sin standardbehandling.

Av de 331 forskningspersoner som deltog i studien var 86 forskningspersoner inte utvärderbara på grund av att de lämnade studien, avbröt studien, behandlingen stoppades i förtid, inte hade resultat från vecka 48 eller på grund av att HBV DNA-viral belastning saknades eller var låg. De återstående 245 forskningspersonerna var utvärderbara för minst ett av de kliniska effektmåtten och omfattade 126 HBeAg(+) och 119 HBeAg(-) forskningspersoner. Tabell 22 visar de demografiska och kliniska egenskaperna hos utvärderbara forskningspersoner vid baslinjen. Den demografiska fördelningen av forskningspersonerna i denna studie överensstämde med den för patienter med kronisk HBV i USA.¹³ Data från forskningspersoner med HBeAg(+) och HBeAg(-) analyserades separat.

Tabell 22: Demografiska och kliniska egenskaper hos utvärderbara forskningspersoner vid baslinjen

Egenskaper		Totalt
Totalt, N	N	245
Entekavir	n (%)	94 (38,4)
Tenofovir	n (%)	151 (61,6)
Kön, n (%)	Man	154 (62,9)
	Kvinna	91 (37,1)
Ålder (år)	Medelvärde ± SD	43,5 ± 13,63
	Median	44,0
	Intervall	18–83
Ålderskategori (år), n (%)	18–29	40 (16,3)
	30–49, n (%)	120 (49,0)
	50–70, n (%)	80 (32,7)
	> 70, n (%)	5 (2,0)
Etniskt ursprung, n (%)	Latinamerikansk	7 (2,9)
	Ej latinamerikansk eller latino	236 (96,3)
	Okänt/avböjde	2 (0,8)
Rastillhörighet ^a , n (%)	Vit	89 (36,3)
	Svart eller afroamerikansk	16 (6,5)
	Asiatisk	132 (53,9)
	Nordamerikansk indian/ urinivånare i Alaska	0 (0,0)
	Infödd Hawaiian/urinivånare på Stillahavsöarna	6 (2,4)
	Annat	1 (0,4)
	Okänt/avböjde	1 (0,4)
Genotyp, 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)
	Okänd	65 (26,5)
HBV-behandlingsstatus, n (%)	Erfaren	27 (11,0)
	Ingen tidigare behandling	218 (89,0)
Tidigare läkemedelsbehandling, n (%)	Tenofovir	5 (18,5)
	Entekavir	4 (14,8)
	Adefovir	2 (7,4)
	Lamivudin	1 (3,7)
	Telbivudin	0 (0,0)
	Interferon	10 (37,0)
	Annan ^b	5 (18,5)
Tidigare behandlingsresultat, n (%)	Fel	1 (3,7)
	Klart	0 (0,0)
	Upphörde av andra skäl	26 (96,3)
HBsAg serostatus, n (%)	Positiv/reaktiv	210 (85,7)
	Ej utförd	35 (14,3)

Tabell 22: Demografiska och kliniska egenskaper hos utvärderbara forskningspersoner vid baslinjen (forts.)

Egenskaper		Totalt
Cirrotisk status, n (%)	Cirrotisk	26 (10,6)
	Ikke-cirrotisk	201 (82,0)
	Ej utförd	18 (7,3)
HBV viralbelastning (log ₁₀ IE/mL)	Medelvärde ± SD	6,3 ± 1,93
	Median	6,4
	Intervall	3–9
ALT (U/L)	Medelvärde ± SD	102,4 ± 175,97
	Nummer över ULN ^c	177 (85,9)

^a Forskningspersoner kan rapportera flera rastillhörigheter.

^b Olika kombinationer av de specifika läkemedel som anges.

^c Den övre gränsen för det normala intervallet (ULN) för alaninaminotransferas (ALT) var 30 U/L för män och 19 U/L för kvinnor.

Prediktion av svaret på antiviral behandling

Den kliniska nyttan hos Aptima HBV Quant Assay har bedömts för personer som behandlas med tenofovir och entekavir. Det finns ingen information om assayens kliniska nytta när andra antivirala HBV-behandlingar används.

Definitioner:

Tidiga virologiska utfall

Virologiskt svar vecka 12 och vecka 24 = HBV DNA < 10 IE/mL (< nedre kvantifieringsgräns) enligt bedömning med Aptima HBV Quant Assay på Panther-systemet

Alternativ virologisk respons Vecka 12 = HBV DNA ≥ 2 log₁₀ minskning från baslinjen

Alternativt virologiskt svar vecka 24 = HBV DNA < 2 000 IE/mL (för HBeAg+) eller < 50 IE/mL (för HBeAg-)

Kliniska effektmått

Virologiskt svar vecka 48 = HBV DNA < 10 IE/mL (< LLoQ) enligt bedömning med en godkänd HBV-assay för beräkning

Alternativt virologiskt svar vecka 48 = HBV DNA < 50 IE/mL enligt bedömning med en godkänd HBV-assay för mätning

Biokemiskt svar = Normalisering av ALT-analysresultaten vid vecka 48 (ALT < 30 U/L för män och < 19 U/L för kvinnor)

Serologiskt svar = förlust av HBeAg (HBeAg-negativa resultat) vid vecka 48

Mätningar av samband och prediktivt värde

Positivt prediktivt värde (PPV) = sant positivt/(sant positivt + falskt positivt) eller sannolikheten för svar vid vecka 48 (för den kliniska effekt som bedöms) hos forskningspersoner med virologiskt svar vid den tidiga tidpunkten.

Negativt prediktivt värde (NPV) = sant negativt/(falskt negativt + sant negativt) eller sannolikheten för icke-svar vid vecka 48 (för det kliniska effektmått som bedöms) hos forskningspersoner med virologiskt icke-svar vid den tidiga tidpunkten.

Oddsförhållande (OR) = (sant positivt × sant negativt)/(falskt positivt × falskt negativt)

Förutsägelse av virologiskt svar vecka 48, definierat som HBV DNA < 10 IE/mL

I den här studien var den primära definitionen av virologiskt svar HBV DNA < 10 IE/mL, och denna definition användes både för tidigt virologiskt svar vid vecka 12 och 24 och virologiskt svar vid vecka 48. Sambandet mellan tidiga virologiska svar vid vecka 12 och 24 och kliniska effektmått vid vecka 48 (virologiskt svar, biokemiskt svar, serologiskt svar) bedömdes.

Förutsägelse av virologiskt svar vid vecka 48

Sambanden mellan virologiskt svar vid vecka 48 och virologiskt svar vid vecka 12 och vecka 24 sammanfattas i Tabell 23.

Tidiga virologiska svar vid vecka 12 och 24, som prediktorer för virologiskt svar vid vecka 48, varierade beroende på vecka och behandling.

Tabell 23: PPV, NPV och oddsförhållande för virologiskt svar som förutsägs av tidigt virologiskt svar under behandlingen: Virologiskt svar vecka 48 definierat som < 10 IE/mL

HBeAg-status	Vecka för tidigt virologiskt svar	Behandling	PPV (%)		NPV (%)		ELLER
			Uppskattning (95 % KI)	n/N	Uppskattning (95 % KI)	n/N	Uppskattning (95 % CI) ^{a,b}
HBeAg(+)	12	Entekavir	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)
		Alla	66,7 (15,4; 98,2)	2/3	77,0 (75,7; 79,9)	94/122	6,71 (0,62; 147,55)
	24	Entekavir	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)
		Alla	70,0 (50,3; 88,1)	14/20	85,4 (81,3; 90,1)	88/103	13,69 (4,74; 44,16)
HBeAg(-)	12	Entekavir	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)
		Alla	89,1 (82,1; 94,7)	57/64	38,0 (29,0; 47,1)	19/50	4,99 (1,96; 14,00)
	24	Entekavir	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)
		Alla	87,6 (82,7; 92,6)	78/89	62,5 (44,8; 78,0)	15/24	11,82 (4,30; 34,94)

CI = 95 % profil-visshet konfidensintervall

^a Skuggning anger statistisk signifikans för oddsförhållanden.

^b För beräkning av oddsförhållanden och deras konfidensintervall adderades 0,5 till alla celler när minst en cell var noll.

Förutsägelse av biokemiskt svar vid vecka 48

Sambanden mellan biokemiskt svar vid vecka 48 och virologiskt svar vid vecka 12 och vecka 24 sammanfattas i Tabell 24.

Värdet av tidiga virologiska svar vid vecka 12 och 24 som prediktorer för biokemiskt svar vid vecka 48 varierade beroende på vecka och behandling.

Tabell 24: PPV, NPV och oddsförhållande för biokemiskt som förutsägs av tidigt virologiskt svar under behandlingen: Virologiskt svar vecka 48 definierat som < 10 IE/mL

HBeAg-status	Vecka för tidigt virologiskt svar	Behandling	PPV (%)		NPV (%)		ELLER
			Uppskattning (95 % KI)	n/N	Uppskattning (95 % KI)	n/N	Uppskattning (95 % CI) ^a
HBeAg(+)	12	Entekavir	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)
		Alla	100 (27,3; 100)	2/2	61,7 (59,7; 65,5)	50/81	8,02 (0,63; > 999,99)
	24	Entekavir	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)
		Alla	60,0 (36,6; 80,9)	9/15	63,6 (58,2; 70,0)	42/66	2,62 (0,84; 8,70)
HBeAg(-)	12	Entekavir	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)
		Alla	48,5 (36,0; 60,9)	16/33	66,7 (54,5; 78,6)	22/33	1,88 (0,70; 5,20)
	24	Entekavir	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)
		Alla	44,2 (37,8; 50,8)	23/52	78,6 (55,1; 95,0)	11/14	2,91 (0,80; 13,98)

CI = 95 % profil-visshet konfidensintervall, NC = ej beräkningsbar

^a För beräkning av oddsförhållanden och deras konfidensintervall adderades 0,5 till alla celler när minst en cell var noll.

Förutsägelse av serologiskt svar vid vecka 48

Sambanden mellan serologiskt svar vid vecka 48 och virologiskt svar vid vecka 12 och vecka 24 sammanfattas i Tabell 25.

Värdet av tidiga virologiska svar vid vecka 12 och 24 som prediktorer för serologiskt svar vid vecka 48 varierade beroende på vecka och behandling.

Tabell 25: PPV, NPV och oddsförhållande för serologiskt svar som förutsägs av tidigt virologiskt svar under behandlingen: Virologiskt svar vecka 48 definierat som < 10 IE/mL

HBeAg-status	Vecka för tidigt virologiskt svar	Behandling	PPV (%)		NPV (%)		ELLER
			Uppskattning (95 % KI)	n/N	Uppskattning (95 % KI)	n/N	Uppskattning (95 % CI) ^a
HBeAg(+)	12	Entekavir	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)
		Alla	33,3 (1,8; 84,3)	1/3	84,2 (83,1; 86,8)	101/120	2,66 (0,12; 29,11)
	24	Entekavir	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)
		Alla	25,0 (8,5; 43,6)	5/20	85,4 (82,5; 89,4)	88/103	1,96 (0,57; 5,94)

CI = 95 % profil-visshet konfidensintervall

^a För beräkning av oddsförhållanden och deras konfidensintervall adderades 0,5 till alla celler när minst en cell var noll.

Förutsägelse av virologiskt svar vecka 48, definierat som HBV DNA < 50 IE/mL (alternativ definition)

Alternativa definitioner av tidiga virologiska svar (vecka 12 och 24) och vecka 48 bedömdes också (se alternativa definitioner av svar ovan).

Sambanden mellan kliniska effektmått och virologiskt svar vid vecka 12 och vecka 24, med hjälp av dessa alternativa definitioner av virologiskt svar, sammanfattas i Tabell 26 (virologiskt svar), Tabell 27 (biokemiskt svar) och Tabell 28 (serologiskt svar).

Tabell 26: PPV, NPV och oddsförhållande för virologiskt svar som förutsågs av tidigt virologiskt svar under behandlingen: Virologiskt svar vecka 48 definierat som < 50 IE/mL

HBeAg-status	Vecka för tidigt virologiskt svar	Behandling	PPV (%)		NPV (%)		ELLER
			Uppskattning (95 % KI)	n/N	Uppskattning (95 % KI)	n/N	Uppskattning (95 % CI) ^{a,b}
HBeAg(+)	12	Entekavir	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)
		Alla	48,3 (45,6; 51,3)	56/116	77,8 (45,3; 97,1)	7/9	3,27 (0,75; 22,54)
	24	Entekavir	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)
		Alla	70,5 (63,5; 77,9)	55/78	93,3 (84,0; 98,3)	42/45	33,47 (10,81; 148,13)
HBeAg(-)	12	Entekavir	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)
		Alla	96,3 (94,4; 98,7)	105/109	60,0 (21,1; 93,3)	3/5	39,37 (5,24; 376,77)
	24	Entekavir	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)
		Alla	96,9 (93,8; 99,2)	93/96	23,5 (7,0; 39,8)	4/17	9,54 (1,91; 53,22)

CI = 95 % profil-visshet konfidensintervall, NC = ej beräkningsbar

^a Skuggning anger statistisk signifikans för oddsförhållanden.

^b För beräkning av oddsförhållanden och deras konfidensintervall adderades 0,5 till alla celler när minst en cell var noll, såvida det inte antingen saknades svar vecka 48 eller inga icke-svar vecka 48, vilket resulterade i att oddsförhållandet rapporterades som NC.

Tabell 27: PPV, NPV och oddsförhållande för biokemiskt som förutsägs av tidigt virologiskt svar under behandlingen: Virologiskt svar vecka 48 definierat som < 50 IE/mL

HBeAg-status	Vecka för tidigt virologiskt svar	Behandling	PPV		NPV		ELLER
			Uppskattning (95 % KI)	n/N	Uppskattning (95 % KI)	n/N	Uppskattning (95 % CI) ^{a,b}
HBeAg(+)	12	Entekavir	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)
		Alla	40,5 (37,1; 43,7)	32/79	75,0 (23,9; 98,7)	3/4	2,04 (0,25; 42,30)
	24	Entekavir	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)
		Alla	51,9 (44,1; 60,2)	28/54	81,5 (66,4; 93,1)	22/27	4,74 (1,66; 15,82)
HBeAg(-)	12	Entekavir	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)
		Alla	42,9 (39,6; 46,7)	27/63	100 (41,2; 100)	3/3	5,27 (0,48; 720,38)
	24	Entekavir	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)
		Alla	42,6 (36,4; 48,9)	23/54	75,0 (48,8; 93,7)	9/12	2,23 (0,59; 10,87)

CI = 95 % profil-visshet konfidensintervall

^a Skuggning anger statistisk signifikans för oddsförhållanden.

^b För beräkning av oddsförhållanden och deras konfidensintervall adderades 0,5 till alla celler när minst en cell var noll.

Tabell 28: PPV, NPV och oddsförhållande för serologiskt svar som förutsägs av tidigt virologiskt svar under behandlingen: Virologiskt svar vecka 48 definierat som < 50 IE/mL

HBeAg-status	Vecka för tidigt virologiskt svar	Behandling	PPV		NPV		ELLER
			Uppskattning (95 % KI)	n/N	Uppskattning (95 % KI)	n/N	Uppskattning (95 % CI) ^{a,b}
HBeAg(+)	12	Entekavir	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)
		Alla	16,7 (13,9; 18,1)	19/114	88,9 (58,8; 99,5)	8/9	1,60 (0,27; 30,56)
	24	Entekavir	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)
		Alla	24,4 (20,0; 28,4)	19/78	97,8 (90,4; 99,9)	44/45	14,17 (2,77; 259,25)

CI = 95 % profil-visshet konfidensintervall

^a Skuggning anger statistisk signifikans för oddsförhållanden.

^b För beräkning av oddsförhållanden och deras konfidensintervall adderades 0,5 till alla celler när minst en cell var noll.

Slutsats

Sammantaget visar resultaten att Aptima HBV Quant Assay kan beräkna HBV DNA-nivåer vid baslinjen och under behandling i syfte att fastställa det virologiska svaret på behandlingen. Denna studie visade att tidiga virologiska svar vid vecka 12 och 24, som prediktorer för virologiskt svar vid vecka 48, varierade beroende på vecka och behandling.

Aptima HBV Quant Assay kan användas som ett hjälpmedel i vård av patienter med kronisk HBV-infektion som genomgår antiviral läkemedelsbehandling mot HBV.

Referenser

1. **World Health Organization.** Global progress report on HIV, viral hepatitis and sexually transmitted infections, 2021. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240027077>. Besökt 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>.

Kontaktinformation och revisionshistorik



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



Hologic BV
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgien

Australisk sponsor

Hologic (Australien
och Nya Zeeland) Pty Ltd.
Macquarie Park NSW 2113

Landsspecifika kontaktuppgifter till teknisk support samt e-postadress och telefonnummer till kundservice finns på www.hologic.com/support.

Allvarliga incidenter som inträffar i samband med produkten i Europeiska unionen bör rapporteras till tillverkaren och den behöriga myndigheten i den medlemsstat där användaren och/eller patienten är etablerad.

Hologic, Aptima, Panther, Panther Fusion och förknippade logotyper är varumärken och/eller registrerade varumärken som tillhör Hologic, Inc. och/eller dess dotterbolag i USA och/eller andra länder. Andra varumärken som kan förekomma i denna bipacksedel tillhör respektive ägare.

Andra varumärken som kan förekomma i denna bipacksedel tillhör respektive ägare.

Den här produkten omfattas eventuellt av ett eller flera patent i USA som anges på www.hologic.com/patents

© 2017-2025 Hologic, Inc. Med ensamrätt.

AW-28215-1601 Rev. 003

2025-10

Revisionshistorik	Datum	Beskrivning
AW-28215-1601 Rev. 001	Juli 2025	Första versionen av ny Aptima HBV-assay IFU AW-28215 Rev. 001 för efterlevnad av IVDR och ersätter AW-13182.
AW-28215-1601 Rev. 002	Augusti 2025	Varumärkesuppdateringar för att uppfylla BSI-krav.
AW-28215-1601 Rev. 003	Oktober 2025	- Alternativ för provrörsvagga tillagt. - SDS uppdaterade.