

Aptima® HBV Quant Assay

Upute za uporabu
Za *in vitro* dijagnostičku uporabu
Samo za izvoz u SAD

Opće informacije	2
Predviđena uporaba	2
Sažetak i objašnjenje testa	2
Načela postupka	3
Sažetak o sigurnosti i učinkovitosti	3
Upozorenja i mjere opreza	4
Zahtjevi za skladištenje reagensa i rukovanje njima	9
Prikupljanje i skladištenje ispitaka	10
Uzorci u sustavu Panther	13
Transport ispitaka	13
Sustav Panther	14
Isporučeni reagensi i materijali	14
Potrebni materijali koji su dostupni zasebno	15
Opcionalni materijali	16
Postupak testiranja na sustavu Panther	17
Napomene o postupku	21
Kontrola kvalitete	22
Kalibracija testa	22
Negativne i pozitivne kontrole	22
Interni kalibrator / interna kontrola	22
Tumačenje rezultata	23
Ograničenja	24
Analitička učinkovitost	25
Granica detekcije prema 3. međunarodnom standardu SZO-a	25
Granica detekcije za genotipove HBV-a	25
Linearni raspon	26
Linearnost za genotipove HBV-a	27
Donja granica kvantifikacije primjenom 3. međunarodnog standarda SZO-a	27
Donja granica kvantifikacije za sve genotipove HBV-a	29
Sljedivost do 3. međunarodnog standarda SZO-a	31
Preciznost	31
Potencijalno interferirajuće tvari	33
Analitička specifičnost	35
Ekvivalencija matrice	36
Razrjeđivanje uzorka s pomoću razrjeđivača za ispitke Aptima (1:3)	36
Razrjeđivanje uzorka s pomoću razrjeđivača za ispitke Aptima (1:100)	37
Potvrda LLoQ-a u ispitcima razrijeđenima u razrjeđivaču za ispitke Aptima	39
Preciznost razrijeđenih uzoraka	39
Prijenos	40
Obnovljivost	40
Klinička učinkovitost	42
Korelacija metoda	42
Klinička korisnost	42
Bibliografija	51
Kontaktne podaci i povijest revizija	52

Opće informacije

Predviđena uporaba

Test Aptima® HBV Quant assay jest *in vitro* test amplifikacije nukleinske kiseline za kvantifikaciju DNK-a virusa hepatitisa B (HBV) u ljudskoj plazmi i serumu na potpuno automatiziranom sustavu Panther™.

Plazma se može pripremiti u epruvetama s etilen-diamin-tetraoctenom kiselinom (EDTA), otopinom antikoagulantne citrat-dekstroze (ACD) i epruvetama za pripremu plazme (PPT). Serum se može pripremiti u epruvetama za serum i epruvetama za odvajanje seruma (SST). Ispitci se testiraju s pomoću potpuno automatiziranog sustava Panther za obradu, amplifikaciju i kvantifikaciju uzoraka. Ispitci koji sadržavaju genotipove A, B, C, D, E, F, G i H HBV-a potvrđeni su za kvantifikaciju u testu.

Test Aptima HBV Quant assay namijenjen je za uporabu kao pomoć pri liječenju pacijenata s kroničnim infekcijama HBV-om koji su podvrgnuti antivirusnoj terapiji lijekovima za HBV. Test se može upotrijebiti za mjerenje razina DNK-a HBV-a na početku i tijekom liječenja kao pomoć pri procjeni virusnog odgovora na liječenje. Rezultati testa Aptima HBV Quant assay moraju se tumačiti u kontekstu svih relevantnih kliničkih i laboratorijskih nalaza.

Test Aptima HBV Quant assay nije namijenjen za uporabu kao test probira na prisutnost DNK-a HBV-a u krvi ili u proizvodima od krvi niti kao dijagnostički test za potvrdu prisutnosti infekcije HBV-om.

Sažetak i objašnjenje testa

Virusu hepatitisa B, jednom od nekoliko virusa za koje je poznato da uzrokuju hepatitis, pripisuju se cjeloživotna infekcija HBV-om, ciroza jetre, rak jetre, zatajenje jetre i potencijalno smrt. Svjetska zdravstvena organizacija (SZO) navodi HBV kao jednu od najčešćih zaraznih bolesti u svijetu. Prevalencija infekcije HBV-om i način prijenosa uvelike se razlikuju diljem svijeta. Procjenjuje se da je 2019. u svijetu živjelo 296 milijuna ljudi s kroničnom infekcijom HBV-om.¹ Infekcija HBV-om povećava rizik od dekompenzacije jetre, ciroze i hepatocelularnog karcinoma (HCC) sa smrtnošću od 0,5 do 1,2 milijuna smrtnih slučajeva i 5 – 10 % slučajeva transplantacije jetre godišnje diljem svijeta.^{2,3} Bez odgovarajućeg liječenja, intervencije i praćenja nakon dijagnoze, kumulativna incidencija ciroze u 5 godina kreće se od 8 do 20 %. Nakon što se razvije ciroza, godišnji rizik od hepatocelularnog karcinoma iznosi 2 – 5 %.⁴

HBV sadržava kružni, djelomično dvolančani genom DNK-a od približno 3200 baznih parova, koji kodiraju četiri djelomično preklapajuća otvorena okvira čitanja (ORF) koji eksprimiraju proteine polimeraze te površinske, *precore/core* i X proteine. Polimerazni ORF preklapa se s ostala tri ORF-a i kodira ključni protein replikacije virusa, polimerazu. Površinski ORF eksprimira tri proteina koji su neophodni za virusnu morfogenezu, ulazak virusa u hepatocite i izazivanje imunskog odgovora domaćina.⁵ Postoji 8 genotipova HBV-a (od A do H) i oni se obično nalaze na različitim geografskim lokacijama.

Zbog dinamične prirode kronične infekcije hepatitisom B, važno je kontinuirano praćenje razine DNK-a HBV-a i alanin-aminotransferaze (ALT).⁶ Kod većine osoba zaraženih HBV-om koje se podvrgavaju antivirusnom liječenju, cilj je supresija DNK-a HBV-a. Kvantitativni testovi nukleinskih kiselina sa širokim linearnim rasponom učinkoviti su za praćenje virusnog opterećenja DNK-a HBV-a tijekom liječenja.

Načela postupka

Aptima HBV Quant assay jest *in vitro* test amplifikacije nukleinske kiseline u kojem se primjenjuje tehnologija amplifikacije posredovane transkripcijom (TMA) u stvarnom vremenu na sustavu Panther za kvantifikaciju DNK-a HBV-a, odnosno genotipova A, B, C, D, E, F, G i H. Test Aptima HBV Quant assay usmjeren je na dvije visoko očuvane regije u polimerazi i površinskim genima (za povećanu toleranciju na potencijalne mutacije). Test je standardiziran prema 3. međunarodnom standardu SZO-a za virus hepatitisa B (NIBSC kod: 10/264).

Aptima HBV Quant assay uključuje tri glavna koraka, koji se svi odvijaju u jednoj epruveti na sustavu Panther: hvatanje ciljne sekvence, amplifikacija ciljne sekvence s pomoću tehnike TMA i detekcija produkata amplifikacije (amplikona) s pomoću fluorescentno obilježenih sonda (izvora svjetlosti).

Tijekom hvatanja ciljne sekvence virusni DNK izolira se iz ispitaka. Ispitak se tretira deterdžentom kako bi se solubilizirala virusna ovojnica, denaturirali proteini i oslobodio virusni genomski DNK. Uhvaćeni oligonukleotidi hibridiziraju se s visoko očuvanim regijama DNK-a HBV-a, ako su prisutne, u ispitku. Hibridizirana ciljna sekvenca zatim se hvata na magnetske mikročestice koje se od ispitka odvajaju u magnetskom polju. Koraci pranja uklanjaju nepripadajuće komponente iz reakcijske epruvete.

Amplifikacija ciljne sekvence odvija se s pomoću tehnike TMA, metode amplifikacije nukleinske kiseline posredovane transkripcijom u kojoj se primjenjuju dva enzima, reverzna transkriptaza Moloneyjeva virusa mišje leukemije (engl. Moloney murine leukemia virus, MMLV) i T7 RNK polimeraza. Reverznom transkriptazom generira se kopija DNK-a (koja sadržava promotorsku sekvencu za T7 RNK polimerazu) ciljne sekvence. T7 RNK polimeraza proizvodi više kopija amplikona RNK-a iz DNK predloška za kopiranje. U testu Aptima HBV Quant assay primjenjuje se metoda TMA za amplifikaciju dvije regije genoma HBV-a (gena polimeraze i površinskog gena). Amplifikacija tih regija postiže se uporabom specifičnih početnica osmišljenih za amplifikaciju genotipova HBV-a A, B, C, D, E, F, G i H. Pristup dvostruke ciljne regije s dizajnom početnice usmjerenim na visoko očuvane regije osigurava točnu kvantifikaciju DNK-a HBV-a.

Detekcija se postiže uporabom izvora svjetlosti u obliku jednolančanih nukleinskih kiselina koji su prisutni tijekom amplifikacije ciljne sekvence i koji se specifično hibridiziraju s amplikonom u stvarnom vremenu. Svaki izvor svjetlosti sadržava fluorofor i gasitelj. Kada izvor svjetlosti nije hibridiziran s amplikonom, gasitelj se nalazi u neposrednoj blizini fluorofora i potiskuje fluorescenciju. Kada se izvor svjetlosti veže za amplikon, gasitelj se udaljava od fluorofora i emitirat će signal na određenoj valnoj duljini kada ga pobudi izvor svjetlosti. Kako se više izvora svjetlosti hibridizira s amplikonom, generira se jači fluorescentni signal. Vrijeme potrebno da fluorescentni signal dosegne određeni prag proporcionalno je početnoj koncentraciji HBV-a. Svaka reakcija ima interni kalibrator / internu kontrolu (engl. internal calibrator/internal control, IC) za kontrolu varijacija u obradi, amplifikaciji i detekciji ispitka. Koncentraciju uzorka određuje softver sustava Panther tako što upotrebljava HBV i IC signale za svaku reakciju i uspoređuje ih s podacima o kalibraciji.

Sažetak o sigurnosti i učinkovitosti

SSP (Sažetak o sigurnosti i učinkovitosti, engl. Summary of Safety and Performance) dostupan je u Europskoj bazi podataka za medicinske proizvode (Eudamed), gdje je povezan s identifikatorima proizvoda (osnovni UDI-DI). Kako biste pronašli SSP za test Aptima HBV Quant assay, potražite osnovni jedinstveni identifikator proizvoda (BUDI): 54200455DIAGAPTHBVAf.

Upozorenja i mjere opreza

- A. Za *in vitro* dijagnostičku uporabu.
- B. Za profesionalnu uporabu.
- C. Kako biste smanjili rizik od nevaljanih rezultata, prije izvođenja ovog testa pažljivo pročitajte cijelu uputu u pakiranju i *Priručnik za rukovatelja sustavom Panther / Panther Fusion™*.
- D. Reagens za pojačanje ciljne sekvence (TER) je korozivan. Pogledajte informacije iz sigurnosno-tehničkog lista na kraju ovog odjeljka.

U vezi s laboratorijem

- E. OPREZ: Kontrole za ovaj test sadržavaju ljudsku plazmu. Plazma nije reaktivna na površinski antigen hepatitisa B (HBsAg), protutijela na HCV, protutijela na HIV-1 i HIV-2 te HIV antigen kada se testira putem postupaka koje je odobrila Američka agencija za hranu i lijekove (engl. Food and Drug Administration, FDA). Osim toga, plazma nije reaktivna na DNK HBV-a, RNK HCV-a ni RNK virusa HIV-1 kada se testira licenciranim testovima nukleinske kiseline. Sav materijal dobiven iz ljudske krvi treba smatrati potencijalno zaraznim i s njim treba postupati uz pridržavanje univerzalnih mjera opreza.^{7,8,9}
- F. Samo osoblje koje je odgovarajuće osposobljeno za uporabu testa Aptima HBV Quant assay i za rukovanje potencijalno zaraznim materijalima smije provoditi ovaj postupak. Ako dođe do izlijevanja, odmah dezinficirajte odgovarajućim postupcima u ustanovi.
- G. Upotrebljavajte samo isporučene ili određene jednokratne laboratorijske proizvode.
- H. Pridržavajte se rutinskih laboratorijskih mjera opreza. Nemojte pipetirati ustima. Nemojte jesti, piti niti pušiti u označenim radnim područjima. Prilikom rukovanja ispitcima i reagensima iz kompleta nosite jednokratne rukavice bez pudera, zaštitne naočale i laboratorijski ogrtač. Nakon rukovanja ispitcima i reagensima iz kompleta temeljito operite ruke.
- I. Radne površine, pipete i drugu opremu potrebno je redovito dekontaminirati otopinom natrijeva hipoklorita od 2,5 % do 3,5 % (od 0,35 M do 0,5 M).
- J. Zbrinite sve materijale koji su došli u dodir s ispitcima i reagensima u skladu s lokalnim, državnim i saveznim propisima.^{7,8,9,10} Temeljito očistite i dezinficirajte sve radne površine.
- K. Kontrole sadržavaju natrijev azid kao konzervans. Nemojte upotrebljavati metalne cijevi za prijenos reagensa. Ako se otopine koje sadržavaju spojeve natrijevog azida odlažu u vodovodni sustav, treba ih razrijediti i isprati obilnom količinom tekuće vode. Ove mjere opreza preporučuju se kako bi se izbjeglo nakupljanje naslaga u metalnim cijevima u kojima bi se mogli razviti eksplozivni uvjeti.
- L. Dobre standardne prakse za molekularne laboratorije uključuju praćenje stanja okoliša. Za praćenje laboratorijskog okruženja predlaže se postupak naveden u nastavku:
 - 1. Uzmite vateni štapić i uparite ga s epruvetom za alikvot ispitka (engl. Specimen Aliquot Tube, SAT) Aptima.
 - 2. Označite svaki SAT na odgovarajući način.
 - 3. Napunite svaku epruvetu SAT s 1 mL razrjeđivača za ispitke Aptima.
 - 4. Za prikupljanje površinskih uzoraka lagano navlažite štapić deioniziranom vodom bez nukleaza.

5. Prikupite bris s površine od interesa okomitim pokretom od vrha prema dnu. Dok uzimate bris, štapić zakrećite za otprilike pola okreta.
6. Uzorak brisa odmah stavite u epruvetu i lagano zavrtite štapić u razrjeđivaču kako biste izvukli potencijalne materijale iz brisa. Pritisnite štapić o bočnu stranu epruvete za prijenos kako biste istisnuli što više tekućine. Odložite štapić u otpad i začepite epruvetu.
7. Ponovite korake za preostale uzorke brisa.
8. Ispitajte bris molekularnim testom.

U vezi s ispitkom

- M. Ispitci mogu biti infektivni. Prilikom izvođenja ovog testa pridržavajte se univerzalnih mjera opreza.^{7,8,9} Potrebno je utvrditi metode propisnog rukovanja i zbrinjavanja u skladu s lokalnim propisima.¹⁰ Samo osoblje koje je odgovarajuće osposobljeno za uporabu testa Aptima HBV Quant assay i za rukovanje zaraznim materijalima smije provoditi ovaj postupak.
- N. Tijekom prijevoza ispitka održavajte odgovarajuće uvjete skladištenja kako biste osigurali cjelovitost ispitka. Stabilnost ispitka u uvjetima prijevoza drukčijim od preporučenih nije procijenjena.
- O. Izbjegavajte križnu kontaminaciju prilikom izvođenja koraka rukovanja ispitcima. Budite posebno oprezni kako biste izbjegli kontaminaciju širenjem aerosola prilikom otpuštanja ili otvaranja ispitaka. Ispitci mogu sadržavati ekstremno visoke razine organizama. Pobrinite se da se spremnici ispitaka međusobno ne dodiruju, a iskorišteni materijal odložite pazeći da ga ne prenosite preko otvorenih spremnika. Zamijenite rukavice ako dođu u dodir s ispitkom.

U vezi s testom

- P. Nemojte upotrebljavati komplet reagensa, kalibrator ni kontrole nakon isteka roka valjanosti.
- Q. Nemojte zamjenjivati, miješati niti kombinirati analitičke reagense iz kompleta s drugim brojevima osnovne serije. Tekućine za test mogu biti iz serija s različitim brojevima. Kontrole i kalibrator mogu biti iz serija s različitim brojevima.
- R. Izbjegavajte kontaminaciju reagensa mikroorganizmima i nukleazom.
- S. Zatvorite i skladištite sve analitičke reagense na propisanim temperaturama. Nepravilno skladišteni analitički reagensi mogu utjecati na učinkovitost testa. Više informacija potražite u odjeljcima *Zahtjevi za skladištenje reagensa i rukovanje njima* i *Postupak testiranja na sustavu Panther*.
- T. Nemojte kombinirati nikakve analitičke reagense ili tekućine bez posebnih uputa. Reagense ili tekućine nemojte puniti do vrha. Sustav Panther provjerava razine reagensa.
- U. Izbjegavajte dodir TER-a s kožom, očima i sluznicama. U slučaju dodira s ovim reagensom, isperite vodom. U slučaju izlijevanja ovog reagensa, razrijedite ga vodom i slijedite odgovarajuće postupke u ustanovi.
- V. Neki reagensi iz ovog kompleta imaju oznake s informacijama o opasnostima.

Napomena: Informiranje o opasnostima odražava klasifikaciju sigurnosno-tehničkih listova (eng. Safety Data Sheets, SDS) EU-a. Informacije o opasnostima specifične za svoju regiju potražite u SDS-u specifičnom za svoju regiju u Biblioteci sigurnosno-tehničkih listova (eng. Safety Data Sheet Library) na www.hologicsds.com. Za više informacija o simbolima pogledajte legendu simbola na <https://www.hologic.com/package-inserts>.

Informacije o opasnostima za Sjevernu Ameriku	
	Kontrole kompleta HBV VL Kit <i>Ljudski serum / ljudska plazma 95 – 100 %</i> <i>Natrijev azid < 1 %</i> — —
	Reagens za pojačanje ciljne sekvence <i>Lithium Hydroxide, Monohydrate 5 – 10 %</i> — — OPASNOST H302 – Štetno ako se proguta. H314 – Uzrokuje teške opekline kože i oštećenje oka. P264 – Nakon uporabe temeljito oprati lice, ruke i sve izložene površine kože. P270 – Pri rukovanju proizvodom ne jesti, piti niti pušiti. P330 – Isprati usta. P501 – Odložiti sadržaj/spremnik u odobreni pogon za odlaganje otpada. P260 – Ne udisati prašinu ili maglu. P280 – Nositi zaštitne rukavice / zaštitnu odjeću / zaštitu za oči / zaštitu za lice. P301 + P330 + P331 – AKO SE PROGUTA: isprati usta. NE izazivati povraćanje. P303 + P361 + P353 – U SLUČAJU DODIRA S KOŽOM (ili kosom): odmah skinuti svu zagađenu odjeću. Isprati kožu vodom/tuširanjem. P304 + P340 – AKO SE UDIŠE: premjestiti osobu na svjež zrak i postaviti je u položaj koji olakšava disanje. P305 + P351 + P338 – U SLUČAJU DODIRA S OČIMA: oprezno ispirati vodom nekoliko minuta. Ukloniti kontaktne leće ako ih nosite i ako se one daju lako ukloniti. Nastaviti ispirati. P321 – Potrebna je posebna liječnička obrada (vidi dopunske upute o mjerama prve pomoći na ovoj naljepnici). P363 – Oprati zagađenu odjeću prije ponovne uporabe. P405 – Skladištiti pod ključem. P301 + P317 – AKO SE PROGUTA: potražiti liječničku pomoć P316 – Odmah potražiti liječničku pomoć
Informacije o opasnostima za EU	
 	Reagens za amplifikaciju <i>Magnesium Chloride 60 – 65 %</i> — — H412 – Štetno za vodeni okoliš s dugotrajnim učincima. P273 – Izbjegavati ispuštanje u okoliš. P501 – Odložiti sadržaj/spremnik u odobreni pogon za odlaganje otpada.
	Enzimski reagens <i>HEPES 1 – 5 %</i> <i>Triton X-100 1 – 5 %</i> — — H412 – Štetno za vodeni okoliš s dugotrajnim učincima. P273 – Izbjegavati ispuštanje u okoliš. P501 – Odložiti sadržaj/spremnik u odobreni pogon za odlaganje otpada.

—	Otopina za rekonstituciju enzima <i>Glicerol 20 – 25 %</i> <i>Triton X-100 5 – 10 %</i> <i>HEPES 1 – 5 %</i> — H412 – Štetno za vodeni okoliš s dugotrajnim učincima P273 – Izbjegavati ispuštanje u okoliš. P501 – Odložiti sadržaj/spremnik u odobreni pogon za odlaganje otpada.
—	Promotorski reagens <i>Magnesium Chloride 60 – 65 %</i> — H412 – Štetno za vodeni okoliš s dugotrajnim učincima. P273 – Izbjegavati ispuštanje u okoliš. P501 – Odložiti sadržaj/spremnik u odobreni pogon za odlaganje otpada.
—	Reagens za hvatanje ciljne sekvence <i>HEPES 15 – 20 %</i> <i>Lauryl Sulfate Lithium Salt 5-10%</i> <i>Succinic Acid 1-5%</i> <i>Lithium Hydroxide, Monohydrate 1 – 5 %</i> — H412 – Štetno za vodeni okoliš s dugotrajnim učincima P273 – Izbjegavati ispuštanje u okoliš. P501 – Odložiti sadržaj/spremnik u odobreni pogon za odlaganje otpada.
—	Kalibratori kompleta HBV VL Kit <i>HEPES 15 – 20 %</i> <i>Lauryl Sulfate Lithium Salt 5-10%</i> <i>Succinic Acid 1-5%</i> <i>Lithium Hydroxide, Monohydrate 1 – 5 %</i> — H412 – Štetno za vodeni okoliš s dugotrajnim učincima. P273 – Izbjegavati ispuštanje u okoliš. P501 – Odložiti sadržaj/spremnik u odobreni pogon za odlaganje otpada.
  	Kontrole kompleta HBV VL Kit <i>Ljudski serum / ljudska plazma 95 – 100 %</i> <i>Natrijev azid < 1 %</i> — OPASNOST H300 – Smrtonosno ako se proguta. H410 – Vrlo otrovno za vodeni okoliš, s dugotrajnim učincima. P264 – Nakon uporabe temeljito oprati lice, ruke i sve izložene površine kože. P273 – Izbjegavati ispuštanje u okoliš. P301 + P310 – AKO SE PROGUTA: odmah nazvati CENTAR ZA KONTROLU OTROVANJA ili liječnika. P321 – Potrebna je posebna liječnička obrada (vidi dopunske upute o mjerama prve pomoći na ovoj naljepnici). P330 – Isprati usta. P391 – Sakupiti proliveno/rasuto.

Reagens za pojačanje ciljne sekvence*Lithium Hydroxide, Monohydrate 5 – 10 %***OPASNOST**

H302 – Štetno ako se proguta.

H314 – Uzrokuje teške opekline kože i oštećenje oka.

P264 – Nakon uporabe temeljito oprati lice, ruke i sve izložene površine kože.

P270 – Pri rukovanju proizvodom ne jesti, piti niti pušiti.

P330 – Isprati usta.

P501 – Odložiti sadržaj/spremnik u odobreni pogon za odlaganje otpada.

P260 – Ne udisati prašinu/dim/plin/maglu/pare/aerosol.

P280 – Nositi zaštitne rukavice / zaštitnu odjeću / zaštitu za oči / zaštitu za lice.

P301 + P330 + P331 – AKO SE PROGUTA: isprati usta. NE izazivati povraćanje.

P303 + P361 + P353 – U SLUČAJU DODIRA S KOŽOM (ili kosom): odmah skinuti svu zagađenu odjeću. Isprati kožu vodom [ili tuširanjem].

P304 + P340 – AKO SE UDIŠE: premjestiti osobu na svjež zrak i postaviti je u položaj koji olakšava disanje.

P305 + P351 + P338 – U SLUČAJU DODIRA S OČIMA: oprezno ispirati vodom nekoliko minuta.

Ukloniti kontaktne leće ako ih nosite i ako se one daju lako ukloniti. Nastaviti ispirati.

P310 – Odmah nazvati CENTAR ZA KONTROLU OTROVANJA ili liječnika.

P321 – Potrebna je posebna liječnička obrada (vidi dopunske upute o mjerama prve pomoći na ovoj naljepnici).

P363 – Oprati zagađenu odjeću prije ponovne uporabe.

P405 – Skladištiti pod ključem.

Zahtjevi za skladištenje reagensa i rukovanje njima

- A. U tablici u nastavku prikazani su uvjeti skladištenja i stabilnost reagensa, kontrola i kalibratora.

Reagens	Neotvoreno skladištenje	Otvoreni komplet (rekonstituiran)	
		Skladištenje	Stabilnost
Reagens za amplifikaciju qHBV	Od 2 °C do 8 °C		
Otopina za rekonstituciju amplifikacije qHBV	Od 2 °C do 8 °C	Od 2 °C do 8 °C	30 dana ^a
Enzimski reagens qHBV	Od 2 °C do 8 °C		
Otopina za rekonstituciju enzima qHBV	Od 2 °C do 8 °C	Od 2 °C do 8 °C	30 dana ^a
Promotorski reagens qHBV	Od 2 °C do 8 °C		
Otopina za rekonstituciju promotora qHBV	Od 2 °C do 8 °C	Od 2 °C do 8 °C	30 dana ^a
Reagens za hvatanje ciljne sekvence qHBV	Od 2 °C do 8 °C	Od 2 °C do 8 °C	30 dana ^a
qHBV PCAL (pozitivni kalibrator)	Od -15 °C do -35 °C	Od 15 °C do 30 °C	Bočica za jednokratnu uporabu Upotrijebiti unutar 24 sata
Kontrola qHBV NC – (negativna kontrola)	Od -15 °C do -35 °C	Od 15 °C do 30 °C	Bočica za jednokratnu uporabu Upotrijebiti unutar 24 sata
Kontrola qHBV LPC + (nisko pozitivna kontrola)	Od -15 °C do -35 °C	Od 15 °C do 30 °C	Bočica za jednokratnu uporabu Upotrijebiti unutar 24 sata
Kontrola qHBV HPC + (visoko pozitivna kontrola)	Od -15 °C do -35 °C	Od 15 °C do 30 °C	Bočica za jednokratnu uporabu Upotrijebiti unutar 24 sata
Reagens za pojačanje ciljne sekvence qHBV	Od 15 °C do 30 °C	Od 15 °C do 30 °C	30 dana ^a

^a Kada se reagensi uklone iz sustava Panther, potrebno ih je odmah vratiti na njihovu odgovarajuću temperaturu skladištenja.

- B. Sve neiskorištene rekonstituirane reagense, reagens za hvatanje ciljne sekvence (TCR) i reagens za pojačanje ciljne sekvence (TER) odložite u otpad nakon 30 dana ili nakon isteka roka valjanosti osnovne serije, ovisno o tome što nastupi ranije.
- C. Reagensi pohranjeni u sustavu Panther stabilni su 72 sata. Reagensi se mogu postaviti u sustav Panther do 8 puta. Sustav Panther bilježi svako postavljanje reagensa.
- D. Nakon odmrzavanja kalibratora otopina mora biti bistra, tj. ne smije biti mutna niti sadržavati talog. Pobrinite se da se talog otopi. Nemojte upotrebljavati kalibrator ako je došlo do želiranja, taloga ili zamućenja.
- E. Promotorski reagens i rekonstituirani promotorski reagens fotosenzitivni su. Zaštitite te reagense od svjetlosti tijekom skladištenja i pripreme za uporabu.
- F. Reagens za pojačanje ciljne sekvence qHBV mora biti na temperaturi od 15 °C do 30 °C prije uporabe.

Prikupljanje i skladištenje ispitaka

Napomena: Rukujte svim ispitcima kao da sadrže potencijalno zarazne agense. Pridržavajte se univerzalnih mjera opreza.

Napomena: Pazite da izbjegnute križnu kontaminaciju tijekom koraka rukovanja uzorcima. Na primjer, bacite iskorišteni materijal bez prelaska preko otvorenih epruveta.

Napomena: Za skladištenje se preporučuju samo plastične sekundarne epruvete.

Mogu se upotrebljavati ispitci pune krvi prikupljeni u sljedećim staklenim ili plastičnim epruvetama:

- epruvete koje sadrže antikoagulanse etilen-diamin-tetraoctene kiseline (EDTA) ili dekstroze citratne kiseline (ACD)
- epruvete za pripremu plazme
- epruvete za serum
- epruvete za odvajanje seruma.

Za serum pustite da se formira ugrušak prije daljnje obrade.

A. Prikupljanje ispitaka

Puna krv može se skladištiti na temperaturi od 2 °C do 30 °C do 24 sata, a plazma se prije obrade mora odvojiti centrifugiranjem u primarnoj epruveti. Odvojite plazmu ili serum od eritrocita slijedeći upute proizvođača za epruvetu koja se upotrebljava. Plazma ili serum može se testirati na sustavu Panther u primarnoj epruveti ili prenijeti u sekundarnu epruvetu kao što je epruveta za alikvot ispitka Aptima®. Za dobivanje reakcijskog volumena od 500 µL minimalni volumen plazme ili seruma za primarne epruvete za prikupljanje iznosi do 1200 µL, a za sekundarne epruvete minimalni volumen iznosi 700 µL. U tablici u nastavku navedeni su zahtjevi za nekorisni volumen za svaku vrstu primarne i sekundarne epruvete.

Epruveta (veličina i vrsta)	Nekorisni volumen na sustavu Panther
Epruveta za alikvot uzorka (SAT) Aptima	0,2 mL
12 x 75 mm	0,5 mL
13 x 100 mm	0,5 mL
13 x 100 mm s gelom	0,3 mL
16 x 100 mm s gelom	0,7 mL

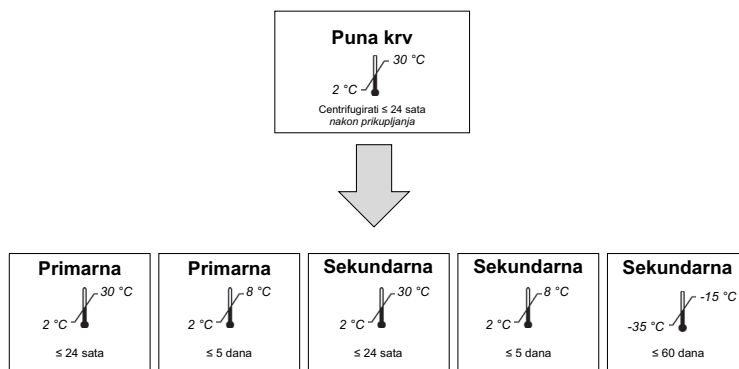
Ako se ne testiraju odmah, plazma i serum mogu se skladištiti u skladu sa specifikacijama navedenima u nastavku. Ako se prenosi u SAT ili sekundarnu epruvetu, plazma ili serum može se zamrznuti na -20 °C. Nemojte prekoračiti 3 ciklusa zamrzavanja i odmrzavanja. Nemojte zamrzavati ispitke u epruvetama s antikoagulansom EDTA ili ACD niti u primarnim epruvetama za prikupljanje seruma.

B. Uvjeti za skladištenje ispitaka

1. Ispitci plazme s antikoagulansima EDTA i ACD

Puna krv može se čuvati na temperaturi od 2 °C do 30 °C i mora se centrifugirati unutar 24 sata od prikupljanja ispitka. Plazma se zatim može skladištiti pod jednim od sljedećih uvjeta:

- u primarnoj epruveti za prikupljanje ili sekundarnoj epruveti na temperaturi od 2 °C do 30 °C do 24 sata
- u primarnoj epruveti za prikupljanje na temperaturi od 2 °C do 8 °C do 5 dana, ili
- u sekundarnoj epruveti na -20 °C do 60 dana.

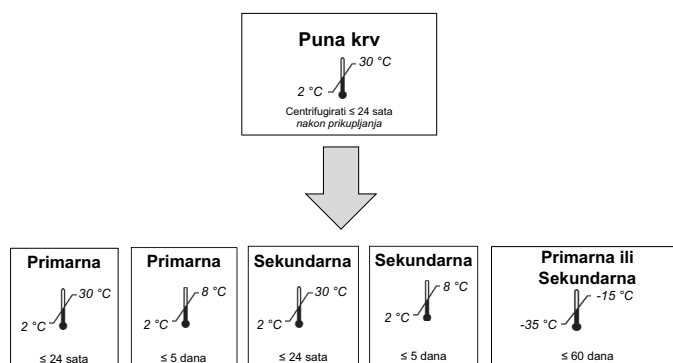


Slika 1. Uvjeti skladištenja za epruvete s EDTA/ACD

2. Ispitci u PPT-u

Puna krv može se čuvati na temperaturi od 2 °C do 30 °C i mora se centrifugirati unutar 24 sata od prikupljanja ispitka. Plazma se zatim može skladištiti pod jednim od sljedećih uvjeta:

- u PPT-u ili sekundarnoj epruveti na temperaturi od 2 °C do 30 °C do 24 sata
- u PPT-u ili sekundarnoj epruveti na temperaturi od 2 °C do 8 °C do 5 dana, ili
- u PPT-u ili sekundarnoj epruveti na temperaturi od -20 °C do 60 dana.

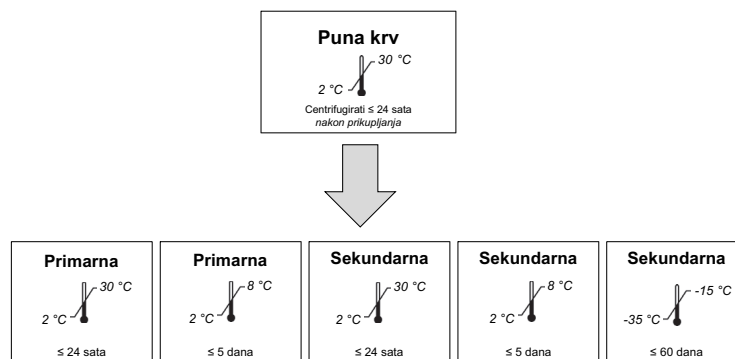


Slika 2. Uvjeti skladištenja za PPT-e

3. Ispitci u epruveti za serum

Puna krv može se čuvati na temperaturi od 2 °C do 30 °C i mora se centrifugirati unutar 24 sata od prikupljanja ispitka. Serum se zatim može skladištiti pod jednim od sljedećih uvjeta:

- u epruveti za serum ili sekundarnoj epruveti na temperaturi od 2 °C do 30 °C do 24 sata
- u epruveti za serum ili sekundarnoj epruveti na temperaturi od 2 °C do 8 °C do 5 dana ili
- u sekundarnoj epruveti na -20 °C do 60 dana.

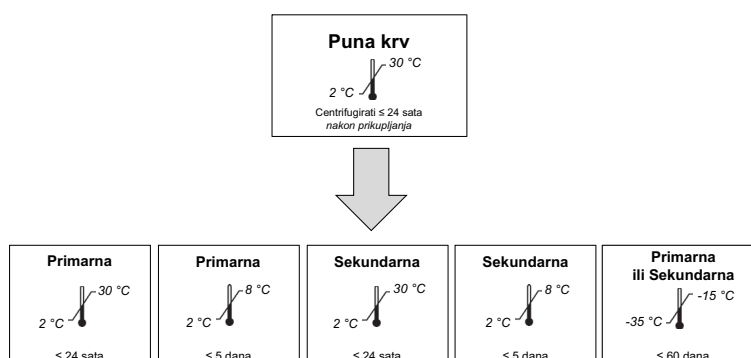


Slika 3. Uvjeti skladištenja za epruvete za serum

4. Ispitci u SST-u

Puna krv može se čuvati na temperaturi od 2 °C do 30 °C i mora se centrifugirati unutar 24 sata od prikupljanja ispitka. Serum se zatim može skladištiti pod jednim od sljedećih uvjeta:

- u SST-u ili sekundarnoj epruveti na temperaturi od 2 °C do 30 °C do 24 sata
- u SST-u ili sekundarnoj epruveti na temperaturi od 2 °C do 8 °C do 5 dana, ili
- u SST-u ili sekundarnoj epruveti na -20 °C do 60 dana.



Slika 4. Uvjeti skladištenja za SST-e

C. Dugotrajno skladištenje u zamrzivaču

Ispitci plazme ili seruma mogu se čuvati na -70° C do 60 dana u SAT-ovima.

D. Razrjeđivanje ispitaka plazme i seruma

Ispitci plazme i seruma mogu se razrijediti u SAT-u ili sekundarnoj epruveti za testiranje na sustavu Panther. Pogledajte odjeljak *Postupak testiranja na sustavu Panther*, korak E.5 u nastavku za više informacija.

Napomena: *Ako je ispitak razrijeđen, treba ga testirati odmah nakon razrjeđivanja. Nemojte zamrzavati razrijeđeni ispitak.*

Uzorci u sustavu Panther

Uzorci se mogu ostaviti bez poklopca u sustavu Panther do 8 sati. Uzorci se mogu izvaditi iz sustava Panther i testirati sve dok ukupno vrijeme provedeno u sustavu ne prelazi 8 sati prije nego što sustav Panther pipetira uzorak.

Transport ispitaka

Održavajte uvjete skladištenja uzoraka kako je opisano u odjeljku *Prikupljanje i skladištenje ispitaka*.

Napomena: *Ispitci se trebaju transportirati u skladu s primjenjivim nacionalnim, međunarodnim i regionalnim propisima o transportu.*

Sustav Panther

Reagensi za test Aptima HBV Quant assay navedeni su u nastavku za sustav Panther. Pored naziva reagensa navedeni su i identifikacijski simboli reagensa.

Isporučeni reagensi i materijali

Komplet za test Aptima HBV Quant Assay, 100 testova (kat. br. PRD-03424)
(1 kutija testa, 1 komplet kalibratora, 1 komplet kontrola i 1 kutija reagensa za pojačanje ciljne sekvence)

Dodatni kalibratori i kontrole mogu se naručiti zasebno. Pojedinačne kataloške brojeve potražite u nastavku.

Kutija testa Aptima HBV Quant Assay

(nakon primitka čuvati na temperaturi od 2 °C do 8 °C)

Simbol	Komponenta	Količina
A	Reagens za amplifikaciju qHBV <i>Neinfektivne nukleinske kiseline osušene u puferiranoj otopini.</i>	1 bočica
E	Enzimski reagens qHBV <i>Reverzna transkriptaza i RNK polimeraza osušene u otopini tretiranoj puferom HEPES.</i>	1 bočica
PRO	Promotorski reagens qHBV <i>Neinfektivne nukleinske kiseline osušene u puferiranoj otopini.</i>	1 bočica
AR	Otopina za rekonstituciju amplifikacije qHBV <i>Vodena otopina koja sadržava glicerol i konzervanse.</i>	1 x 7,2 mL
ER	Otopina za rekonstituciju enzima qHBV <i>Otopina tretirana puferom HEPES koja sadržava površinski aktivnu tvar i glicerol.</i>	1 x 5,8 mL
PROR	Otopina za rekonstituciju promotora qHBV <i>Vodena otopina koja sadržava glicerol i konzervanse.</i>	1 x 4,5 mL
TCR	Reagens za hvatanje ciljne sekvence qHBV <i>Nukleinske kiseline u puferiranoj otopini soli koja sadržava krutu fazu, neinfektivne nukleinske kiseline i interni kalibrator.</i>	1 x 72,0 mL
	Prstenovi za rekonstituciju	3
	List crtičnih kodova osnovne serije	1 list

Komplet kalibratora Aptima HBV Quant (kat. br. PRD-03425)

(nakon primitka čuvati na temperaturi od -15 °C do -35 °C)

Simbol	Komponenta	Količina
PCAL	Pozitivni kalibrator qHBV <i>Plazmidni DNK u puferiranoj otopini</i>	5 x 2,5 mL
	Naljepnica s crtičnim kodom kalibratora	—

Komplet kontrola Aptima HBV Quant (kat. br. PRD-03426)
(nakon primitka čuvati na temperaturi od -15 °C do -35 °C)

Simbol	Komponenta	Količina
NC	Negativna kontrola qHBV <i>Defibrinirana ljudska plazma negativna na HBV koja sadržava gentamicin i 0,2 % natrijeva azida kao konzervanse.</i>	5 x 0,8 mL
LPC	Nisko pozitivna kontrola qHBV <i>Inaktivirana plazma pozitivna na HBV u defibriniranoj ljudskoj plazmi koja sadržava gentamicin i 0,2 % natrijeva azida kao konzervanse.</i>	5 x 0,8 mL
HPC	Visoko pozitivna kontrola qHBV <i>Inaktivirana plazma pozitivna na HBV u defibriniranoj ljudskoj plazmi koja sadržava gentamicin i 0,2 % natrijeva azida kao konzervanse.</i>	5 x 0,8 mL
	Naljepnica s crtičnim kodom kontrole	—

Kutija reagensa za pojačanje ciljne sekvence Aptima HBV Quant
(nakon primitka čuvati na temperaturi od 15 °C do 30 °C)

Simbol	Komponenta	Količina
TER	Reagens za pojačanje ciljne sekvence qHBV <i>Koncentrirana otopina litijeva hidroksida</i>	1 x 46,0 mL

Potrebni materijali koji su dostupni zasebno

Napomena: Materijali dostupni kod društva Hologic imaju navedene kataloške brojeve, osim ako je drukčije naznačeno.

Materijal	Kat. br.
Sustav Panther™	303095
Sustav Panther Fusion™	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 (samo za testove u stvarnom vremenu)	PRD-03455 (5000 testova)
Aptima® Assay Fluids Kit (naziva se i univerzalnim kompletom tekućina) <i>sadržava otopinu za pranje Aptima®, pufer za deaktivacijsku tekućinu Aptima® i uljni reagens Aptima®</i>	303014 (1000 testova)
Jedinice za više epruveta (MTU-ovi)	104772-02
Komplet vrećica za otpad Panther™	902731
Poklopac koša za otpad Panther™	504405
Ili Panther™ System Run Kit <i>(kada se TMA testovi koji nisu u stvarnom vremenu izvode istovremeno s TMA testovima u stvarnom vremenu)</i> <i>sadržava MTU-ove, vrećice za otpad, poklopce koša za otpad, sustav za automatsku detekciju i testne tekućine</i>	303096 (5000 testova)

Materijal

Vrhovi, 1000 µL, vodljivi, osjetljivi na tekućinu

Nisu svi proizvodi dostupni u svim regijama. Obratite se svojem predstavniku za informacije specifične za regiju.

Izbjeljivač, od 5 % do 8,25 % (od 0,7 M do 1,16 M) otopine natrijeva hipoklorita

Jednokratne rukavice bez pudera

Zamjenski neprobojni čepovi

Zamjenski čepovi za reagense

Bočice za rekonstituciju reagensa za amplifikaciju, enzimskog reagensa i promotorskog reagensa

Bočica za TCR

Bočica za TER

Pokrovi s plastičnom poledinom za radne površine u laboratoriju

Maramice koje ne ostavljaju dlačice

Pipetor

Vrhovi

Opcije za primarne epruvete za prikupljanje:

13 mm x 100 mm

13 mm x 75 mm

16 mm x 100 mm

Centrifuga

Vorteks miješalica

Kat. br.

901121 (10612513 Tecan)

903031 (10612513 Tecan)

MME-04134 (30180117 Tecan)

MME-04128

—

—

103036A

CL0041 (100 čepova)

CL0040 (100 čepova)

501604 (100 čepova)

—

—

—

—

—

—

—

—

—

Opcionalni materijali**Materijal****Kat. br.**

Opcije za sekundarne epruvete:

12 mm x 75 mm

13 mm x 100 mm

16 mm x 100 mm

Epruvete za alikvot ispitka Aptima® (SAT) (pakiranje od 100 komada)

Čep za epruvetu za prijenos (pakiranje od 100 komada)

čep za SAT

Razrjeđivač za ispitke Aptima®

Komplet razrjeđivača za ispitke Aptima®

sadržava razrjeđivač za ispitke, 100 SAT-ova i 100 čepova

Pipete za prijenos

Vatni štapići

Klackalica epruvete

—

—

—

FAB-18184

504415

PRD-03003

PRD-03478

—

—

PRD-03488

Postupak testiranja na sustavu Panther

Napomena: Dodatne informacije o postupku pogledajte u Priručniku za rukovatelja sustavom Panther / Panther Fusion.

A. Priprema radnog prostora

1. Očistite radne površine na kojima će se pripremati reagensi. Prebrišite radne površine otopinom natrijeva hipoklorita od 2,5 % do 3,5 % (od 0,35 M do 0,5 M). Ostavite otopinu natrijeva hipoklorita na površinama najmanje 1 minutu, a zatim je isperite deioniziranim (DI) vodom. Nemojte ostaviti otopinu natrijeva hipoklorita da se osuši. Prekrijte radnu površinu čistim, apsorpcijskim pokrovima s plastičnom poledinom za radne površine u laboratoriju.
2. Očistite zasebnu radnu površinu na kojoj će se pripremati uzorci. Primijenite prethodno opisani postupak (korak A.1).
3. Očistite sve pipetore. Primijenite prethodno opisani postupak čišćenja (korak A.1).

B. Priprema kalibratora i kontrola

Pustite da kalibrator i kontrole dosegnu temperaturu od 15 °C do 30 °C prije obrade na sljedeći način:

1. Izvadite kalibrator i kontrole iz skladišta (od -15 °C do -35 °C) i stavite ih na temperaturu od 15 °C do 30 °C. Tijekom procesa odmrzavanja lagano okrećite svaku epruvetu kako biste ih dobro promiješali. Prije uporabe provjerite je li sadržaj epruvete u potpunosti odmrznut.

Opcija. Epruvete kalibratora i kontrola mogu se postaviti na klackalicu epruvete kako bi se temeljito promiješale. Prije uporabe provjerite je li sadržaj epruvete u potpunosti odmrznut.

Napomena: Izbjegavajte stvaranje prekomjerne pjene prilikom preokretanja kalibratora i kontrola. Pjena ugrožava mjerenje razine sustavom Panther.

2. Kada se sadržaj epruvete odmrzne, osušite vanjski dio epruvete čistom, suhom maramicom za jednokratnu uporabu.
3. U tom trenutku nemojte otvarati epruvete kako ne bi došlo do kontaminacije.

C. Rekonstitucija reagensa / priprema novog kompleta

Napomena: Rekonstituciju reagensa potrebno je provesti prije početka rada na sustavu Panther.

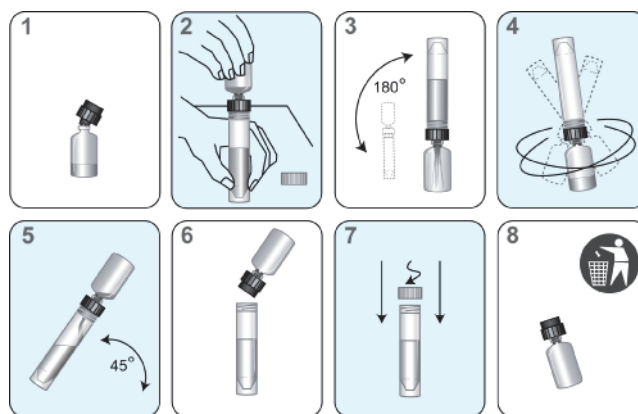
1. Za pripremu TCR-a izvršite sljedeće:
 - a. Izvadite TCR iz skladišta (od 2 °C do 8 °C). Provjerite broj serije na bočici TCR-a kako biste bili sigurni da odgovara broju serije na listu crtičnih kodova osnovne serije.
 - b. Odmah snažno protresite bočicu TCR-a 10 puta. Ostavite bočicu TCR-a da se zagrije na temperaturi od 15 °C do 30 °C najmanje 45 minuta. Tijekom tog razdoblja zavrtite i preokrenite bočicu TCR-a najmanje svakih 10 minuta.

Opcija. Bočica TCR-a može se pripremiti na klackalici epruvete sljedeći upute u nastavku: Izvadite TCR iz skladišta (od 2 °C do 8 °C) i odmah snažno protresite 10 puta. Stavite bočicu TCR-a u klackalicu epruvete i ostavite TCR da se zagrije na temperaturi od 15 °C do 30 °C najmanje 45 minuta.

- c. Prije uporabe provjerite je li sav talog u otopini i jesu li magnetske čestice suspendirane.

2. Za rekonstituciju reagensa za amplifikaciju, enzimskog reagensa i promotorskog reagensa provedite sljedeće:
- Izvadite liofilizirane reagense i odgovarajuće otopine za rekonstituciju iz skladišta (od 2 °C do 8 °C). Svaku otopinu za rekonstituciju uparite s njezinim liofiliziranim reagensom.
 - Provjerite podudaraju li se boje oznaka na otopini za rekonstituciju i liofiliziranom reagensu. Provjerite brojeve serija na listu crtičnih kodova osnovne serije kako biste se uvjerali da ste uparili odgovarajuće reagense.
 - Otvorite bočicu s liofiliziranim reagensom uklanjanjem metalne brtve i gumenog čepa.
 - Kraj prstena za rekonstituciju s urezima (crni) čvrsto umetnite na bočicu (Slika 5, korak 1).
 - Otvorite odgovarajuću bočicu otopine za rekonstituciju i čep stavite na čistu, prekrivenu radnu površinu.
 - Bočicu s otopinom za rekonstituciju postavite na stabilnu površinu (npr. stol). Zatim preokrenite bočicu s liofiliziranim reagensom iznad bočice s otopinom za rekonstituciju i čvrsto pričvrstite prsten na bočicu s otopinom za rekonstituciju (Slika 5, korak 2).
 - Polako preokrenite sastavljene bočice (bočicu pričvršćenu na bočicu s otopinom) kako biste omogućili da se otopina iscijedi u staklenu bočicu (Slika 5, korak 3).
 - Podignite sastavljene bočice i miješajte ih kružnim pokretima najmanje 10 sekundi (Slika 5, korak 4).
 - Pričekajte najmanje 30 minuta da liofilizirani reagens prijeđe u otopinu.
 - Nakon što liofilizirani reagens prijeđe u otopinu, miješajte sastavljene bočice kružnim pokretima najmanje 10 sekundi, a zatim lagano protresite otopinu unutar staklene bočice naprijed-natrag kako biste je dobro promiješali.
 - Polako ponovno nagnite sastavljene bočice kako biste omogućili da se sva otopina iscijedi natrag u bočicu s otopinom za rekonstituciju (Slika 5, korak 5).
 - Pažljivo uklonite prsten za rekonstituciju i staklenu bočicu (Slika 5, korak 6).
 - Ponovno začepite bočicu. Zabilježite inicijale rukovatelja i datum rekonstitucije na naljepnici (Slika 5, korak 7).
 - Odložite prsten za rekonstituciju i staklenu bočicu u otpad (Slika 5, korak 8).

Upozorenje: Izbjegavajte stvaranje prekomjerne pjene prilikom rekonstitucije reagensa. Pjena ugrožava mjerenje razine sustavom Panther.



Slika 5. Postupak rekonstitucije reagensa

3. Izvadite reagens za pojačanje ciljne sekvence qHBV (TER) iz skladišta (od 15 °C do 30 °C). Zabilježite inicijale rukovatelja i datum otvaranja na naljepnici. Provjerite broj serije na bočici TER-a kako biste bili sigurni da odgovara broju serije na listu crtičnih kodova osnovne serije.

D. Priprema reagensa za prethodno pripremljene reagense

1. Izvadite prethodno pripremljene reagense iz skladišta (od 2 °C do 8 °C). Prije početka testa prethodno pripremljeni reagens za amplifikaciju, enzimski reagens i promotorski reagens te TCR trebaju dosegnuti temperaturu od 15 °C do 30 °C.
2. Izvadite TER iz skladišta (od 15 °C do 30 °C).
3. Za prethodno pripremljeni TCR izvedite prethodno navedeni korak C.1 prije postavljanja na sustav.
4. Miješajte kružnim pokretima i preokrećite reagens za amplifikaciju, enzimski reagens i promotorski reagens kako bi se dobro promiješali prije postavljanja na sustav. Izbjegavajte stvaranje prekomjerne pjene prilikom preokretanja reagensa.

Opcija: prethodno pripremljen reagens može se primijeniti na klackalici epruvete slijedeći ove upute: izvadite reagens iz skladišta (od 2 °C do 8 °C). Postavite reagens na klackalicu epruvete i ostavite na 15 °C do 30 °C da se zagrije najmanje 30 minuta.

5. Bočice s reagensom nemojte puniti do vrha. Sustav Panther prepoznat će i odbiti bočice koje su napunjene do vrha.

E. Rukovanje ispitcima

1. Pravilno skladištite obrađene ispitke u primarnim epruvetama ili nerazrijeđene ispitke plazme u sekundarnim epruvetama u skladu s odjeljkom *Prikupljanje ispitaka*.
2. Pazite da zamrznuti ispitci budu potpuno odmrznuti. Odmrznute ispitke miješajte u vorteks miješalici od 3 do 5 sekundi kako biste ih dobro promiješali.
3. Pustite da ispitci dosegnu temperaturu od 15 °C do 30 °C prije obrade. Pogledajte odjeljak *Uzorci u sustavu Panther* za dodatne informacije o postavljanju na sustav.
4. Osigurajte da svaka primarna epruveta za prikupljanje sadržava do 1200 µL ispitka ili da svaki SAT sadržava najmanje 700 µL ispitka. Pogledajte tablicu u odjeljku *Prikupljanje ispitaka* kako biste utvrdili zahtjeve za nekorisni volumen za svaku vrstu primarne i sekundarne epruvete. Ako je potrebno razrijediti ispitak, dodatne informacije potražite u koraku E.5 u nastavku.
5. Razrijedite ispitak plazme ili seruma u omjeru 1:3 u SAT-u ili 1:100 u sekundarnoj epruveti.

Ispitak se može razrijediti u sekundarnoj epruveti za testiranje na sustavu Panther.

Napomena: Ako je ispitak razrijeđen, mora se testirati odmah nakon razrjeđivanja.

a. Razrjeđivanje ispitaka s malim volumenom

Volumen ispitaka može se povećati na minimalan potreban volumen (700 µL) s pomoću razrjeđivača za ispitke Aptima. Ispitci s najmanje 240 µL mogu se razrijediti s dva dijela razrjeđivača za ispitke (1:3) na sljedeći način:

- i. Stavite 240 µL ispitka u SAT.
- ii. Dodajte 480 µL razrjeđivača za ispitke Aptima.
- iii. Začepite epruvetu.
- iv. Lagano preokrenite 5 puta da biste promiješali.

Uzorci razrijeđeni u omjeru 1:3 mogu se testirati primjenom opcije 1:3 na sustavu Panther (pogledajte *Priručnik za rukovatelja sustavom Panther / Panther Fusion* za više informacija). Softver će automatski prijaviti rezultat nerazrijeđenog ispitka primjenom faktora razrjeđivanja. Ti će se ispitci označiti kao razrijeđeni ispitci.

b. Razrjeđivanje ispitaka visokog titra

Ako je rezultat ispitka iznad gornje granice kvantifikacije (engl. upper limit of quantitation, ULoQ), može se razrijediti s 99 dijelova razrjeđivača za ispitke Aptima (1:100) na sljedeći način:

- i. Stavite 30 µL ispitka u SAT ili sekundarnu epruvetu.
- ii. Dodajte 2970 µL razrjeđivača za ispitke Aptima.
- iii. Začepite epruvetu.
- iv. Lagano preokrenite 5 puta da biste promiješali.

Ispitci razrijeđeni u omjeru 1:100 mogu se testirati primjenom opcije 1:100 na sustavu Panther (pogledajte *Priručnik za rukovatelja sustavom Panther / Panther Fusion* za više informacija). Softver će automatski prijaviti rezultat nerazrijeđenog ispitka primjenom faktora razrjeđivanja. Ti će se ispitci označiti kao razrijeđeni ispitci.

Napomena: Za razrijeđene ispitke čije su nerazrijeđene koncentracije veće od ULoQ-a rezultati će biti prikazani u znanstvenom zapisu.

6. Neposredno prije postavljanja ispitaka u stalak za ispitke, centrifugirajte svaki ispitak na 1.000 do 3.000 g 10 minuta. Ne skidajte čepove. Mjehurići u epruveti mogu ugroziti mjerenje razine sustavom Panther. Pogledajte odjeljak *Priprema sustava*, korak F.2 u nastavku za informacije o postavljanju u stalak i skidanju čepova.

F. Priprema sustava

1. Sustav postavite u skladu s uputama u *Priručniku za rukovatelja sustavom Panther / Panther Fusion* i odjeljku *Napomene o postupku*. Pobrinite se da se upotrebljavaju stalci za reagense i adapteri za TCR odgovarajuće veličine.
2. Postavite uzorke u stalak za uzorke. Izvršite sljedeće korake za svaku epruvetu s uzorkom (ispitak i, kada je potrebno, kalibrator i kontrole):
 - a. Otpustite čep jedne epruvete s uzorkom, ali ga još nemojte ukloniti.

Napomena: Budite posebno oprezni kako biste izbjegli kontaminaciju širenjem aerosola. Lagano otpustite čepove na uzorcima.

- b. Stavite epruvetu s uzorkom u stalak za uzorke.
- c. Ponovite korake 2.a i 2.b za svaki preostali uzorak.
- d. Nakon što se uzorci postave u stalak za uzorke, uklonite i bacite svaki čep epruvete s uzorkom u jednom stalku za uzorke. Kako biste izbjegli kontaminaciju, nemojte prenositi čep preko drugih stalaka za uzorke ili epruveta s uzorkom.
- e. Ako je potrebno, upotrijebite novu jednokratnu pipetu za prijenos kako biste uklonili mjehuriće ili pjenu.
- f. Kada se ukloni posljednji čep, umetnite stalak za uzorke u odjeljak za uzorke.

Napomena: Ako istovremeno obrađujete druge testove i vrste uzoraka, pričvrstite držač uzorka prije nego što stalak za uzorke postavite u odjeljak za uzorke.

- g. Ponovite korake od 2.a do 2.f za sljedeći stalak za uzorke.

Napomene o postupku

A. Kalibrator i kontrole

1. Epruvete s qHBV pozitivnim kalibratorom, qHBV nisko pozitivnom kontrolom, qHBV visoko pozitivnom kontrolom i qHBV negativnom kontrolom mogu se umetnuti u bilo koji položaj u stalku za uzorke i u bilo koji utor odjeljka za uzorke na sustavu Panther. Pipetiranje ispitaka započet će kada je zadovoljen jedan od sljedećih dvaju uvjeta:
 - a. Sustav trenutno obrađuje kalibrator i kontrole.
 - b. U sustavu su registrirani važeći rezultati za kalibrator i kontrole.
2. Kada se epruveta s kalibratorom i kontrolne epruvete pipetiraju i obrađuju za komplet reagensa testa Aptima HBV Quant assay, ispitci se mogu testirati s pomoću pridruženog rekonstituiranog kompleta do 24 sata, **osim u sljedećim uvjetima**:
 - a. Rezultati kalibrатора ili kontrola nisu valjani.
 - b. Pridruženi komplet analitičkog reagensa uklonjen je iz sustava.
 - c. Pridruženi komplet analitičkog reagensa premašio je granice stabilnosti.
3. Epruvetu kalibratora i svaku kontrolnu epruvetu moguće je upotrijebiti samo jednom. Pokušaji uporabe epruvete više od jednom mogu dovesti do pogrešaka pri obradi.

B. Puder iz rukavica

Kao i kod svakog drugog sustava reagensa, višak pudera na nekim rukavicama može uzrokovati kontaminaciju otvorenih epruveta. Preporučuje se uporaba rukavica bez pudera.

Kontrola kvalitete

Rukovatelj može poništiti rezultat ciklusa ili ispitka ako tijekom izvođenja testa uoči tehničke poteškoće, poteškoće pri rukovanju ili poteškoće povezane s instrumentom te ih dokumentira. U tom slučaju potrebno je ponovno testirati ispitke.

Kalibracija testa

Za generiranje valjanih rezultata potrebno je dovršiti kalibraciju testa. Jedan pozitivni kalibrator izvodi se u tri ponavljanja svaki put kada se komplet reagensa postavi u sustav Panther. Nakon uspostavljanja, kalibracija je valjana do 24 sata. Softver na sustavu Panther upozorava rukovatelja kada je potrebna kalibracija. Rukovatelj skenira koeficijent kalibracije koji se nalazi na listu crtičnih kodova osnovne serije, koji se isporučuje sa svakim kompletom reagensa.

Tijekom obrade softver sustava Panther automatski provjerava kriterije za prihvaćanje kalibratora. Ako je manje od dva replikata kalibratora valjano, softver automatski poništava ciklus. Uzorci u poništenom ciklusu moraju se ponovno testirati uporabom svježeg pripremljenog kalibratora i svježeg pripremljenih kontrola.

Negativne i pozitivne kontrole

Za dobivanje valjanih rezultata mora se testirati skup kontrola testa. Jedan replikat negativne kontrole, nisko pozitivne kontrole i visoko pozitivne kontrole mora se testirati svaki put kada se komplet reagensa postavi u sustav Panther. Nakon što se uspostave, kontrole su valjane do 24 sata. Softver sustava Panther upozorava rukovatelja kada su potrebne kontrole.

Tijekom obrade softver sustava Panther automatski provjerava kriterije za prihvaćanje kontrola. Da bi se dobili valjani rezultati, negativna kontrola mora dati rezultat „Not Detected” (Nije detektirano), a pozitivne kontrole moraju dati rezultate unutar unaprijed definiranih parametara (nominalna ciljna vrijednost nisko pozitivne kontrole: $2,7 \log_{10}$ IU/mL, nominalna ciljna vrijednost visoko pozitivne kontrole: $4,6 \log_{10}$ IU/mL). Ako bilo koja kontrola ima nevaljani rezultat, softver automatski poništava ciklus. Uzorci u poništenom ciklusu moraju se ponovno testirati uporabom svježeg pripremljenog kalibratora i svježeg pripremljenih kontrola.

Interni kalibrator / interna kontrola

Svaki uzorak sadržava interni kalibrator / internu kontrolu (IC). Tijekom obrade kriteriji prihvatljivosti IC-a automatski se provjeravaju u softveru sustava Panther. Ako rezultat IC-a nije valjan, poništava se rezultat uzorka. Svaki uzorak s nevaljanim rezultatom IC-a mora se ponovno testirati kako bi se dobio valjan rezultat.

Softver sustava Panther osmišljen je za preciznu provjeru obrada kada se postupci izvode slijedeći upute iz ove upute u pakiranju i *Priručnika za rukovatelja sustavom Panther / Panther Fusion*.

Tumačenje rezultata

Sustav Panther automatski utvrđuje koncentraciju DNK-a HVB-a za ispitke i kontrole usporedbom rezultata s kalibracijskom krivuljom. Koncentracije DNK-a HBV-a navode se u IU/mL i $\log_{10}$ IU/mL. Tablica 1 prikazuje tumačenje rezultata. Ako se upotrebljava opcija razrjeđivanja, sustav Panther automatski izračunava koncentraciju DNK-a HBV-a za nerazrijeđeni uzorak množenjem razrijeđene koncentracije s faktorom razrjeđivanja, a razrijeđeni uzorci označit će se kao razrijeđeni.

Napomena: Za razrijeđene ispitke rezultati navedeni kao „Not Detected” (Nije detektirano) ili „<10 detected” (< 10 detektirano) mogu se dobiti razrjeđivanjem ispitka s prethodno navedenom koncentracijom, ali blizu LoD-a (granice detekcije, engl. limit of detection) ili LLoQ-a (donje granice kvantifikacije, engl. lower limit of quantitation). Preporučuje se prikupljanje i testiranje drugog nerazrijeđenog ispitka ako se ne dobije kvantitativni rezultat.

Tablica 1: Tumačenje rezultata

Zabilježeni rezultat testa Aptima HBV Quant assay			Tumačenje
IU/mL	$\log_{10}$ IU/mL ^a		
Nije detektirano	Nije detektirano		DNK HBV-a nije detektiran.
< 10 detektirano	< 1,00		DNK HBV-a je detektiran, ali na razini ispod LLoQ-a.
Od 10 do 1.000.000.000	Od 1,00 do 9,00		Koncentracija DNK-a HBV-a nalazi se unutar linearnog raspona od 10 do 1.000.000.000 IU/mL.
> 1.000.000.000	> 9,00		Koncentracija DNK-a HBV-a viša je od ULoQ-a.
Nevaljano ^b	Nevaljano ^b		Prilikom generiranja rezultata navodi se pogreška. Potrebno je ponovo testirati ispitak.

^a Vrijednost se skraćuje na dvije decimale.

^b Nevaljani rezultati prikazuju se plavim fontom.

Za razrijeđene ispitke čije su nerazrijeđene koncentracije veće od ULoQ-a rezultati će biti prikazani u znanstvenom zapisu.

Tablica 2 u nastavku prikazuje kriterije prihvatljivosti za svaku kontrolu testa Aptima HBV Quant assay.

Napomena: Raspon iskoristivosti naveden u nastavku mijenja se na temelju dodijeljene vrijednosti svake određene serije. Pogledajte dodijeljenu koncentraciju navedenu na listu s crtičnim kodovima kontrola koji se isporučuje sa svakom kutijom kontrola.

Tablica 2: Kriteriji prihvatljivosti za raspon iskoristivosti za kontrole testa Aptima HBV Quant assay

Komponenta	Raspon iskoristivosti za valjane cikluse
Negativna kontrola	n/p
Nisko pozitivna kontrola	+/- 0,55 $\log_{10}$ IU/mL
Visoko pozitivna kontrola	+/- 0,5 $\log_{10}$ IU/mL

Ograničenja

- A. Uporaba ovog testa ograničena je na osoblje koje je osposobljeno za postupak. Nepridržavanje uputa navedenih u ovoj uputi u pakiranju može dovesti do pogrešnih rezultata.
- B. Pouzdani rezultati ovise o primjerenom prikupljanju, transportu, skladištenju i obradi ispitaka.

Analitička učinkovitost

Granica detekcije prema 3. međunarodnom standardu SZO-a

Granica detekcije (LoD) testa definirana je kao koncentracija DNK-a HBV-a koja se detektira s vjerojatnošću od 95 % ili više prema dokumentu EP17-A2 instituta CLSI.¹¹

LoD je utvrđen testiranjem panela 3. međunarodnog standarda SZO-a za DNK virusa hepatitisa B (NIBSC 10/264, genotip A) razrijeđenih u ljudskoj plazmi i serumu u EDTA-u negativnima na HBV. Najmanje 36 replikata svakog razrjeđenja testirano je sa svakom od tri serije reagensa za najmanje 108 replikata po razrjeđenju. Probit analiza provedena je kako bi se generirale predviđene granice detekcije od 95 %. LoD vrijednosti rezultati su serije reagensa s najvišom predviđenom granicom detekcije. LoD za Aptima HBV Quant assay primjenom 3. međunarodnog standarda SZO-a iznosi 4,8 IU/mL za plazmu i 5,9 IU/mL za serum.

Granica detekcije za genotipove HBV-a

LoD je utvrđen testiranjem razrjeđenja kliničkih ispitaka pozitivnih na HBV za genotipove A, B, C, D, E, F, G i H u ljudskoj plazmi i serumu negativnima na HBV. Koncentracije su utvrđene odobrenim testom. Najmanje 24 replikata svakog člana panela testirano je sa svakom od dvije serije reagensa za najmanje 48 replikata po članu panela. Probit analiza provedena je kako bi se generirale predviđene granice detekcije od 95 %. LoD vrijednosti koje prikazuje Tablica 3 rezultati su serije reagensa s najvišom predviđenom granicom detekcije.

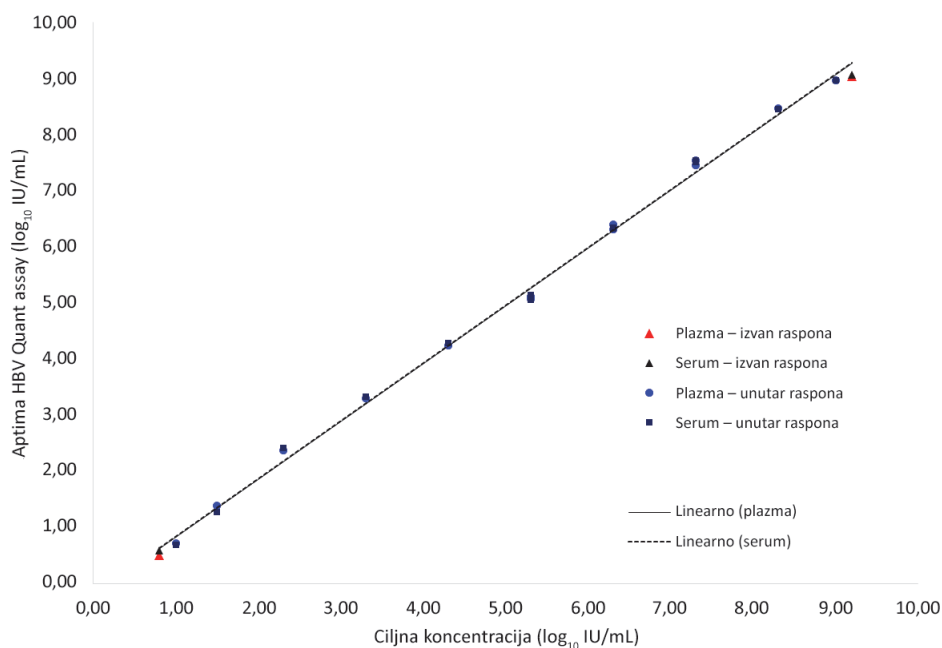
Tablica 3: Granica detekcije (predviđena granica detekcije od 95 %) za sve genotipove HBV-a uporabom kliničkih ispitaka

Genotip	Koncentracija (IU/mL)	
	Plazma	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

Linearni raspon

Linearni raspon utvrđen je testiranjem panela virusa HBV-a genotipa A (od 0,78 log₁₀ IU/mL do 7,30 log₁₀ IU/mL) i plazmidnog DNK-a (od 5,30 log₁₀ IU/mL do 9,18 log₁₀ IU/mL) razrijeđenih u ljudskoj plazmi i serumu negativnima na HBV prema dokumentu EP06-A instituta CLSI.¹²

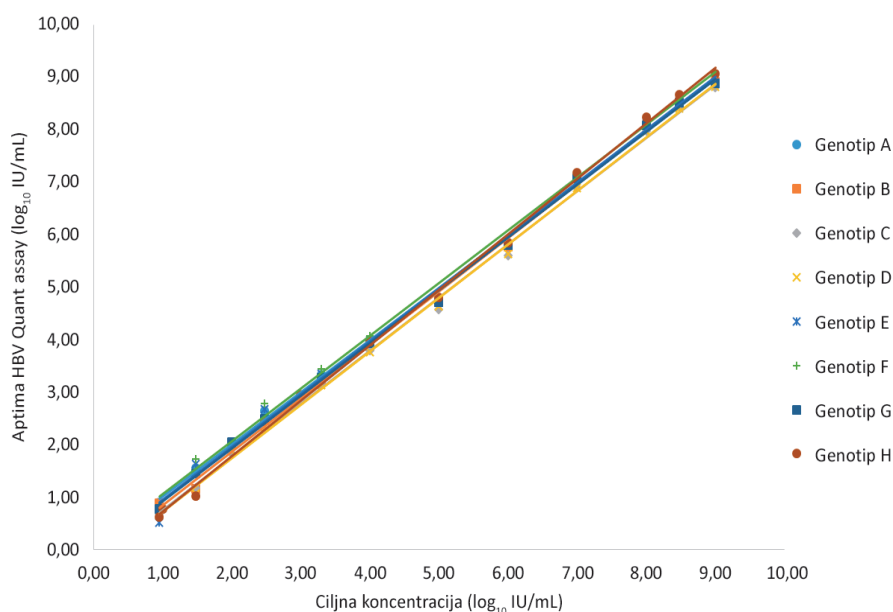
Test Aptima HBV Quant assay pokazao je linearnost u cijelom testiranom rasponu, s gornjom granicom kvantifikacije (ULOQ) od 9 log₁₀ IU/mL, kao što prikazuje Slika 6.



Slika 6. Linearnost u plazmi i serumu

Linearnost za genotipove HBV-a

Linearnost genotipova HBV-a utvrđena je testiranjem pojedinačnih pozitivnih kliničkih uzoraka za genotipove A, E, F, G i H te PEI 1. referentnih panela SZO-a (PEI 5086/08) za genotipove B, C i D. Virus je upotrijebljen za donji raspon testa ($4 \log_{10}$ IU/mL i manje za genotipove B, C i D. Virus je upotrijebljen za donji raspon testa ($4 \log_{10}$ IU/mL i manje za genotipove A do G te $3 \log_{10}$ IU/mL i manje za genotip H). Plazmidni DNK upotrijebljen je za gornji raspon s preklapanjem od $2 \log_{10}$. Razrjeđenja u negativnoj ljudskoj plazmi testirana su za sve genotipove. Linearnost je dokazana u cijelom testiranom rasponu za sve testirane genotipove, kao što prikazuje Slika 7.



Slika 7. Linearni raspon i linearnost (plazma)

Donja granica kvantifikacije primjenom 3. međunarodnog standarda SZO-a

Donja granica kvantifikacije definirana je kao najniža koncentracija pri kojoj se DNK HBV-a pouzdano kvantificira unutar ukupne pogreške, prema dokumentu EP17-A2 instituta CLSI.¹¹ Ukupna pogreška procijenjena je s pomoću sljedeće dvije metode:

Ukupna analitička pogreška (TAE) = |pristranost| + 2 SD i ukupna pogreška (TE) = kvadratni korijen(2) x 2 SD.

Kako bi se osigurale točnost i preciznost mjerenja, ukupna pogreška testa Aptima HBV Quant assay određena je na $1 \log_{10}$ IU/mL (tj. pri LLoQ, razlika između dva mjerenja veća od $1 \log_{10}$ IU/mL statistički je značajna).

LLoQ je utvrđen testiranjem panela 3. međunarodnog standarda SZO-a za DNK virusa hepatitisa B (NIBSC 10/264, genotip A) razrijeđenog u ljudskoj plazmi i serumu negativnima na HBV. Četrdeset i pet (45) replikata svakog razrjeđenja testirano je sa svakom od tri serije reagensa za najmanje 135 replikata po razrjeđenju. Rezultate za tri serije reagensa prikazuje Tablica 4 za plazmu i Tablica 5 za serum. Rezultati za najnižu opaženu koncentraciju koja je zadovoljila cilj točnosti ($TE \leq 1 \log_{10}$ IU/mL i $TE \leq 1 \log_{10}$ IU/mL) s detekcijom > 95 % i više te koji su viši od LoD-a ili jednaki LoD-u zasjenjeni su u obje tablice, a Tablica 6 sadržava njihov sažetak.

Izračunani LLoQ prema 3. međunarodnom standardu SZO-a za virus hepatitisa B iznosi 6 IU/mL ($0,79 \log_{10}$ IU/mL) za plazmu i 8 IU/mL ($0,88 \log_{10}$ IU/mL) za serum, a temelji se na najvišoj izračunanoj koncentraciji među tri serije reagensa u skladu s dokumentom EP17-A2 instituta CLSI. LLoQ je utvrđen za sve genotipove (pogledajte odjeljak *Donja granica kvantifikacije za sve genotipove HBV-a*). Na temelju ovih podataka o genotipovima, ukupni LLoQ za test utvrđen je kao 10 IU/mL.

Tablica 4: Utvrđivanje LLoQ-a primjenom 3. međunarodnog standarda SZO-a za HBV razrijeđen u plazmi

Serijska reagensna	Aptima HBV Quant (IU/mL)	Aptima HBV Quant ($\log_{10}$ IU/mL)	SD ($\log_{10}$ IU/mL)	Priistranost ($\log_{10}$ IU/mL)	Izračunani TE ($\log_{10}$ IU/mL)	Izračunani TAE ($\log_{10}$ IU/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 = standardno odstupanje.

Zasjenjeni su članovi panela koji su ispunili cilj točnosti ($TE \leq 1$ i $TAE \leq 1$), $> LoD$ i $> 95\%$ detekcije za serije reagensa 1, 2 i 3.

Tablica 5: Utvrđivanje LLoQ-a primjenom 3. međunarodnog standarda SZO-a za HBV razrijeđen u serumu

Serijska reagensna	Aptima HBV Quant (IU/mL)	Aptima HBV Quant ($\log_{10}$ IU/mL)	SD ($\log_{10}$ IU/mL)	Priistranost ($\log_{10}$ IU/mL)	Izračunani TE ($\log_{10}$ IU/mL)	Izračunani TAE ($\log_{10}$ IU/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 = standardno odstupanje.

Zasjenjeni su članovi panela koji su ispunili cilj točnosti ($TE \leq 1$ i $TAE \leq 1$), $> LoD$ i $> 95\%$ detekcije za serije reagensa 1, 2 i 3.

Tablica 6: Sažetak izračunanog LLoQ-a primjenom 3. međunarodnog standarda SZO-a za HBV

Serijska reagensna	LLoQ plazme		LLoQ seruma	
	IU/mL	$\log_{10}$ IU/mL	IU/mL	$\log_{10}$ IU/mL
1	5	0,70	4	0,65
2	5	0,69	5	0,72
3	6	0,79	8	0,88

Donja granica kvantifikacije za sve genotipove HBV-a

LLoQ je utvrđen testiranjem razrjeđenja kliničkih ispitaka pozitivnih na HBV za genotipove A, B, C, D, E, F, G i H u ljudskoj plazmi i serumu negativnima na HBV. Dodjeljivanje koncentracije za kliničke ispitke određeno je s pomoću usporednog testa. Ukupno 36 replikata svakog člana panela testirano je sa svakom od dvije serije reagensa za najmanje 72 replikata po članu panela. Rezultate za najnižu opaženu koncentraciju koja zadovoljava cilj točnosti ($TE \leq 1 \log_{10} \text{ IU/mL}$ i $TAE \leq 1 \log_{10} \text{ IU/mL}$) s detekcijom $> 95 \%$ za svaku seriju reagensa prikazuje Tablica 7 za plazmu i Tablica 8 za serum. Tablica 9 sadržava sažetak za najvišu opaženu koncentraciju među serijama reagensa za svaki genotip. Genotip D u serumu imao je najviši LLoQ od 9 IU/mL ($0,96 \log_{10} \text{ IU/mL}$). To je podržalo ukupni LLoQ za test od 10 IU/mL.

Tablica 7: Utvrđivanje LLoQ-a za sve genotipove HBV-a u plazmi

Genotip HBV-a	Serijski reagens	Aptima HBV Quant ^a (IU/mL)	Aptima HBV Quant ^a ($\log_{10} \text{ IU/mL}$)	SD ($\log_{10} \text{ IU/mL}$)	Pristranost ($\log_{10} \text{ IU/mL}$)	Izračunani TE ($\log_{10} \text{ IU/mL}$)	Izračunani TAE ($\log_{10} \text{ IU/mL}$)
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 = standardno odstupanje.

^a Provedeni su ciklusi za dodatne razine, no ti podaci nisu navedeni u tablici.

Tablica 8: Utvrđivanje LLoQ-a za sve genotipove HBV-a u serumu

Genotip HBV-a	Serijska reagensna	Aptima HBV Quant ^a (IU/mL)	Aptima HBV Quant ^a (Log ₁₀ IU/mL)	SD (Log ₁₀ IU/mL)	Priistranost (Log ₁₀ IU/mL)	Izračunani TE (Log ₁₀ IU/mL)	Izračunani TAE (Log ₁₀ IU/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 = standardno odstupanje.

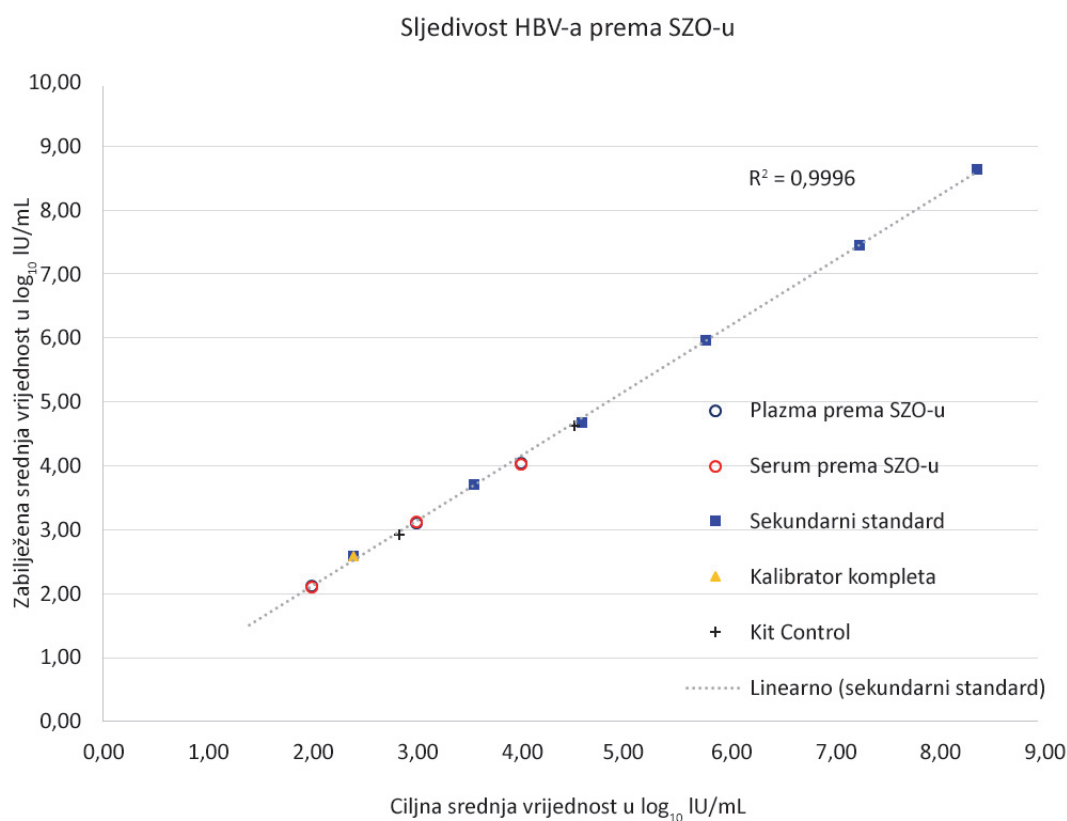
^a Provedeni su ciklusi za dodatne razine, no ti podaci nisu navedeni u tablici.

Tablica 9: Sažetak LLoQ-a za sve genotipove u plazmi i serumu

Genotip	LLoQ plazme		LLoQ seruma	
	IU/mL	Log ₁₀ IU/mL	IU/mL	Log ₁₀ IU/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

Sljedivost do 3. međunarodnog standarda SZO-a

Tijekom razvoja i proizvodnje proizvoda upotrijebljen je niz sekundarnih standarda s poznatim koncentracijama kako bi se uspostavila sljedivost do standarda SZO-a. Koncentracije testirane prema standardu SZO-a za HBV bile su između 2,0 i 4,0 log₁₀ IU/mL, a sekundarni standardi imali su raspon koncentracije od 2,4 do 8,4 log₁₀ IU/mL. Kontrole i kalibratori testa Aptima HBV Quant assay također su testirani zajedno sa sekundarnim standardima i standardom SZO-a. Svi paneli imali su slične rezultate, a bili su linearno raspoređeni u linearnom rasponu testa, kao što prikazuje Slika 8.



Slika 8. Sljedivost između ciljnih koncentracija iz 3. standarda SZO-a za HBV i opažene koncentracije iz testa Aptima HBV Quant assay

Preciznost

Panel za preciznost testa Aptima HBV Quant pripremljen je razrjeđivanjem genotipa A virusa HBV-a i plazmidnog DNK-a HBV-a u kliničkoj plazmi negativnoj na HBV i kliničkom serumu negativnom na HBV (četiri najviša člana panela u svakoj matrici bili su plazmidni DNK). Jedanaest članova panela u svakoj matrici obuhvatilo je raspon testa (ciljne koncentracije od 1,30 log₁₀ IU/mL do 8,90 log₁₀ IU/mL) i jedan rukovatelj testirao ih je u tri ponavljanja po seriji uz uporabu tri serije reagensa na jednom sustavu Panther tijekom tri dana, s dva ciklusa dnevno.

Tablica 10 prikazuje preciznost rezultata testa (u log₁₀ IU/mL) između dana, između serija, između ciklusa, unutar ciklusa i ukupno. Ukupna varijabilnost prvenstveno je posljedica mjerenja unutar ciklusa (tj. slučajne pogreške).

Tablica 10: Preciznost testa Aptima HBV Quant assay

Matrica	Uzorak	N	Srednja koncentracija	Srednja koncentracija	Između serija	Između serija	Između dana	Između dana	Između ciklusa	Između ciklusa	Unutar ciklusa	Unutar ciklusa	Ukupno	Ukupno
			(IU/mL)	(log ₁₀ IU/mL)	SD	Log-normalni CV(%)	SD	Log-normalni CV(%)	SD	Log-normalni CV(%)	SD	Log-normalni CV(%)	SD	Log-normalni CV(%)
Plazma	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
	Plazmidni DNK	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
	Plazmidni DNK	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
	Plazmidni DNK	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
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
	Plazmidni DNK	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
	Plazmidni DNK	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
	Plazmidni DNK	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 = standardno odstupanje.

^a Detektirani replikati s kvantificiranim rezultatom, ukupno detektiranih replikata = 54.^b Jedan replikat imao je nevaljan rezultat.

Log-normalni CV(%) = kvadratni korijen(10^(SD^2 * ln(10)) - 1) * 100

Potencijalno interferirajuće tvari

Procijenjena je osjetljivost testa Aptima HBV Quant assay na interferenciju uzrokovanu povišenim razinama endogenih tvari ili lijekovima koji se obično propisuju osobama zaraženima HBV-om. Testirani su uzorci plazme negativni na HBV i uzorci s dodanim HBV-om do koncentracija od približno 30 IU/mL ($1,48 \log_{10}$ IU/mL) i 20.000 IU/mL ($4,30 \log_{10}$ IU/mL).

Nije uočena interferencija u izvedbi testa u prisutnosti albumina (90 mg/mL), hemoglobina (5 mg/mL), triglicerida (30 mg/mL) ili nekonjugiranog bilirubina (0,2 mg/mL).

Klinički ispiti plazme od pacijenata s povišenim razinama definiranih tvari ili od pacijenata s navedenim bolestima, po deset uzoraka za svaku tvar, koje navodi Tablica 11 testirani su testom Aptima HBV Quant assay. Nije uočena nikakva interferencija u izvedbi testa.

Tablica 11: Testirane vrste kliničkih ispita

Vrste kliničkih ispita	
1	Antinuklearna protutijela (ANA)
2	Reumatoidni faktor (RF)
3	Alkoholna ciroza (AC)
4	Alkoholni hepatitis
5	Nealkoholni hepatitis
6	Autoimuni hepatitis
7	Povišena alanin-aminotransferaza (ALT)
8	Hepatocelularni karcinom (HCC)
9	Multipla skleroza (MS)
10	Sistemijski eritemski lupus (SLE)
11	Hiperglobulinemija
12	Reumatoidni artritis (RA)
13	Anti-Jo1 protutijela (JO-1)
14	Multipli mijelom (MM)
15	Hemoliziran (povišeni hemoglobin)
16	Ikteričan (povišeni bilirubin)
17	Lipemičan (povišeni lipidi)
18	Povišeni proteini

Nije uočena interferencija u izvedbi testa u prisutnosti egzogenih tvari koje navodi Tablica 12 u koncentracijama najmanje tri puta većim od C_{maks} (ljudska plazma).

Tablica 12: Egzogene tvari

Skupni uzorak egzogenih tvari	Testirane egzogene tvari
1	Sakvinavir, ritonavir, amprenavir, indinavir, lopinavir, nelfinavir-mesilat
2	Klaritromicin, valganciklovir-hidroklorid, efavirenz, nevirapin
3	Paroksetin HCl, enfuvirtid, zidovudin, didanozin, abakavir-sulfat
4	Ribavirin, entekavir, adefovir-dipivoksil, tenofovir-dizoproksil-fumarat, lamivudin, ganciklovir, aciklovir
5	Stavudin, ciprofloksacin, fluoksetin, azitromicin, valaciklovir, sertralin, zalcitabin
6	Interferon alfa-2a, interferon alfa-2b, pegilirani interferon alfa-2b

Analitička specifičnost

Potencijalna križna reaktivnost s patogenima koje navodi Tablica 13 procijenjena je u ljudskoj plazmi negativnoj na HBV u prisutnosti ili odsutnosti 30 IU/mL ($1,5 \log_{10}$ IU/mL) i 20.000 ($4,3 \log_{10}$ IU/mL) DNK-a HBV-a. Nije uočena nikakva križna reaktivnost. U prisutnosti patogena nije uočena nikakva interferencija.

Tablica 13: Patogeni testirani za analitičku specifičnost

Mikroorganizam/patogen	Koncentracija		Mikroorganizam/patogen	Koncentracija	
Adenovirus 5	100.000	TCID ₅₀ /mL ^a	<i>Candida albicans</i>	1.000.000	CFU/mL ^e
Humani BK poliomavirus	1.000	TCID ₅₀ /mL	<i>Chlamydia trachomatis</i>	1.000.000	IFU/mL ^f
Citomegalovirus	100.000	TCID ₅₀ /mL	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	1.000.000	CFU/mL
Virus denge 1	10.000	TCID ₅₀ /mL	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1.000.000	CFU/mL
Virus denge 2	10.000	TCID ₅₀ /mL	<i>Propionibacterium acnes</i>	1.000.000	CFU/mL
Virus denge 3	10.000	TCID ₅₀ /mL	<i>Staphylococcus aureus</i>	1.000.000	CFU/mL
Virus denge 4	100.000	TCID ₅₀ /mL	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1.000.000	CFU/mL
Epstein-Barrov virus	100.000	kopija/mL	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1.000.000	CFU/mL
Gripa H1N1	100.000	TCID ₅₀ /mL	<i>Trichomonas vaginalis</i>	1.000.000	CFU/mL
Virus hepatitisa A	100.000	TCID ₅₀ /mL	^a TCID ₅₀ /mL = jedinice zarazne doze kulture tkiva po mL		
Virus hepatitisa C	100.000	IU/mL ^b	^b IU/mL = međunarodne jedinice po mL		
Virus hepatitisa G	100.000	kopija/mL	^c vp/mL = virusne čestice po mL		
Virus humanog herpesa 6B	100.000	kopija/mL	^d LD ₅₀ /mL = smrtonosna doza po mL		
Virus humanog herpesa 8	100.000	kopija/mL	^e CFU/mL = jedinice koje formiraju kolonije po mL		
HIV-1	100.000	IU/mL	^f IFU/mL = jedinice za formiranje inkluzije po mL		
HIV-2	10.000	TCID ₅₀ /mL			
Humani papiloma virus	100.000	kopija/mL			
Virus herpes simplex 1 (HSV-1)	100.000	TCID ₅₀ /mL			
Virus herpes simplex 2 (HSV-2)	100.000	TCID ₅₀ /mL			
Limfotropni virus humanih T-stanica 1 (HTLV-1)	100.000	vp/mL ^c			
Limfotropni virus humanih T-stanica 2 (HTLV-2)	100.000	vp/mL			
Virus japanskog encefalitisa	N/P	N/P			
Virus encefalitisa Murray Valley	2.000	LD ₅₀ /mL ^d			
Parvovirus B19	100.000	IU/mL			
Virus rubeole	10.000	TCID ₅₀ /mL			
Virus encefalitisa St. Louis	100.000	TCID ₅₀ /mL			
Virus vakcinije	1.000	TCID ₅₀ /mL			
Virus Zapadnog Nila	100.000	TCID ₅₀ /mL			
Virus žute groznice	100.000	TCID ₅₀ /mL			

Ekvivalencija matrice

Sto osamnaest (118) skupova uzoraka usklađenih epruveta za prikupljanje krvi (epruveta za serum, ACD, K2 EDTA, K3 EDTA, PPT, SST) procijenjeno je na ekvivalenciju matrice. Među njima su 44 skupa bila prirodno pozitivna na infekciju HBV-om, a 74 skupa bila su negativna na HBV s dodanim virusom HBV-a. Tablica 14 prikazuje korelaciju za svaku vrstu epruvete za prikupljanje krvi, mjerenu s pomoću epruvete za prikupljanje seruma kao usporedbe.

Tablica 14: Studija ekvivalencije matrice

Epruveta za prikupljanje krvi	Demingova regresija	95 %-tni CI nagiba		95 %-tni CI presjeka		R ²	Srednja razlika (Log ₁₀)
		Donja granica	Gornja granica	Donja granica	Gornja granica		
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 = interval pouzdanosti.

Razrjeđivanje uzorka s pomoću razrjeđivača za ispitke Aptima (1:3)

Kako bi se procijenila točnost detekcije DNK-a HBV-a u uzorcima razrijeđenima razrjeđivačem za ispitke Aptima, uzorci koji su se nalazili u linearnom rasponu razrijeđeni su u omjeru 1:3 s pomoću razrjeđivača za ispitke Aptima (npr. 240 µL uzorka pomiješanog s 480 µL razrjeđivača za ispitke Aptima). Svaki je uzorak testiran nerazrijeđen i razrijeđen (1:3) u tri ponavljanja. Testiranje je provedeno uporabom jedne serije analitičkih reagensa na dva sustava Panther uz dvije serije razrjeđivača za ispitke Aptima. Razlike između prosječne zabilježene koncentracije u nativnoj matrici (faktor razrjeđivanja primijenjen na rezultat razrijeđenog uzorka) i prosječne koncentracije u razrjeđivaču za ispitke Aptima prikazuje Tablica 15 za plazmu i Tablica 16 za serum. Koncentracije uzoraka točno su izračunane u razrijeđenim uzorcima.

Tablica 15: Sažetak usporedbe matrice razrjeđenja ispitaka plazme u omjeru 1:3

Matrica plazme Prosječna zabilježena koncentracija (Log ₁₀ IU/mL) n = 9	Razrjeđivač Prosječna zabilježena koncentracija (Log ₁₀ IU/mL) n = 18	Razlika Razrjeđivač iz matrice plazme (Log ₁₀ IU/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.

Tablica 16: Sažetak usporedbe matrice razrjeđenja ispitaka seruma u omjeru 1:3

Matrica seruma Prosječna zabilježena koncentracija (Log ₁₀ IU/mL) n = 9	Razrjeđivač Prosječna zabilježena koncentracija (Log ₁₀ IU/mL) n = 18	Razlika Razrjeđivač iz matrice seruma (Log ₁₀ IU/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.

Razrjeđivanje uzorka s pomoću razrjeđivača za ispitke Aptima (1:100)

Kako bi se procijenila točnost detekcije DNK-a HBV-a u uzorcima plazme ili seruma razrijeđenima razrjeđivačem za ispitke Aptima, osam pojedinačnih ispitaka plazme i osam pojedinačnih ispitaka seruma s dodanim virusom HBV-a ciljajući na između 6 i 8 log₁₀ IU/mL, zajedno s osam pojedinačnih ispitaka plazme i osam pojedinačnih ispitaka seruma s dodanim plazmidnim DNK-om HBV-a ciljajući na 9,16 log₁₀ IU/mL, testirano je u 5 ponavljanja. Razrjeđivanje u omjeru 1:100 provedeno je s jednim dijelom uzorka i 99 dijelova razrjeđivača za ispitke Aptima neposredno prije testiranja. Testiranje je provedeno uporabom jedne serije analitičkih reagensa na dva sustava Panther uz dvije serije razrjeđivača za ispitke Aptima. Razlika između prosječne zabilježene koncentracije u nativnoj matrici (faktor razrjeđivanja primijenjen na rezultat razrijeđenog uzorka) i prosječne koncentracije u razrjeđivaču za

ispitke Aptima izračunana je za svaki skup uzoraka, kao što prikazuje Tablica 17 za plazmu i Tablica 18 za serum.

Tablica 17: Sažetak usporedbe matrice razrjeđenja ispitaka plazme u omjeru 1:100

Matrica plazme Prosječna zabilježena koncentracija (Log ₁₀ IU/mL) n = 5	Razrjeđivač Prosječna zabilježena koncentracija (Log ₁₀ IU/mL) n = 10	Razlika Razrjeđivač iz matrice plazme (Log ₁₀ IU/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 S dodanim plazmidnim DNK-om.

Tablica 18: Sažetak usporedbe matrice razrjeđenja ispitaka seruma u omjeru 1:100

Matrica seruma Prosječna zabilježena koncentracija (Log ₁₀ IU/mL) n = 5	Razrjeđivač Prosječna zabilježena koncentracija (Log ₁₀ IU/mL) n = 10	Razlika Razrjeđivač iz matrice seruma (Log ₁₀ IU/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 S dodanim plazmidnim DNK-om.

Potvrda LLoQ-a u ispitcima razrijeđenima u razrjeđivaču za ispitke Aptima

LLoQ testa Aptima HBV Quant assay potvrđen je kliničkim ispitcima genotipa A HBV-a razrijeđenima u razrjeđivaču za ispitke Aptima. Ispitci su pripremljeni u ljudskoj plazmi i serumu negativnima na HBV u koncentracijama od 21, 30 i 45 IU/mL. Svaki je panel razrijeđen u omjeru 1:3 u razrjeđivaču za ispitke Aptima neposredno prije testiranja kako bi se dobile konačne koncentracije od približno 7, 10 i 15 IU/mL. Ukupno 36 replikata svakog člana panela testirano je jednom serijom reagensa tijekom tri dana. Potvrđen je LLoQ ≤ 10 IU/mL za HBV plazmu i serum razrijeđene u razrjeđivaču za ispitke Aptima, kao što prikazuje Tablica 19.

Tablica 19: Potvrda LLoQ-a – uzorci u razrjeđivaču za ispitke Aptima

Matrica	% detekcije	Aptima HBV Quant (IU/mL)	Aptima HBV Quant (Log ₁₀ IU/ml)	SD (Log ₁₀ IU/ml)	Pristranost (Log ₁₀ IU/ml)	Izračunani TE (Log ₁₀ IU/ml)	Izračunani TAE (Log ₁₀ IU/ml)
Plazma	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

Preciznost razrijeđenih uzoraka

Panel za preciznost testa Aptima HBV Quant pripremljen je razrjeđivanjem plazme pozitivne na HBV i plazmidnog DNK-a HBV-a u kliničkoj plazmi i serumu negativnima na HBV. Pozitivni paneli razrijeđeni su u razrjeđivaču za ispitke Aptima. Testirao ih je jedan rukovatelj u pet ponavljanja po ciklusu uz uporabu tri serije razrjeđivača za ispitke Aptima na jednom sustavu Panther tijekom tri dana testiranja, s dva ciklusa dnevno.

Tablica 20 prikazuje preciznost rezultata testa (u SD log₁₀ IU/mL) za tri serije razrjeđivača za ispitke Aptima. Ukupna varijabilnost bila je $\leq 0,15$ SD za sve članove panela i serije razrjeđivača.

Tablica 20: Preciznost panela razrijeđenih u razrjeđivaču za ispitke Aptima

Matrica	Ciljna koncentracija u log ₁₀ IU/mL	Razrjeđivanje	Razrjeđivač za ispitke serije 1 (n = 10)		Razrjeđivač za ispitke serije 2 (n = 10)		Razrjeđivač za ispitke serije 3 (n = 10)		Kombinirane serije (n = 30)	
			Prosjeak u log ₁₀ IU/mL	SD	Prosjeak u log ₁₀ IU/mL	SD	Prosjeak u log ₁₀ IU/mL	SD	Prosjeak u log ₁₀ IU/mL	SD
Plazma	3,30	Nerazrijeđeno	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	Nerazrijeđeno	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	Nerazrijeđeno	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	Nerazrijeđeno	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	Nerazrijeđeno	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	Nerazrijeđeno	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 = standardno odstupanje.

^a Isključen je 1 replikat (iznad raspona računanja).

^b Isključena su 2 replikata (iznad raspona računanja).

Prijenos

Kako bi se utvrdilo da sustav Panther umanjuje rizik od lažno pozitivnih rezultata koji proizlaze iz prijenosne kontaminacije, provedena je studija s pomoću obogaćenih panela na trima sustavima Panther. Prijenos je procijenjen s pomoću uzoraka plazme obogaćenih DNK-om HBV-a s visokim titrom ($8 \log_{10}$ IU/mL) raspoređenih između uzoraka negativnih na HBV u uzorku šahovske ploče. Testiranje je provedeno u petnaest ciklusa. Ukupna stopa prijenosa iznosila je 0,14 % (1/705).

Obnovljivost

Obnovljivost je procijenjena na sustavu Panther na tri vanjske lokacije u SAD-u. Na svakoj lokaciji testiranje su provela dva rukovatelja. Svaki je rukovatelj izvodio dva ciklusa dnevno tijekom tri dana uz uporabu tri serije reagensa tijekom testiranja. Svaki je ciklus obuhvaćao tri replikata svakog člana panela. Ukupno je testirano 108 replikata svakog člana panela.

Obnovljivost je testirana s pomoću članova panela pripremljenih korištenjem plazme negativne na HBV. Pozitivni članovi panela bili su pozitivni na genotip HBV-a A ili C. Koncentracije DNK-a HBV-a nalazile su se u linearnom rasponu testa.

Tablica 21 prikazuje obnovljivost i preciznost rezultata testa za svakog pozitivnog člana panela između lokacija, između rukovatelja/dana, između serija, između ciklusa, unutar ciklusa i ukupno.

Koeficijent varijacije izračunan je s pomoću sljedeće jednadžbe, pri čemu je σ^2 varijanca uzorka podataka nakon $\log_{10}$ transformacije.

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

Za sve članove panela pozitivne na HBV vrijednosti slaganja bile su 100 %.

Tablica 21: Obnovljivost razina DNK-a HBV-a testa Aptima HBV Quant assay na sustavu Panther u pozitivnim članovima panela

GT	N	Zabilježena srednja vrijednost		Postotni doprinos ukupnoj varijanci SD (%CV)					Ukupna varijanca SD (%CV)
		IU/mL	Log ₁₀ IU/mL	Između lokacija	Između rukovatelja/dana ^a	Između serija	Između ciklusa	Unutar ciklusa	
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)
C	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)
	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-normalni koeficijent varijacije, GT = genotip, SD = standardno odstupanje.

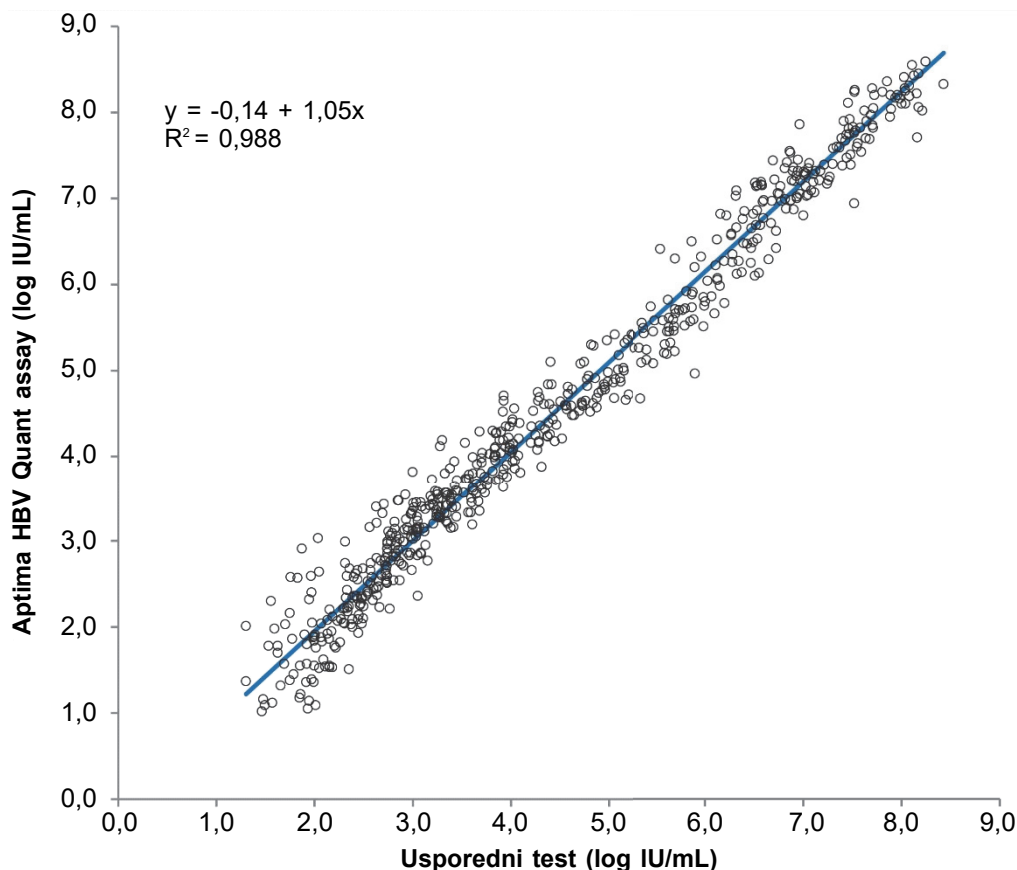
Napomena: Varijabilnost nekih čimbenika može biti brojčano negativna. To se može dogoditi ako je varijabilnost zbog tih čimbenika vrlo mala. U tim se slučajevima SD i CV prikazuju kao 0.

^a „Između rukovatelja” može se pomiješati sa stavkom „Između dana”; stoga su procjene za stavke „Između rukovatelja” i „Između dana” objedinjene u „Između rukovatelja/dana”.

Klinička učinkovitost

Korelacija metoda

Učinkovitost testa Aptima HBV Quant assay procijenjena je u odnosu na usporedni test s oznakom CE koji je odobrilo kanadsko Ministarstvo zdravstva testiranjem nerazrijeđenih kliničkih ispitaka pacijenata zaraženih HBV-om. Za linearnu regresiju upotrijebljeno je ukupno 614 kliničkih ispitaka unutar linearnog raspona zajedničkog za oba testa, kao što prikazuje Slika 9.



Slika 9. Korelacija između testa Aptima HBV Quant assay i usporednog testa

Klinička korisnost

Ispitivanje je osmišljeno kako bi se procijenila sposobnost testa Aptima HBV Quant assay da predvidi virološke, biokemijske i serološke ishode kliničke korisnosti 48 tjedana nakon početka terapije. Ispitci su prospektivno prikupljeni od ispitanika s kroničnom infekcijom HBV-om koji su započeli monoterapiju entekavirom ili tenofovirom kao dio standardnog liječenja.

Od 331 uključenog ispitanika, 86 ispitanika nije bilo moguće procijeniti zbog povlačenja, prekida, ranog prekida liječenja, rezultata u 48. tjednu koji su nedostajali ili početnih virusnih opterećenja DNK-om HBV-a koja su bila niska ili su nedostajala. Preostalih 245 ispitanika bilo je moguće procijeniti za barem jedan ishod kliničke korisnosti, a uključivali su 126 HBeAg(+) i 119 HBeAg(-) ispitanika. Tablica 22 prikazuje demografska i početna klinička obilježja ispitanika koji su se mogli procijeniti. Demografska distribucija ispitanika u ovom ispitivanju bila je u skladu s distribucijom pacijenata s kroničnom infekcijom HBV-om u SAD-u.¹³ Podaci HBeAg(+) i HBeAg(-) ispitanika analizirani su zasebno.

Tablica 22: Demografski podaci i početna klinička obilježja ispitanika koji su se mogli procijeniti

Obilježja	Ukupno	
Ukupno, N	N	245
Entekavir	n (%)	94 (38,4)
Tenofovir	n (%)	151 (61,6)
Spol, n (%)	Muški	154 (62,9)
	Ženski	91 (37,1)
Dob (godine)	Srednja vrijednost $\pm$ SD	43,5 $\pm$ 13,63
	Medijan	44,0
	Raspon	18 – 83
Dobna kategorija (godine), n (%)	18 – 29	40 (16,3)
	30 – 49, n (%)	120 (49,0)
	50 – 70, n (%)	80 (32,7)
	> 70, n (%)	5 (2,0)
Etnička pripadnost, n (%)	Hispanoamerikanci ili Latinoamerikanci	7 (2,9)
	Nisu Hispanoamerikanci ili Latinoamerikanci	236 (96,3)
	Nepoznato/odbijeno	2 (0,8)
Rasa ^a , n (%)	Bijelci	89 (36,3)
	Crnci ili Afroamerikanci	16 (6,5)
	Azijci	132 (53,9)
	Američki Indijanci / domorodački stanovnici Aljaske	0 (0,0)
	Domorodački stanovnici Havaja / pacifičkih otoka	6 (2,4)
	Ostalo	1 (0,4)
	Nepoznato/odbijeno	1 (0,4)
Genotip, 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)
	Nepoznato	65 (26,5)
Status liječenja HBV-a, n (%)	Prethodno liječeni	27 (11,0)
	Neliječeni	218 (89,0)
Prethodno liječenje lijekovima, 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)
	Ostalo ^b	5 (18,5)
Prethodni ishod liječenja, n (%)	Neuspješno	1 (3,7)
	Uspješno	0 (0,0)
	Prekinuto zbog drugih razloga	26 (96,3)

Tablica 22: Demografski podaci i početna klinička obilježja ispitanika koji su se mogli procijeniti (nastavak)

Obilježja	Ukupno	
Serološki status HBsAg, n (%)	Pozitivno/reaktivno	210 (85,7)
	Nije obavljeno	35 (14,3)
Status ciroze, n (%)	Cirotični	26 (10,6)
	Necirotični	201 (82,0)
	Nije obavljeno	18 (7,3)
Virusno opterećenje HBV-a (log ₁₀ IU/mL)	Srednja vrijednost ± SD	6,3 ± 1,93
	Medijan	6,4
	Raspon	3 – 9
ALT (U/L)	Srednja vrijednost ± SD	102,4 ± 175,97
	Broj iznad ULN-a ^c	177 (85,9)

^a Ispitanici mogu navesti više rasa.^b Razne kombinacije navedenih specifičnih lijekova.^c Gornja granica normalnog raspona (ULN) za alanin-aminotransferazu (ALT) bila je 30 U/L za muškarce i 19 U/L za žene.

Predviđanje odgovora na antivirusnu terapiju

Klinička korisnost testa Aptima HBV Quant assay procijenjena je za osobe liječene tenofovirom i entekavirom. Nema dostupnih podataka o kliničkoj korisnosti testa kada se upotrebljavaju druge antivirusne terapije za HBV.

Definicije:

Rani ishodi virološkog odgovora

Virološki odgovor u 12. i 24. tjednu = DNK HBV-a < 10 IU/mL (< LLoQ) kako je procijenjeno testom Aptima HBV Quant assay na sustavu Panther

Alternativni virološki odgovor u 12. tjednu = smanjenje DNK-a HBV-a u odnosu na početnu vrijednost $\geq 2 \log_{10}$

Alternativni virološki odgovor u 24. tjednu = DNK HBV-a < 2.000 IU/mL (za HBeAg+) ili < 50 IU/mL (za HBeAg-)

Ishodi kliničke korisnosti

Virološki odgovor u 48. tjednu = DNK HBV-a < 10 IU/mL (< LLoQ) kako je procijenjen odobrenim kvantitativnim testom za HBV

Alternativni virološki odgovor u 48. tjednu = DNK HBV-a < 50 IU/mL kako je procijenjen odobrenim kvantitativnim testom za HBV

Biokemijski odgovor = normalizacija rezultata ALT testa u 48. tjednu (ALT < 30 U/L za muškarce i < 19 U/L za žene)

Serološki odgovor = gubitak statusa HBeAg (negativni rezultati HBeAg) u 48. tjednu

Mjere povezanosti i prediktivne vrijednosti

Pozitivna prediktivna vrijednost (PPV) = istinski pozitivno / (istinski pozitivno + lažno pozitivno) ili vjerojatnost odgovora u 48. tjednu (za ishod kliničke korisnosti koji se procjenjuje) u ispitanika s virološkim odgovorom u ranoj vremenskoj točki

Negativna prediktivna vrijednost (NPV) = istinski negativno / (istinski negativno + lažno negativno) ili vjerojatnost izostanka odgovora u 48. tjednu (za ishod kliničke korisnosti koji se procjenjuje) u ispitanika s izostankom virološkog odgovora u ranoj vremenskoj točki

Omjer izgleda (OR) = (istinski pozitivno × istinski negativno) / (lažno pozitivno × lažno negativno)

Predviđanje virološkog odgovora u 48. tjednu, definirano kao DNK HBV-a < 10 IU/mL

U ovom je ispitivanju primarna definicija virološkog odgovora bila DNK HBV-a < 10 IU/mL, a ta je definicija upotrijebljena i za rani virološki odgovor u 12. i 24. tjednu, kao i za virološki odgovor u 48. tjednu. Procjenjivani su povezanost između ranih viroloških odgovora u 12. i 24. tjednu te ishodi kliničke korisnosti u 48. tjednu (virološki odgovor, biokemijski odgovor i serološki odgovor).

Predviđanje virološkog odgovora u 48. tjednu

Tablica 23 prikazuje sažetak povezanosti između virološkog odgovora u 48. tjednu te virološkog odgovora u 12. i 24. tjednu.

Rani virološki odgovori u 12. i 24. tjednu, kao prediktori virološkog odgovora u 48. tjednu, razlikovali su se ovisno o tjednu i liječenju.

Tablica 23: PPV, NPV i omjer izgleda za virološki odgovor predviđen ranim virološkim odgovorom tijekom liječenja: virološki odgovor u 48. tjednu definiran kao < 10 IU/mL

Status HBeAg	Tjedan ranog virološkog odgovora	Liječenje	PPV (%)		NPV (%)		OR
			Procjena (95 %-tni CI)	n/N	Procjena (95 %-tni CI)	n/N	Procjena (95 %-tni 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)
		Sve	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)
		Sve	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)
		Sve	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)
		Sve	87,6 (82,7, 92,6)	78/89	62,5 (44,8, 78,0)	15/24	11,82 (4,30, 34,94)

CI = 95 %-tni interval pouzdanosti vjerojatnosti profila.

^a Sjenčanje označava statističku značajnost omjera izgleda.

^b Za izračun omjera izgleda i njihovih intervala pouzdanosti, svim je ćelijama dodano 0,5 kad je god barem jedna ćelija bila nula.

Predviđanje biokemijskog odgovora u 48. tjednu

Tablica 24 prikazuje sažetak povezanosti između biokemijskog odgovora u 48. tjednu te virološkog odgovora u 12. i 24. tjednu.

Vrijednost ranih viroloških odgovora u 12. i 24. tjednu kao prediktora biokemijskog odgovora u 48. tjednu razlikovala se ovisno o tjednu i liječenju.

Tablica 24: PPV, NPV i omjer izgleda za biokemijski odgovor predviđen ranim virološkim odgovorom tijekom liječenja: virološki odgovor u 48. tjednu definiran kao < 10 IU/mL

Status HBeAg	Tjedan ranog virološkog odgovora	Liječenje	PPV (%)		NPV (%)		OR
			Procjena (95 %-tni CI)	n/N	Procjena (95 %-tni CI)	n/N	Procjena (95 %-tni 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)
		Sve	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)
		Sve	60,0 (36,6, 80,9)	9/15	63,6 (58,2, 70,0)	42/66	2,62 (0,84, 8,70)
	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)
		Sve	48,5 (36,0, 60,9)	16/33	66,7 (54,5, 78,6)	22/33	1,88 (0,70, 5,20)
HBeAg(-)	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)
		Sve	44,2 (37,8, 50,8)	23/52	78,6 (55,1, 95,0)	11/14	2,91 (0,80, 13,98)

CI = 95 %-tni interval pouzdanosti vjerojatnosti profila, NC = ne može se izračunati.

^a Za izračun omjera izgleda i njihovih intervala pouzdanosti svim je ćelijama dodano 0,5 kad je god barem jedna ćelija bila nula.

Predviđanje serološkog odgovora u 48. tjednu

Tablica 25 prikazuje sažetak povezanosti između serološkog odgovora u 48. tjednu te virološkog odgovora u 12. i 24. tjednu.

Vrijednost ranih viroloških odgovora u 12. i 24. tjednu kao prediktora serološkog odgovora u 48. tjednu razlikovala se ovisno o tjednu i liječenju.

Tablica 25: PPV, NPV i omjer izgleda za serološki odgovor predviđen ranim virološkim odgovorom tijekom liječenja: virološki odgovor u 48. tjednu definiran kao < 10 IU/mL

Status HBeAg	Tjedan ranog virološkog odgovora	Liječenje	PPV (%)		NPV (%)		OR
			Procjena (95 %-tni CI)	n/N	Procjena (95 %-tni CI)	n/N	Procjena (95 %-tni 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)
		Sve	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)
		Sve	25,0 (8,5, 43,6)	5/20	85,4 (82,5, 89,4)	88/103	1,96 (0,57, 5,94)

CI = 95 %-tni interval pouzdanosti vjerojatnosti profila.

^a Za izračun omjera izgleda i njihovih intervala pouzdanosti svim je ćelijama dodano 0,5 kad je god barem jedna ćelija bila nula.

Predviđanje virološkog odgovora u 48. tjednu, definirano kao DNK HBV-a < 50 IU/mL (alternativna definicija)

Također su procijenjene alternativne definicije ranog virološkog odgovora (12. i 24. tjedan) i virološkog odgovora u 48. tjednu (pogledati prethodno navedene definicije alternativnog odgovora).

Tablica 26 (virološki odgovor), Tablica 27 (biokemijski odgovor) i Tablica 28 (serološki odgovor) prikazuju sažetak povezanosti između ishoda kliničke korisnosti i virološkog odgovora u 12. i 24. tjednu, uz primjenu tih alternativnih definicija virološkog odgovora.

Tablica 26: PPV, NPV i omjer izgleda za virološki odgovor predviđen ranim virološkim odgovorom tijekom liječenja: virološki odgovor u 48. tjednu definiran kao < 50 IU/mL

Status HBeAg	Tjedan ranog virološkog odgovora	Liječenje	PPV (%)		NPV (%)		OR
			Procjena (95 %-tni CI)	n/N	Procjena (95 %-tni CI)	n/N	Procjena (95 %-tni 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)
		Sve	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)
		Sve	70,5 (63,5, 77,9)	55/78	93,3 (84,0, 98,3)	42/45	33,47 (10,81, 148,13)
	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)
		Sve	96,3 (94,4, 98,7)	105/109	60,0 (21,1, 93,3)	3/5	39,37 (5,24, 376,77)
HBeAg(-)	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)
		Sve	96,9 (93,8, 99,2)	93/96	23,5 (7,0, 39,8)	4/17	9,54 (1,91, 53,22)

CI = 95 %-tni interval pouzdanosti vjerojatnosti profila, NC = ne može se izračunati.

^a Sjenčanje označava statističku značajnost omjera izgleda.

^b Za izračun omjera izgleda i njihovih intervala pouzdanosti svim je ćelijama dodano 0,5 kad je god barem jedna ćelija bila nula, osim ako nije bilo odgovora u 48. tjednu ili nije bilo izostanka odgovora u 48. tjednu, što je rezultiralo navođenjem omjera izgleda kao NC.

Tablica 27: PPV, NPV i omjer izgleda za biokemijski odgovor predviđen ranim virološkim odgovorom tijekom liječenja: virološki odgovor u 48. tjednu definiran kao < 50 IU/mL

Status HBeAg	Tjedan ranog virološkog odgovora	Liječenje	PPV		NPV		OR
			Procjena (95 %-tni CI)	n/N	Procjena (95 %-tni CI)	n/N	Procjena (95 %-tni 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)
		Sve	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)
		Sve	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)
		Sve	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)
		Sve	42,6 (36,4, 48,9)	23/54	75,0 (48,8, 93,7)	9/12	2,23 (0,59, 10,87)

CI = 95 %-tni interval pouzdanosti vjerojatnosti profila.

^a Sjenčanje označava statističku značajnost omjera izgleda.

^b Za izračun omjera izgleda i njihovih intervala pouzdanosti, svim je ćelijama dodano 0,5 kad je god barem jedna ćelija bila nula.

Tablica 28: PPV, NPV i omjer izgleda za serološki odgovor predviđen ranim virološkim odgovorom tijekom liječenja: virološki odgovor u 48. tjednu definiran kao < 50 IU/mL

Status HBeAg	Tjedan ranog virološkog odgovora	Liječenje	PPV		NPV		OR
			Procjena (95 %-tni CI)	n/N	Procjena (95 %-tni CI)	n/N	Procjena (95 %-tni 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)
		Sve	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)
		Sve	24,4 (20,0, 28,4)	19/78	97,8 (90,4, 99,9)	44/45	14,17 (2,77, 259,25)

CI = 95 %-tni interval pouzdanosti vjerojatnosti profila.

^a Sjenčanje označava statističku značajnost omjera izgleda.

^b Za izračun omjera izgleda i njihovih intervala pouzdanosti svim je ćelijama dodano 0,5 kad je god barem jedna ćelija bila nula.

Zaključak

Sveukupno gledano, rezultati pokazuju da test Aptima HBV Quant assay može kvantificirati razine DNK-a HBV-a na početku i tijekom liječenja kako bi se pomoglo u procjeni virusnog odgovora na liječenje. Ovo je ispitivanje pokazalo da su se rani virološki odgovori u 12. i 24. tjednu, kao prediktori virološkog odgovora u 48. tjednu, razlikovali ovisno o tjednu i liječenju.

Test Aptima HBV Quant assay može poslužiti kao pomoć u liječenju pacijenata s kroničnom infekcijom HBV-om koji se podvrgavaju antivirusnoj terapiji za HBV.

Bibliografija

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

Kontaktne podatke i povijest revizija



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



Hologic BV
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgija

Australski sponzor

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

Za adresu e-pošte i telefonski broj za tehničku podršku te korisničku službu za određenu zemlju posjetite www.hologic.com/support.

Ozbiljne štetne događaje do kojih je došlo u vezi s proizvodom u Europskoj uniji potrebno je prijaviti proizvođaču i nadležnom tijelu države-članice u kojoj se korisnik i/ili pacijent nalazi.

Hologic, Aptima, Panther, Panther Fusion i/ili pridruženi logotipi zaštitni su znakovi ili registrirani zaštitni znakovi društva Hologic, Inc. i/ili njegovih podružnica u SAD-u i/ili drugim zemljama. Svi drugi zaštitni znakovi koji se mogu pojaviti u ovoj uputi u pakiranju vlasništvo su svojih vlasnika.

Svi drugi zaštitni znakovi koji se mogu pojaviti u ovoj uputi u pakiranju vlasništvo su svojih vlasnika.

Ovaj proizvod može biti obuhvaćen jednim ili više patenata SAD-a koji su navedeni na web stranici www.hologic.com/patents.

© 2017 – 2025. Hologic, Inc. Sva prava pridržana.

AW-28215-2501 rev. 003

2025-10

Povijest revizija	Datum	Opis
AW-28215-2501 rev. 001	Srpanj 2025.	Početno izdanje novih uputa za uporabu za test Aptima HBV AW-28215 rev. 001 za regulatornu usklađenost s Uredbom o in vitro dijagnostičkim medicinskim proizvodima (IVDR), koje će zamijeniti AW-13182.
AW-28215-2501 rev. 002	Kolovoz 2025.	Ažuriranja zaštitnih znakova kako bi se ispunili zahtjevi BSI-ja.
AW-28215-2501 rev. 003	Listopad 2025.	- Dodana opcija klackalice epruvete. - Ažuriran sigurnosno-tehnički list.