

Aptima® HBV Quant Assay

Návod k použití
Pro diagnostické použití *in vitro*
Pouze pro export z USA

Obecné informace	2
Určené použití	2
Shrnutí a vysvětlení testu	2
Principy postupu	3
Souhrn údajů o bezpečnosti a funkční způsobilosti	3
Výstrahy a preventivní opatření	4
Požadavky na uchovávání reagensů a zacházení s nimi	9
Odběr a uchovávání vzorků	10
Vzorky vložené v systému Panther	13
Přeprava klinických vzorků	13
Systém Panther	14
Reagencie a dodávané materiály	14
Požadované materiály, které jsou dodávány samostatně	15
Volitelné materiály	16
Postup testu na systému Panther	17
Poznámky k postupu	21
Kontrola kvality	22
Kalibrace testu	22
Negativní a pozitivní kontroly	22
Vnitřní kalibrátor / vnitřní kontrola	22
Interpretace výsledků	23
Omezení	24
Analytická funkční způsobilost	25
Mez detekce s použitím třetího mezinárodního standardu WHO	25
Mez detekce u jednotlivých genotypů HBV	25
Lineární rozsah	26
Linearita u jednotlivých genotypů HBV	27
Dolní mez stanovitelnosti s použitím třetího mezinárodního standardu WHO	27
Dolní mez stanovitelnosti u jednotlivých genotypů HBV	29
Návaznost na třetí mezinárodní standard WHO	31
Preciznost	31
Potenciálně interferující látky	33
Analytická specifita	35
Rovnocennost matic	36
Ředění vzorků roztokem k ředění vzorků Aptima (1:3)	36
Ředění vzorků roztokem k ředění vzorků Aptima (1:100)	37
Ověření LLoQ u vzorků ředěných roztokem k ředění vzorků Aptima	39
Preciznost u ředěných vzorků	39
Křížová kontaminace	40
Reprodukovatelnost	40
Klinická funkční způsobilost	42
Korelace metod	42
Klinické využití	42
Literatura	51
Kontaktní údaje a historie revizí	52

Obecné informace

Určené použití

Test Aptima® HBV Quant je test amplifikace nukleových kyselin *in vitro* ke kvantifikaci DNA viru hepatitidy B (HBV) v lidské plazmě a séru na plně automatizovaném systému Panther™.

Plazma může být připravena v kyselině ethylendiamintetraoctové (EDTA), antikoagulačním roztoku citrát-dextróza (ACD) a zkumavkách na přípravu plazmy (PPT). Sérum může být připraveno v sérových zkumavkách a zkumavkách k separaci séra (SST). Vzorky se testují za použití plně automatizovaného systému Panther ke zpracování vzorku, amplifikaci a kvantifikaci. Vzorky obsahující HBV genotypy A, B, C, D, E, F, G a H jsou pro kvantifikaci v testu validovány.

Test Aptima HBV Quant je určen k použití jako pomůcka při léčbě pacientů s chronickými infekcemi HBV, kteří podstupují antivirovou léčbu HBV. Test může být použit k měření koncentrace DNA HBV na začátku léčby a v jejím průběhu jako pomůcka při hodnocení virové odpovědi na léčbu. Výsledky testu Aptima HBV Quant musejí být interpretovány v kontextu všech relevantních klinických a laboratorních nálezů.

Test Aptima HBV Quant není určen k použití jako screeningový test na přítomnost DNA HBV v krvi nebo krevních produktech ani jako diagnostický test k potvrzení přítomnosti infekce HBV.

Shrnutí a vysvětlení testu

Virus hepatitidy B, jeden z několika virů, o nichž je známo, že způsobují hepatitidu, byl připisován celoživotní infekci HBV, cirhóze jater, rakovině jater, selhání jater a případně smrti. Světová zdravotnická organizace (WHO) uvádí HBV jako jednu z nejběžnějších infekčních chorob na světě. Prevalence infekce HBV a způsob přenosu se po celém světě značně liší. Podle celosvětových odhadů v roce 2019 žilo s chronickou infekcí HBV 296 milionů lidí.¹ Infekce HBV zvyšuje riziko jaterní dekompenzace, cirhózy a hepatocelulárního karcinomu (HCC). Celosvětová mortalita se pohybuje v rozmezí od 0,5 do 1,2 milionu úmrtí ročně a jedná se o příčinu 5–10 % transplantací jater.^{2,3} Bez vhodné léčby, intervence a sledování po diagnóze se pětiletý kumulativní výskyt cirhózy pohybuje v rozmezí 8–20 %. Po rozvoji cirhózy je roční riziko hepatocelulárního karcinomu 2–5 %.⁴

HBV obsahuje kruhový, částečně dvouvláknový DNA genom s přibližně 3200 páry bází, který kóduje čtyři částečně se překrývající otevřené čtecí rámce (ORF, open reading frames) exprimující polymerázu, povrchový protein, vnitřní protein (precore/core) a proteiny z regionu X. Polymerázový ORF překrývá ostatní tři ORF a kóduje klíčový virový replikační protein – polymerázu. Povrchový ORF exprimuje tři proteiny, které jsou nezbytné k morfogenezi viru, vstupu viru do hepatocytů a provokování imunitní reakce hostitele.⁵ HBV má 8 genotypů (A–H), které se obvykle vyskytují v odlišných zeměpisných oblastech.

Vzhledem k dynamické povaze chronických infekcí hepatitidou B je obzvlášť důležité průběžně sledovat koncentrace DNA HBV a alaninaminotransferázy (ALT).⁶ U většiny osob infikovaných HBV, které podstupují léčbu antivirovými látkami, je cílem potlačení DNA HBV. Osvědčeným nástrojem ke sledování virové zátěže DNA HBV v průběhu léčby jsou kvantitativní stanovení nukleových kyselin s širokým lineárním rozsahem.

Principy postupu

Test Aptima HBV Quant je test amplifikace nukleových kyselin *in vitro*, který používá technologii transkripční mediované amplifikace (TMA) v reálném čase v systému Panther ke kvantifikaci DNA HBV genotypů A, B, C, D, E, F, G a H. Test Aptima HBV Quant se zaměřuje na dvě vysoce konzervované oblasti v polymerázových genech a genech povrchových proteinů (pro zvýšenou toleranci k potenciálním mutacím). Tento test je standardizován podle třetího mezinárodního standardu WHO pro virus hepatitidy B (kód NIBSC: 10/264).

Test Aptima HBV Quant zahrnuje tři hlavní kroky, které probíhají v jediné zkumavce v systému Panther: záchyt cíle, amplifikace cíle metodou TMA a detekce produktů amplifikace (amplikonů) pomocí fluorescenčně značených sond (indikátory).

Během záchytu cíle je ze vzorků izolována virová DNA. Na vzorek je použit detergent, aby došlo k solubilizaci virové schránky, denaturaci proteinů a uvolnění genomické DNA viru. Zachycené oligonukleotidy hybridizují do vysoce konzervovaných oblastí DNA HBV, jsou-li v testovacím vzorku přítomny. Hybridizovaný cíl je poté zachycen na magnetické mikročástečky, které jsou odděleny od vzorku v magnetickém poli. Kroky promývání odstraní z reakční zkumavky nadbytečné složky.

Amplifikace cíle probíhá prostřednictvím TMA, což je metoda transkripční mediované amplifikace nukleové kyseliny využívající dva enzymy, reverzní transkriptázu a RNA polymerázu T7 Moloneyho viru myši leukemie (MMLV). Reverzní transkriptáza slouží k vytvoření kopie DNA (obsahující promotorovou sekvenci RNA polymerázy T7) cílové sekvence. RNA polymeráza T7 vytváří vícečetné kopie amplikonu RNA z templátu kopie DNA. Test Aptima HBV Quant využívá metodu TMA k amplifikaci dvou oblastí genomu HBV (gen polymerázy a gen povrchových proteinů). Amplifikace těchto oblastí je dosaženo pomocí specifických primerů navržených k amplifikaci genotypů HBV A, B, C, D, E, F, G a H. Přístup s duální cílovou oblastí s designem primerů zaměřených na vysoce konzervované regiony zajišťuje přesnou kvantifikaci DNA HBV.

Detekce se provádí pomocí indikátorů z jednovláknové nukleové kyseliny, které jsou přítomné během amplifikace cíle a v reálném čase specificky hybridizují na amplikon. Každý indikátor obsahuje fluorofor a zhášec. Když není indikátor hybridizován na amplikon, zhášec je v těsné blízkosti fluoroforu a potlačuje fluorescenci. Po navázání indikátoru na amplikon se zhášec posune dále od fluoroforu a po excitaci zdrojem světla začne emitovat signál specifické vlnové délky. Čím více indikátorů hybridizuje k amplikonu, tím větší fluorescenční signál je generován. Čas potřebný k tomu, aby fluorescenční signál dosáhl určené prahové hodnoty, je úměrný počáteční koncentraci HBV. Každá reakce má svůj vnitřní kalibrátor / vnitřní kontrolu (IC), která kontroluje variabilitu ve zpracování vzorku, amplifikaci a detekci. Koncentrace vzorku je stanovena softwarem systému Panther pomocí signálů HBV a IC pro každou reakci a jejich porovnáním s kalibračními údaji.

Souhrn údajů o bezpečnosti a funkční způsobilosti

Souhrn údajů o bezpečnosti a funkční způsobilosti (Summary of Safety and Performance – SSP) je k dispozici v evropské databázi zdravotnických prostředků (Eudamed), kde je propojen s příslušnými identifikátory prostředku (Basic UDI-DI). Souhrn SSP k testu Aptima HBV Quant můžete vyhledat pomocí základního jedinečného identifikátoru prostředku (BUDI): 54200455DIAGAPTHBVAf.

Výstrahy a preventivní opatření

- A. Pro diagnostické použití *in vitro*.
- B. Pro profesionální použití.
- C. Před provedením testu si pečlivě přečtěte celou příbalovou informaci a *příručku obsluhy systému Panther / Panther Fusion™*. Snížíte tak riziko výskytu neplatných výsledků.
- D. Reagencie pro zesílení cíle (TER) je korozivní. Viz informace v bezpečnostním listu na konci tohoto oddílu.

Související s laboratoří

- E. UPOZORNĚNÍ: Kontroly tohoto testu obsahují lidskou plazmu. Z testování pomocí postupů schválených Úřadem pro kontrolu potravin a léčiv v USA vyplývá, že plazma nereaguje na povrchový antigen hepatitidy B (HBsAg), protilátky proti HCV, protilátky proti HIV-1 a HIV-2 a antigen HIV. Kromě toho plazma při testování pomocí schválených testů nukleových kyselin nereaguje na DNA HBV, RNA HCV a RNA HIV-1. Všechny materiály pocházející z lidské krve je nutné považovat za potenciálně infekční a je nutné s nimi manipulovat dle univerzálních bezpečnostních opatření.^{7,8,9}
- F. Tento test mohou používat pouze pracovníci s náležitým školením v použití testu Aptima HBV Quant a v manipulaci s potenciálně infekčními materiály. Pokud dojde k rozliti, ihned proveďte dezinfekci podle příslušných postupů daného pracoviště.
- G. Používejte pouze dodané nebo určené jednorázové laboratorní vybavení.
- H. Dodržujte běžná laboratorní bezpečnostní opatření. Nepipetujte ústy. Ve vyhrazených pracovních prostorech nejezte, nepijte ani nekuřte. Při manipulaci se vzorky a reagensiemi soupravy používejte jednorázové rukavice bez pudru, ochranné brýle a laboratorní plášť. Po manipulaci se vzorky a reagensiemi soupravy si pečlivě omyjte ruce.
- I. Pracovní povrchy, pipety a další vybavení pravidelně dekontaminujte 2,5% až 3,5% (0,35 mol až 0,5 mol) roztokem chlornanu sodného.
- J. Veškeré materiály, které přišly do styku se vzorky a reagensiemi, zlikvidujte v souladu s místními a národními předpisy.^{7,8,9,10} Důkladně vyčistěte a vydezinfikujte všechny pracovní povrchy.
- K. Kontroly obsahují azid sodný jako konzervační látku. K přenosu reagensie nepoužívejte kovové trubky. Pokud roztoky obsahující azid sodný likvidujete do kanalizačního systému, je nutné je naředit a spláchnout velkým množstvím tekoucí vody. Tato bezpečnostní opatření by měla zabránit nahromadění látky v kovových trubkách, kde by pak hrozil výbuch.
- L. Zásady správné praxe v molekulárních laboratořích zahrnují monitorování prostředí. Pro monitorování prostředí laboratoře se doporučuje následující postup:
 - 1. Zajistěte si vatovou tyčinku a pár alikvotačních zkumavek na vzorky Aptima (Specimen Aliquot Tube, SAT).
 - 2. Každou zkumavku SAT příslušným způsobem označte.
 - 3. Každou zkumavku SAT naplňte 1 ml roztoku k ředění vzorků Aptima.
 - 4. Chcete-li odebrat vzorky povrchu, vatovou tyčinku lehce navlhčete deionizovanou vodou bez nukleáz.
 - 5. Otřete požadovaný povrch vertikálním pohybem shora dolů. Otočte tyčinku přibližně o jednu polovinu otočky a zároveň provádějte stěr z místa.

6. Okamžitě uložte vzorek stěru do zkumavky a jemným otáčením tyčinkou v ředícím roztoku extrahujte případné materiály získané stěrem. Přitiskněte tyčinku ke straně transportní zkumavky s cílem vyextrahovat co nejvíce tekutiny. Zlikvidujte tyčinku a zkumavku uzavřete.
7. Zopakujte kroky u zbývajících vzorků stěru.
8. Provedte molekulární analýzu stěru.

Související se vzorky

- M. Vzorky mohou být infekční. Při provádění testu dodržujte univerzální bezpečnostní opatření.^{7,8,9} Způsoby manipulace a likvidace musejí odpovídat místním předpisům.¹⁰ Tento test mohou používat pouze pracovníci řádně vyškolení v používání testu Aptima HBV Quant a v manipulaci s infekčními materiály.
- N. Chcete-li zabezpečit integritu vzorku, dodržujte při přepravě vzorků řádné podmínky uchovávání. Stabilita vzorků za jiných než doporučených přepravních podmínek nebyla hodnocena.
- O. Při manipulaci se vzorky zabraňte křížové kontaminaci. Zejména dávejte pozor, aby nedošlo ke kontaminaci rozstřikováním aerosolů při uvolňování nebo otevírání vzorků. Vzorky mohou obsahovat extrémně vysoké koncentrace organismů. Zajistěte, aby se jednotlivé nádoby na vzorky vzájemně nedotýkaly, a použité materiály při likvidaci nepřenášejte nad otevřenými nádobami. Pokud se vzorku dotknete, vyměňte si rukavice.

Související s testem

- P. Soupravu reagensů, kalibrátor ani kontroly nepoužívejte po datu použitelnosti.
- Q. Nezaměňujte, nemíchejte ani nekombinujte reagenty analýzy ze souprav s různými čísly hlavní šarže. Kapaliny testu mohou pocházet z různých šarží. Kontroly a kalibrátor mohou pocházet z různých šarží.
- R. Zabraňte mikrobiální a nukleázové kontaminaci reagensů.
- S. Všechny reagenty testu uzavřete a uchovávejte při uvedené teplotě. Při nesprávném uchovávání reagensů testu může být negativně ovlivněna funkční způsobilost testu. Další informace naleznete v částech *Požadavky na uchovávání reagensů a zacházení s nimi* a *Postup testu na systému Panther*.
- T. Pokud nebude výslovně uvedeno jinak, nekombinujte žádné reagenty ani kapaliny testu. Nedolévejte reagenty ani kapaliny. Systém Panther ověřuje hladiny reagensů.
- U. Zamezte kontaktu TER s kůží, očima a sliznicemi. Pokud dojde ke kontaktu s touto reagensí, opláchněte postižené místo vodou. Pokud dojde k rozlití této reagensie, zředte ji vodou a postupujte podle příslušných postupů na pracovišti.
- V. Některé reagenty v této sadě jsou označeny symboly s informacemi o nebezpečí.

Poznámka: Informace o nebezpečí jsou v souladu s klasifikacemi bezpečnostních listů (Safety Data Sheet, SDS) EU. Informace o nebezpečích specifické pro váš region najdete v bezpečnostním listu specifickém pro daný region v knihovně bezpečnostních listů (Safety Data Sheet Library) na adrese www.hologicsds.com. Další informace o symbolech najdete v legendě symbolů na adrese <https://www.hologic.com/package-inserts>.

Informace o nebezpečí pro Severní Ameriku	
	Kontroly sady HBV VL <i>Lidské sérum / lidská plazma, 95–100 %</i> <i>Azid sodný, < 1 %</i> — —
	Reagencie pro zesílení cíle <i>Lithium Hydroxide, Monohydrate, 5–10 %</i> — — NEBEZPEČÍ H302 – Zdraví škodlivý při požití. H314 – Způsobuje těžké poleptání kůže a poškození očí. P264 – Po manipulaci důkladně omyjte tvář, ruce a exponované části kůže. P270 – Při používání tohoto výrobku nejezte, nepijte ani nekuřte. P330 – Vypláchněte ústa. P501 – Odstraňte obsah/obal ve schváleném zařízení na likvidaci odpadu. P260 – Nevdechujte prach/dým/plyn/mlhu/páry/aerosoly. P280 – Používejte ochranné rukavice / ochranný oděv / ochranné brýle / obličejový štít. P301 + P330 + P331 – PŘI POŽITÍ: Vypláchněte ústa. NEVYVOLÁVEJTE zvracení. P303 + P361 + P353 – PŘI STYKU S KÚŽÍ (nebo s vlasy): Veškeré kontaminované části oděvu okamžitě svlékněte. Opláchněte kůži vodou [nebo osprchujte]. P304 + P340 – PŘI VDECHNUTÍ: Přeneste osobu na čerstvý vzduch a ponechte ji v poloze usnadňující dýchání. P305 + P351 + P338 – PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: Několik minut opatrně vyplachujte vodou. Vyjměte kontaktní čočky, jsou-li nasazeny a pokud je lze vyjmout snadno. Pokračujte ve vyplachování. P321 – Odborné ošetření (viz dodatečné pokyny týkající se první pomoci uvedené na tomto štítku). P363 – Kontaminovaný oděv před opětovným použitím vyperte. P405 – Skladujte uzamčené. P301 + P317 – PŘI POŽITÍ: Vyhledejte lékařskou pomoc. P316 – Okamžitě vyhledejte lékařskou pomoc.
Informace o nebezpečí pro EU	
 	Amplifikační reagencie <i>Magnesium Chloride 60–65 %</i> — — H412 – Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky. P273 – Zabraňte uvolnění do životního prostředí. P501 – Odstraňte obsah/obal ve schváleném zařízení na likvidaci odpadu.
	Enzymová reagencie <i>HEPES 1–5 %</i> <i>Triton X-100 1–5 %</i> — — H412 – Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky. P273 – Zabraňte uvolnění do životního prostředí. P501 – Odstraňte obsah/obal ve schváleném zařízení na likvidaci odpadu.

—	Rekonstituční roztok pro enzymy <i>Glycerol, 20–25 %</i> <i>Triton X-100, 5–10 %</i> <i>HEPES 1–5 %</i> — H412 – Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky. P273 – Zabraňte uvolnění do životního prostředí. P501 – Odstraňte obsah/obal ve schváleném zařízení na likvidaci odpadu.
—	Promotorová reagencie <i>Magnesium Chloride 60–65 %</i> — H412 – Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky. P273 – Zabraňte uvolnění do životního prostředí. P501 – Odstraňte obsah/obal ve schváleném zařízení na likvidaci odpadu.
—	Reagencie pro záchyt cíle <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 – Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky. P273 – Zabraňte uvolnění do životního prostředí. P501 – Odstraňte obsah/obal ve schváleném zařízení na likvidaci odpadu.
—	Kalibrátory sady HBV VL <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 – Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky. P273 – Zabraňte úniku do životního prostředí. P501 – Obsah/obal zlikvidujte ve schváleném zařízení na likvidaci odpadu.
  	Kontroly sady HBV VL <i>Lidské sérum / lidská plazma, 95–100 %</i> <i>Azid sodný, < 1 %</i> — NEBEZPEČÍ H300 – Při požití může způsobit smrt. H410 – Vysoce toxický pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky. P264 – Po manipulaci důkladně omyjte tvář, ruce a exponované části kůže. P273 – Zabraňte uvolnění do životního prostředí. P301 + P310 – PŘI POŽITÍ: Okamžitě volejte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÍ STŘEDISKO nebo lékaře. P321 – Odborné ošetření (viz dodatečné pokyny týkající se první pomoci uvedené na tomto štítku). P330 – Vypláchněte ústa. P391 – Uniklý produkt seberte.

Reagencie pro zesílení cíle*Lithium Hydroxide, Monohydrate, 5–10 %***NEBEZPEČÍ**

H302 – Zdraví škodlivý při požití.

H314 – Způsobuje těžké poleptání kůže a poškození očí.

P264 – Po manipulaci důkladně omyjte tvář, ruce a exponované části kůže.

P270 – Při používání tohoto výrobku nejezte, nepijte ani nekuřte.

P330 – Vypláchněte ústa.

P501 – Odstraňte obsah/obal ve schváleném zařízení na likvidaci odpadu.

P260 – Nevdechujte prach/dým/plyn/mlhu/páry/aerosoly.

P280 – Používejte ochranné rukavice/ochranný oděv/ochranné brýle/obličejový štít.

P301 + P330 + P331 – PŘI POŽITÍ: Vypláchněte ústa. NEVYVOLÁVEJTE zvracení.

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

P304 + P340 – PŘI VDECHNUTÍ: Přeneste osobu na čerstvý vzduch a ponechte ji v poloze usnadňující dýchání.

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

P310 – Okamžitě volejte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÍ STŘEDISKO nebo lékaře.

P321 – Odborné ošetření (viz doplňující pokyny pro první pomoc na tomto štítku).

P363 – Kontaminovaný oděv před opětovným použitím vyperte.

P405 – Skladujte uzamčené.

Požadavky na uchovávání reagensů a zacházení s nimi

- A. V následující tabulce jsou uvedeny podmínky uchovávání a stabilita reagensů, kontrol a kalibrátoru.

Reagencie	Uchovávání v neotevřeném stavu	Otevřená souprava (po rekonstituci)	
		Uchovávání	Stabilita
Amplifikační reagencie qHBV	2 °C až 8 °C		
Rekonstituční roztok pro amplifikaci qHBV	2 °C až 8 °C	2 °C až 8 °C	30 dní ^a
Enzymová reagencie qHBV	2 °C až 8 °C		
Rekonstituční roztok pro enzymy qHBV	2 °C až 8 °C	2 °C až 8 °C	30 dní ^a
Promotorová reagencie qHBV	2 °C až 8 °C		
Rekonstituční roztok promotoru qHBV	2 °C až 8 °C	2 °C až 8 °C	30 dní ^a
Reagencie pro záchyt cíle qHBV	2 °C až 8 °C	2 °C až 8 °C	30 dní ^a
qHBV PCAL (pozitivní kalibrátor)	-15 °C až -35 °C	15 °C až 30 °C	Jednorázová lahvička Použijte do 24 hodin
qHBV NC CONTROL – (negativní kontrola)	-15 °C až -35 °C	15 °C až 30 °C	Jednorázová lahvička Použijte do 24 hodin
qHBV LPC CONTROL + (slabě pozitivní kontrola)	-15 °C až -35 °C	15 °C až 30 °C	Jednorázová lahvička Použijte do 24 hodin
qHBV HPC CONTROL + (vysoce pozitivní kontrola)	-15 °C až -35 °C	15 °C až 30 °C	Jednorázová lahvička Použijte do 24 hodin
Reagencie pro zesílení cíle qHBV	15 °C až 30 °C	15 °C až 30 °C	30 dní ^a

^a Po vyjmutí reagensů ze systému Panther je nutné je ihned vrátit zpět do prostředí s vhodnou skladovací teplotou.

- B. Zlikvidujte veškeré nepoužité rekonstituované reagensy, reagensy pro záchyt cíle (TCR) a reagensy pro zesílení cíle (TER) po 30 dnech nebo po uplynutí data použitelnosti hlavní šarže podle toho, která situace nastane dříve.
- C. Reagensy uložené v systému Panther mají stabilitu v přístroji 72 hodin. Reagensy lze vložit do systému Panther až 8 krát. Systém Panther zapíše každé vložení reagensů.
- D. Po rozmrazení kalibrátoru musí být roztok čirý, tzn. nesmí být kalný a nesmí obsahovat precipitáty. Dbejte na to, aby se sraženiny rozpustily. Kalibrátor nepoužívejte, pokud vznikl gel, sraženina nebo zákal.
- E. Promotorová reagencie a rekonstituovaná promotorová reagencie jsou fotosenzitivní. Při uchovávání a přípravě k použití chraňte tyto reagensy před světlem.
- F. Reagensy pro zesílení cíle qHBV musí být před použitím uloženy při teplotě 15 °C až 30 °C.

Odběr a uchovávání vzorků

Poznámka: Všechny vzorky je nutné považovat za potenciálně infekční. Postupujte podle univerzálních bezpečnostních opatření.

Poznámka: Dbejte opatrnosti, aby při manipulaci se vzorky nedošlo ke křížové kontaminaci. Při likvidaci například nepřenášejte použitý materiál nad otevřenými zkumavkami.

Poznámka: K uchovávání se doporučují pouze plastové sekundární zkumavky.

Je možné použít vzorky plné krve odebrané do následujících skleněných nebo plastových zkumavek:

- Zkumavky obsahující kyselinu ethylendiamintetraoctovou (EDTA) nebo antikoagulační roztok kyselina citronová, citrát a dextróza (ACD)
- Zkumavky na přípravu plazmy
- Sérové zkumavky
- Zkumavky na separaci séra

Před dalším zpracováním séra počkejte, dokud se nevytvoří sraženina.

A. Odběr vzorků

Plnou krev můžete uchovávat až 24 hodin při teplotě od 2 °C do 30 °C, před zpracováním však bude nutné separovat plazmu odstředěním v primární zkumavce. Podle pokynů výrobce použité zkumavky plazmu nebo sérum oddělte od erytrocytů. Plazmu nebo sérum lze v systému Panther testovat v primární zkumavce nebo přenést do sekundární zkumavky, například alikvotační zkumavky na vzorky Aptima®. K získání reakčního objemu 500 µl je minimální objem plazmy nebo séra 1200 µl v případě primární odběrové zkumavky a 700 µl v případě sekundární zkumavky. V následující tabulce jsou uvedeny požadavky na mrtvý objem pro jednotlivé typy primární a sekundární zkumavky.

Zkumavka (velikost a typ)	Mrtvý objem v systému Panther
Alikvotační zkumavka Aptima (SAT)	0,2 ml
12 × 75 mm	0,5 ml
13 × 100 mm	0,5 ml
13 × 100 mm s gelem	0,3 ml
16 × 100 mm s gelem	0,7 ml

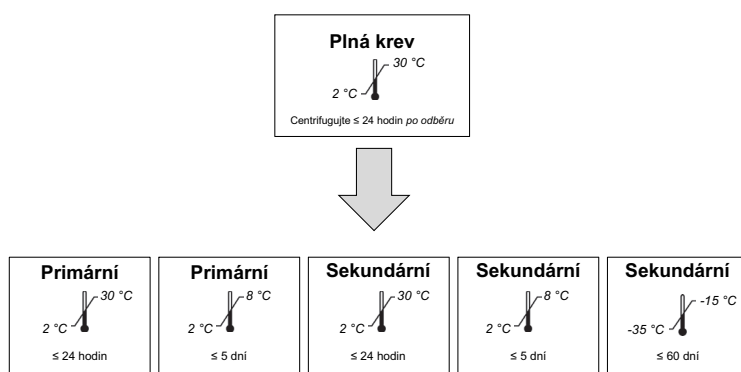
Pokud neprovedete testování ihned, plazmu i sérum je možné uchovávat v souladu s níže uvedenými specifikacemi. Pokud plazmu nebo sérum přenesete do SAT nebo sekundární zkumavky, můžete je zmrazit na teplotu -20 °C. Přípustné jsou nanejvýš 3 cykly zmrazení a rozmrazení. Nezmrazujte vzorky ve zkumavkách EDTA, ACD ani v primárních zkumavkách k odběru séra.

B. Podmínky uchovávání vzorků

1. Vzorky plazmy EDTA a ACD

Plnou krev lze uchovávat při teplotě 2 °C až 30 °C a je nutné ji centrifugovat do 24 hodin od odběru vzorků. Plazmu lze poté uchovávat za jedné z následujících podmínek:

- V primární odběrové zkumavce nebo sekundární zkumavce při teplotě 2 °C až 30 °C po dobu až 24 hodin,
- v primární odběrové zkumavce nebo sekundární zkumavce při teplotě 2 °C až 8 °C po dobu až 5 dnů nebo
- v sekundární zkumavce při teplotě -20 °C po dobu až 60 dnů.

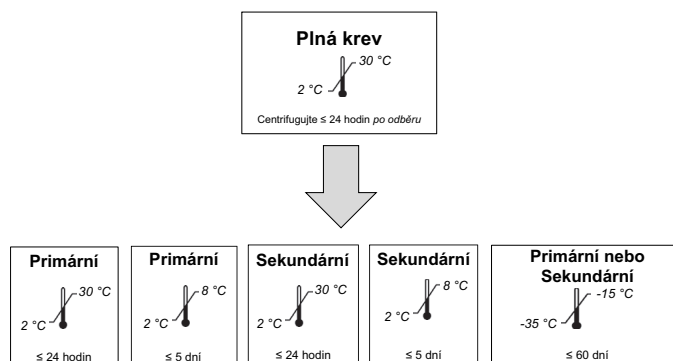


Obrázek 1. Podmínky uchovávání pro zkumavky EDTA/ACD

2. Vzorky PPT

Plnou krev lze uchovávat při teplotě 2 °C až 30 °C a je nutné ji centrifugovat do 24 hodin od odběru vzorků. Plazmu lze poté uchovávat za jedné z následujících podmínek:

- V PPT nebo sekundární zkumavce při teplotě 2 °C až 30 °C po dobu až 24 hodin,
- v PPT nebo sekundární zkumavce při teplotě 2 °C až 8 °C po dobu až 5 dnů,
- v PPT nebo sekundární zkumavce při teplotě -20 °C po dobu až 60 dnů.

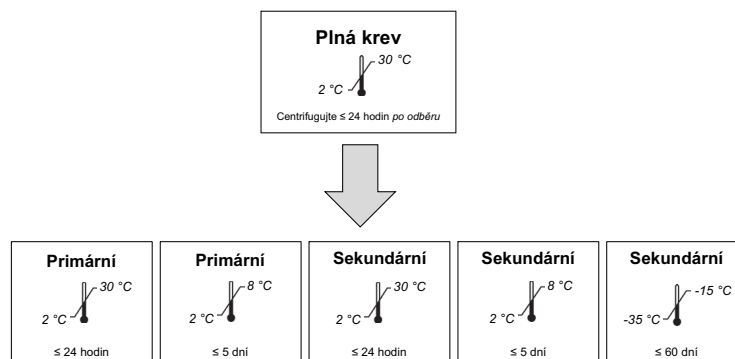


Obrázek 2. Podmínky uchovávání pro zkumavky PPT

3. Vzorky v sérové zkumavce

Plnou krev lze uchovávat při teplotě 2 °C až 30 °C a je nutné ji centrifugovat do 24 hodin od odběru vzorků. Sérum lze poté uchovávat za jedné z následujících podmínek:

- V sérové zkumavce nebo sekundární zkumavce při teplotě 2 °C až 30 °C po dobu až 24 hodin,
- v sérové zkumavce nebo sekundární zkumavce při teplotě 2 °C až 8 °C po dobu až 5 dnů nebo
- v sekundární zkumavce při teplotě -20 °C po dobu až 60 dnů.

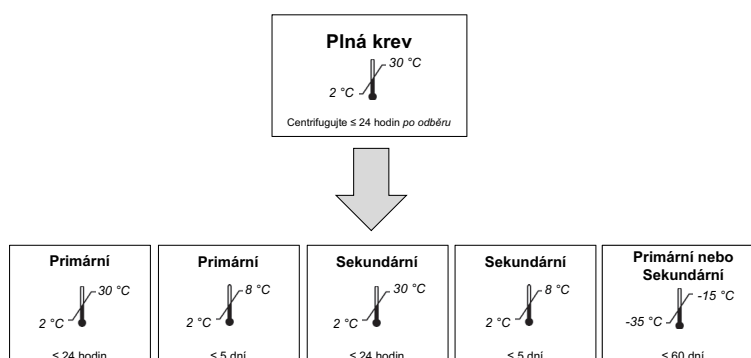


Obrázek 3. Podmínky uchování pro sérové zkumavky

4. Vzorky SST

Plnou krev lze uchovávat při teplotě 2 °C až 30 °C a je nutné ji centrifugovat do 24 hodin od odběru vzorků. Sérum lze poté uchovávat za jedné z následujících podmínek:

- V SST nebo sekundární zkumavce při teplotě 2 °C až 30 °C po dobu až 24 hodin,
- v SST nebo sekundární zkumavce při teplotě 2 °C až 8 °C po dobu až 5 dnů,
- v SST nebo sekundární zkumavce při teplotě -20 °C po dobu až 60 dnů.



Obrázek 4. Podmínky uchování pro SST

C. Dlouhodobé uchování ve zmrazeném stavu

Vzorky plazmy nebo séra lze uchovávat při teplotě -70 °C po dobu až 60 dnů v SAT.

D. Ředění vzorků plazmy a séra

Vzorky plazmy a séra mohou být pro testování v systému Panther zředěny v SAT nebo sekundární zkumavce. Další informace najdete níže v části *Postup testu na systému Panther*, krok E.5.

Poznámka: Pokud je vzorek naředěn, měl by se otestovat ihned po ředění. Naředěný vzorek nezmrazujte.

Vzorky vložené v systému Panther

Vzorky mohou být v systému Panther ponechány neuzavřené po dobu až 8 hodin. Vzorky je možné vyjmout ze systému Panther a otestovat, pokud doba, po kterou jsou vloženy v přístroji, nepřekročí 8 hodin před pipetováním vzorku systémem Panther.

Přeprava klinických vzorků

Dodržujte podmínky uchovávání vzorků uvedené v části *Odběr a uchovávání vzorků*.

Poznámka: Vzorky musí být přepravovány v souladu s platnými národními, mezinárodními a místními nařízeními pro přepravu.

Systém Panther

Níže jsou uvedeny reagencie testu Aptima HBV Quant pro systém Panther. Vedle názvu reagencie jsou rovněž uvedeny symboly k identifikaci reagencí.

Reagencie a dodávané materiály

Souprava testu Aptima HBV Quant, 100 testů, (kat. č. PRD-03424)

(1 krabička testu, 1 kalibrační souprava, 1 sada kontrol a 1 krabička reagencie pro zesílení cíle)

Další kalibrátory a kontroly lze objednat samostatně. Viz jednotlivá katalogová čísla níže.

Krabička testu Aptima HBV Quant

(po přijetí uchovávejte při teplotě 2 °C až 8 °C)

Symbol	Komponenta	Množství
A	Amplifikační reagencie qHBV <i>Neinfekční nukleové kyseliny vysušené v pufrovaném roztoku.</i>	1 lahvička
E	Enzymová reagencie qHBV <i>Vysušená reverzní transkriptáza a RNA polymeráza v roztoku pufrovaném HEPES.</i>	1 lahvička
PRO	Promotorová reagencie qHBV <i>Neinfekční nukleové kyseliny vysušené v pufrovaném roztoku.</i>	1 lahvička
AR	Rekonstituční roztok pro amplifikaci qHBV <i>Vodný roztok obsahující glycerol a konzervační látky.</i>	1 × 7,2 ml
ER	Rekonstituční roztok pro enzymy qHBV <i>Roztok pufrovaný HEPES obsahující surfaktant a glycerol.</i>	1 × 5,8 ml
PROR	Rekonstituční roztok promotoru qHBV <i>Vodný roztok obsahující glycerol a konzervační látky.</i>	1 × 4,5 ml
TCR	Reagencie pro záchyt cíle qHBV <i>Nukleové kyseliny v pufrovaném solném roztoku obsahujícím pevnou fázi, neinfekční nukleové kyseliny a vnitřní kalibrátor.</i>	1 × 72,0 ml
	Rekonstituční objímky	3
	List s čárovým kódem hlavní šarže	1 list

Kalibrační souprava Aptima HBV Quant (kat. č. PRD-03425)

(po přijetí uchovávejte při teplotě -15 °C až -35 °C)

Symbol	Komponenta	Množství
PCAL	Pozitivní kalibrátor qHBV <i>Plazmidy DNA v pufrovaném roztoku</i>	5 × 2,5 ml
	Štítek s čárovým kódem kalibrátoru	—

Sada kontrol Aptima HBV Quant (kat. č. PRD-03426)
(po přijetí uchovávejte při teplotě -15 °C až -35 °C)

Symbol	Komponenta	Množství
NC	Negativní kontrola qHBV <i>HBV negativní defibrinovaná lidská plazma obsahující gentamicin a 0,2% azid sodný jako konzervanty.</i>	5 × 0,8 ml
LPC	Slabě pozitivní kontrola qHBV <i>Inaktivovaná HBV pozitivní plazma v defibrinované lidské plazmě obsahující gentamicin a 0,2% azid sodný jako konzervanty.</i>	5 × 0,8 ml
HPC	Vysoce pozitivní kontrola qHBV <i>Inaktivovaná HBV pozitivní plazma v defibrinované lidské plazmě obsahující gentamicin a 0,2% azid sodný jako konzervanty.</i>	5 × 0,8 ml
	Štítek s čárovým kódem kontroly	—

Krabička s reagensii pro zesílení cíle Aptima HBV Quant
(po přijetí uchovávejte při teplotě 15 °C až 30 °C)

Symbol	Komponenta	Množství
TER	Reagencie pro zesílení cíle qHBV <i>Koncentrovaný roztok hydroxidu lithného</i>	1 × 46,0 ml

Požadované materiály, které jsou dodávány samostatně

Poznámka: Materiály dostupné od společnosti Hologic mají uvedená katalogová čísla, pokud není specifikováno jinak.

Materiál	Kat. č.
Systém Panther™	303095
Systém Panther Fusion™	PRD-04172
Systém Panther™ pro nepřetržité odvádění tekutin a odpadů (Panther Plus)	PRD-06067
Souprava kalibrátoru Aptima® HBV Quant	PRD-03425
Sada kontrol Aptima® HBV Quant	PRD-03426
Testovací souprava Panther k testování v reálném čase (pouze pro testy v reálném čase)	PRD-03455 (5 000 testů)
Souprava kapalin pro test Aptima® (rovněž známá jako univerzální souprava kapalin) <i>obsahuje promývací roztok Aptima®, pufr Aptima® pro deaktivaci kapalinu a olejovou reagentii Aptima®</i>	303014 (1 000 testů)
<i>Jednotky s více zkumavkami (MTU)</i>	104772-02
<i>Souprava pytle na odpad Panther™</i>	902731
<i>Kryt odpadního koše Panther™</i>	504405
Nebo testovací souprava systému Panther™ <i>(pro souběžné testování testy TMA bez sledování v reálném čase s testy TMA v reálném čase)</i> <i>obsahuje jednotky MTU, pytle na odpad, kryty odpadních košů, automatickou detekci a testovací kapaliny</i>	303096 (5 000 testů)

Materiál

Špičky, 1 000 µl, vodivé, pro snímání tekutin

Ne všechny produkty jsou dostupné ve všech regionech. Informace o konkrétním regionu získáte u svého zástupce.

Bělidlo, 5% až 8,25% (0,7 mol až 1,16 mol) roztok chlornanu sodného

Jednorázové rukavice bez pudru

Náhradní nepropichovací uzávěry

Náhradní uzávěry pro reagenty

Rekonstituční lahvičky pro amplifikační, enzymové a promotorové reagenty

Lahvička TCR

Lahvička TER

Ubrusy laboratorních stolů s plastovou vrstvou

Utěrky neuvolňující vlákna

Pipetor

Špičky

Druhy primární odběrové zkumavky:

13 mm × 100 mm

13 mm × 75 mm

16 mm × 100 mm

Odstředivka

Vortex

Kat. č.

901121 (10612513 Tecan)

903031 (10612513 Tecan)

MME-04134 (30180117 Tecan)

MME-04128

—

—

103036A

CL0041 (100 uzávěrů)

CL0040 (100 uzávěrů)

501604 (100 uzávěrů)

—

—

—

—

—

—

—

—

—

Volitelné materiály

Materiál

Druhy sekundární zkumavky:

12 mm × 75 mm

13 mm × 100 mm

16 mm × 100 mm

Alikvotační zkumavky na vzorky Aptima® (SAT) (balení 100 ks)

Uzávěr přepravní zkumavky (balení po 100 ks)

uzávěr pro zkumavku SAT

Roztok k ředění vzorků Aptima®

Souprava k ředění vzorků Aptima®

obsahuje roztok k ředění vzorků, 100 zkumavek SAT a 100 uzávěrů

Transferové pipety

Vatové tyčinky

Třepačka pro zkumavky

Kat. č.

—

—

—

FAB-18184

504415

PRD-03003

PRD-03478

—

—

PRD-03488

Postup testu na systému Panther

Poznámka: Další informace o postupu najdete v příručce obsluhy systému Panther / Panther Fusion.

A. Příprava pracovní oblasti

1. Očistěte pracovní povrchy tam, kde budete připravovat reagentie. Otřete pracovní povrchy 2,5% až 3,5% (0,35 mol až 0,5 mol) roztokem chlornanu sodného. Roztok chlornanu sodného nechte působit na kontaktní povrchy alespoň 1 minutu a poté je opláchněte deionizovanou vodou. Roztok chlornanu sodného nenechte zaschnout. Pokryjte pracovní desku laboratorního stolu čistým absorpčním ubrusem s plastovou vrstvou.
2. Očistěte vyhrazený pracovní povrch, na kterém budete vzorky připravovat. Dodržujte výše uvedený postup (krok A.1).
3. Vyčistěte pipetory. Použijte výše uvedený postup čištění (krok A.1).

B. Příprava kalibrátoru a kontrol

Než přistoupíte k následujícímu zpracování, zajistěte, aby se teplota kalibrátoru a kontrol ustálila na 15 °C až 30 °C:

1. Vytáhněte kalibrátor a kontroly z prostoru pro uchovávání (-15 °C až -35 °C) a přeneste je na místo o teplotě 15 °C až 30 °C. Po celou dobu rozmrazování všechny zkumavky jemně převracejte, aby se dobře promíchaly. Ujistěte se, že je obsah zkumavek před použitím zcela rozmrazen.

Volitelné. Zkumavky kalibrátoru a kontrol je možné vložit do třepačky pro zkumavky a pečlivě promíchat. Ujistěte se, že je obsah zkumavek před použitím zcela rozmrazen.

Poznámka: Při převracení kalibrátoru a kontrol dávejte pozor, aby nevznikla přebytečná pěna. Pěna ovlivňuje detekci hladin v systému Panther.

2. Po rozmrazení obsahu zkumavky vysušte vnější povrch zkumavky čistým, suchým jednorázovým hadříkem.
3. V rámci prevence kontaminace zkumavky zatím neotevírejte.

C. Rekonstituce/příprava reagentie z nové soupravy

Poznámka: Rekonstituci reagentií je nutné provést před zahájením veškerých prací v systému Panther.

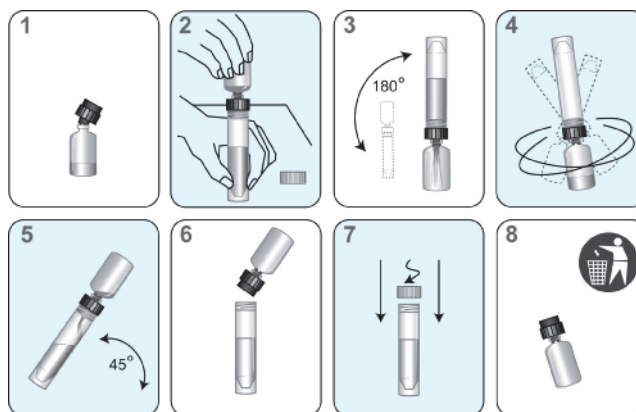
1. Přípravu TCR provádějte následovně:
 - a. Vytáhněte reagentii TCR z prostoru pro uchovávání (2 °C až 8 °C). Zkontrolujte číslo šarže na lahvičce reagentie TCR, abyste se ujistili, že odpovídá číslu šarže na listu s čárovým kódem hlavní šarže.
 - b. Ihned poté 10krát důkladně protřepejte lahvičku reagentie TCR. Nechte lahvičku reagentie TCR zahřívat při teplotě 15 °C až 30 °C minimálně po dobu 45 minut. Během této doby lahvičku TCR alespoň každých 10 minut vířivým pohybem promíchejte a otočte dnem vzhůru.

Volitelné. Lahvičku reagentie TCR je možné připravit na třepačce pro zkumavky dle následujících pokynů: Vytáhněte reagentii TCR z prostoru pro uchovávání (2 °C až 8 °C) a ihned 10krát důkladně protřepejte. Umístěte lahvičku reagentie TCR na třepačku pro zkumavky a nechte reagentii zahřívat při teplotě 15 °C až 30 °C minimálně po dobu 45 minut.

- c. Před použitím se ujistěte, že je veškerý precipitát rozpuštěn a že jsou magnetické částičky rovnoměrně rozptýleny.

2. Pokud chcete rekonstituovat amplifikační, enzymatické a promotorové reagencie, postupujte následujícím způsobem:
- Vyjměte lyofilizované reagencie a odpovídající rekonstituční roztoky z prostoru pro uchovávání (2 °C až 8 °C). Každý rekonstituční roztok spárujte s odpovídající lyofilizovanou reagencí.
 - Ujistěte se, že rekonstituční roztoky a lyofilizované reagencie mají shodné barvy štítků. Zkontrolujte čísla šarže na listu s čárovým kódem hlavní šarže, abyste zajistili správné spárování reagencí.
 - Odstraňte kovový uzávěr a gumovou zátku lahvičky s lyofilizovanou reagencí a otevřete ji.
 - Do lahvičky pevně zasuňte vroubkovaný konec rekonstituční objímky (černý) (Obrázek 5, krok 1).
 - Otevřete odpovídající lahvičku s rekonstitučním roztokem a uzávěr odložte na čistý a zakrytý pracovní povrch.
 - Lahvičku s rekonstitučním roztokem umístěte na stabilní povrch (tzn. laboratorní stůl). Poté převraťte lahvičku s lyofilizovanou reagencí nad lahvičku s rekonstitučním roztokem a pevně připojte objímku k lahvičce s rekonstitučním roztokem (Obrázek 5, krok 2).
 - Pomalou převraťte spojené lahvičky (skleněná lahvička připojená k lahvičce s roztokem), aby roztok stekl do skleněné lahvičky (Obrázek 5, krok 3).
 - Zvedněte spojené lahvičky a minimálně 10 sekund je vířivým pohybem promíchejte (Obrázek 5, krok 4).
 - Počkejte alespoň 30 minut, než se lyofilizovaná reagencie přemístí do roztoku.
 - Po přenesení lyofilizované reagencie do roztoku minimálně 10 sekund vířivým pohybem promíchejte spojené lahvičky a poté lehce protřepejte roztok ve skleněné lahvičce, aby se dobře promíchal.
 - Pomalou znovu nakloňte spojené lahvičky, aby všechen roztok stekl zpět do lahvičky s rekonstitučním roztokem (Obrázek 5, krok 5).
 - Opatrně odstraňte rekonstituční objímku a skleněnou lahvičku (Obrázek 5, krok 6).
 - Znovu uzavřete lahvičku uzávěrem. Na štítek запиšte iniciály obsluhy a datum rekonstituce (Obrázek 5, krok 7).
 - Rekonstituční objímku a skleněnou lahvičku zlikvidujte (Obrázek 5, krok 8).

Varování: Při rekonstituci reagencí zabraňte tvorbě přebytečné pěny. Pěna ovlivňuje detekci hladin v systému Panther.



Obrázek 5. Postup rekonstituce reagencí

3. Vyjměte reagentie pro zesílení cíle qHBV z prostoru pro uchovávání (15 °C až 30 °C). Na štítek napište iniciály obsluhy a datum otevření. Zkontrolujte číslo šarže na lahvičce TER a ujistěte se, že odpovídá číslu šarže na listu s čárovým kódem hlavní šarže.

D. Příprava v případě dříve připravovaných reagentií

1. Vytáhněte dříve připravené reagentie z prostoru pro uchovávání (2 °C až 8 °C). Před zahájením testu musí dříve připravené amplifikační, enzymové a promotorové reagentie a TCR dosáhnout teploty 15 °C až 30 °C.
2. Vyjměte TER z prostoru pro uchovávání (15 °C až 30 °C).
3. U dříve připravené reagentie TCR před vložením do systému proveďte krok C.1 výše.
4. Vířivým pohybem promíchejte a převraťte amplifikační, enzymové a promotorové reagentie, aby se před vložením do systému dobře promísily. Při převracení reagentií dbejte na to, aby nedocházelo k tvorbě přebytečné pěny.

Možnost: Předem připravené reagentie lze připravit na třepačce zkumavek podle následujících pokynů: Vyjměte reagentie ze skladu (2 °C až 8 °C). Umístěte reagentie na třepačku zkumavek a nechte je při teplotě 15 °C až 30 °C zahřát po dobu nejméně 30 minut.

5. Lahvičky s reagentiemi nedoplňujte. Doplněné lahvičky systém Panther rozpozná a odmítne je.

E. Manipulace se vzorkem

1. Zajistěte, aby byly zpracované vzorky v primárních zkumavkách nebo nezředěné vzorky plazmy v sekundárních zkumavkách řádně uchovávány v souladu s pokyny v části *Odběr vzorků*.
2. Ujistěte se, že jsou zmrazené vzorky zcela rozmrazené. Rozmrazené vzorky důkladně promíchejte ve vortexu po dobu 3 až 5 sekund.
3. Než přikročíte ke zpracování, nechte vzorky zahřát na teplotu 15 °C až 30 °C. Další informace o stavu v přístroji najdete v části *Vzorky vložené v systému Panther*.
4. Dbejte na to, aby každá primární odběrová zkumavka obsahovala až 1 200 µl vzorku nebo každá SAT zkumavka obsahovala alespoň 700 µl vzorku. V tabulce v části *Odběr vzorků* jsou uvedeny požadavky na mrtvý objem pro jednotlivé typy primární a sekundární zkumavky. Je-li nutné ředění vzorků, přečtěte si další informace v kroku E.5 níže.
5. Zředěte vzorek plazmy nebo séra v poměru 1:3 v SAT nebo 1:100 v sekundární zkumavce.

K testování v systému Panther může být vzorek zředěn v sekundární zkumavce.

Poznámka: Pokud je vzorek naředěn, musí být testován ihned po naředění.

a. Ředění vzorků s nízkým objemem

Objem vzorků může být zvýšen na minimální požadovaný objem (700 µl) pomocí roztoku k ředění vzorků Aptima. Vzorky o objemu nejméně 240 µl mohou být naředěny dvěma částmi roztoku k ředění vzorků (1:3) takto:

- i. Do zkumavky SAT přidejte 240 µl vzorku.
- ii. Přidejte 480 µl roztoku k ředění vzorků Aptima.
- iii. Uzavřete zkumavku.
- iv. Jemně ji 5 krát převraťte, aby se její obsah promíchal.

Vzorky ředěné v poměru 1:3 je možné otestovat pomocí možnosti 1:3 v systému Panther (další informace najdete v *příručce obsluhy systému Panther / Panther Fusion*). Software automaticky nahlásí čistý výsledek použitím faktoru ředění. Tyto vzorky budou označeny jako naředěné vzorky.

b. Ředění vzorků s vysokým titrem

Pokud je výsledek vzorku nad horní mezí stanovitelnosti (ULoQ), může být naředěn 99 díly roztoku k ředění vzorků Aptima (1:100) následně:

- i. Do zkumavky SAT nebo sekundární zkumavky přidejte 30 µl vzorku.
- ii. Přidejte 2 970 µl roztoku k ředění vzorků Aptima.
- iii. Uzavřete zkumavku.
- iv. Jemně ji 5 krát převraťte, aby se její obsah promíchal.

Vzorky ředěné v poměru 1:100 je možné otestovat pomocí možnosti 1:100 v systému Panther / Panther Fusion (další informace najdete v *příručce k obsluze systému Panther / Panther Fusion*). Software automaticky nahlásí čistý výsledek použitím faktoru ředění. Tyto vzorky budou označeny jako naředěné vzorky.

Poznámka: U ředěných vzorků s čistými koncentracemi vyššími než ULoQ budou výsledky hlášeny ve vědeckém formátu.

6. Před vložením vzorků do stojanu na vzorky centrifugujte každý vzorek s přetížením 1 000 až 3 000 g po dobu 10 minut. Neodstraňujte uzávěry. Bubliny ve zkumavce mohou narušit snímání hladiny systémem Panther. Informace o vkládání stojanu a odstraňování uzávěrů najdete v části *Příprava systému*, krok F.2 níže.

F. Příprava systému

1. Systém nakonfigurujte podle pokynů uvedených v *příručce k obsluze systému Panther / Panther Fusion* a v části *Poznámky k postupu*. Použijte stojany na reagenty vhodné velikosti a TCR adaptéry.
2. Vložte vzorky do stojanu na vzorky. U každé zkumavky na vzorky proveďte následující kroky (vzorek a v případě potřeby kalibrátor a kontroly):
 - a. Uvolněte uzávěr jedné zkumavky na vzorky, neodstraňujte jej však zcela.

Poznámka: Dávejte zejména pozor, aby nedošlo ke kontaminaci rozstříkáním aerosolů. Jemně uvolněte uzávěry na vzorcích.
 - b. Vložte zkumavku na vzorky do stojanu na vzorky.
 - c. Zopakujte kroky 2.a a 2.b pro všechny zbývající vzorky.
 - d. Po vložení vzorků do stojanu na vzorky vytáhněte a zlikvidujte uzávěry všech zkumavek na vzorky v jednom stojanu na vzorky. Nepřenášejte uzávěr nad jinými stojany na vzorky ani zkumavkami, aby nedošlo ke kontaminaci.
 - e. V případě potřeby použijte novou, jednorázovou přenosovou pipetu k odstranění případných bublin nebo pěny.
 - f. Po odstranění posledního uzávěru vložte stojan na vzorky do prostoru na vzorky.

Poznámka: Pokud zpracováváte současně jiné testy a typy vzorků, zajistěte držák vzorku před vložením stojanu na vzorky do prostoru na vzorky.
 - g. Zopakujte kroky 2.a až 2.f pro další stojan na vzorky.

Poznámky k postupu

A. Kalibrátory a kontroly

1. Pozitivní kalibrátor qHBV, slabě pozitivní kontrola qHBV, vysoce pozitivní kontrola qHBV a negativní kontrola qHBV mohou být vloženy do libovolné pozice ve stojanu na vzorky a do kteréhokoli dráhy prostoru na vzorky v systému Panther. Pipetování vzorků bude zahájeno, jakmile bude splněna jedna z následujících podmínek:
 - a. Kalibrátor a kontroly jsou aktuálně zpracovávány v systému.
 - b. V systému jsou registrovány platné výsledky kalibrátoru a kontrol.
2. Jakmile proběhne pipetování a zpracování zkumavek kalibrátoru a kontroly pro soupravu reagensů testu Aptima HBV Quant, můžete otestovat vzorky pomocí přiřazené rekonstituční soupravy v průběhu 24 hodin, **pokud nenastane následující**:
 - a. Výsledky kalibrátoru nebo kontroly jsou neplatné.
 - b. Přiřazená souprava reagensů testu je vyjmuta ze systému.
 - c. Přiřazená souprava reagensů testu překročila limity stability.
3. Kalibrátor a každou zkumavku kontroly lze použít jednou. Pokusy o vícenásobné použití zkumavky mohou vést k chybám zpracování.

B. Pudr z rukavic

Stejně jako u jiných systémů reagensů může nadbytek pudru z rukavic způsobit kontaminaci otevřených zkumavek. Doporučujeme používat rukavice bez pudru.

Kontrola kvality

Pokud jsou při provádění testu zjištěny a zdokumentovány technické problémy, problémy na straně obsluhy nebo problémy na straně přístroje, může obsluha zrušit výsledek série měření nebo vzorku. V takovém případě je nutné zopakovat testování vzorků.

Kalibrace testu

Aby byly generovány platné výsledky, musí být dokončena kalibrace testu. Při každém vložení soupravy reagensů do systému Panther se třikrát zpracuje jeden pozitivní kalibrátor. Po potvrzení bude kalibrace platná po dobu maximálně 24 hodin. Pokud bude nutná kalibrace, software v systému Panther upozorní obsluhu. Obsluha naskenuje kalibrační koeficient na listu s čárovým kódem hlavní šarže dodávaném s každou soupravou reagensů.

Během zpracování software v systému Panther automaticky ověří kritéria přijatelnosti kalibrátoru. Pokud budou platné méně než dva replikáty kalibrátoru, software automaticky zruší platnost série. Vzorky v neplatné sérii bude nutné znovu otestovat pomocí čerstvě připraveného kalibrátoru a čerstvě připravených kontrol.

Negativní a pozitivní kontroly

Aby byly generovány platné výsledky, musí být testována sada kontrol testu. Vždy, když je reagenční souprava vložena do systému Panther, je třeba otestovat jeden replikát negativní kontroly, slabě pozitivní kontroly a vysoce pozitivní kontroly. Po stanovení jsou kontroly platné po dobu maximálně 24 hodin. Pokud budou vyžadovány kontroly, software v systému Panther upozorní obsluhu.

Během zpracování software v systému Panther automaticky ověří kritéria přijatelnosti kontrol. Aby bylo možné vygenerovat platné výsledky, musí negativní kontrola vygenerovat výsledek „Nedetekováno“ a pozitivní kontroly musí vygenerovat výsledky v rámci předdefinovaných parametrů (jmenovitý cíl LPC: $2,7 \log_{10}$ IU/ml, jmenovitý cíl HPC: $4,6 \log_{10}$ IU/ml). Pokud kterákoli z kontrol poskytne neplatný výsledek, software automaticky zruší platnost série. Vzorky v neplatné sérii bude nutné znovu otestovat pomocí čerstvě připraveného kalibrátoru a čerstvě připravených kontrol.

Vnitřní kalibrátor / vnitřní kontrola

Každý vzorek obsahuje vnitřní kalibrátor / vnitřní kontrolu (IC). Software systému Panther během zpracování automaticky ověří kritéria přijatelnosti vnitřní kontroly. Pokud je výsledek vnitřní kontroly neplatný, výsledky vzorku budou zneplatněny. Každý vzorek s neplatným výsledkem vnitřní kontroly je nutné znovu otestovat, abyste získali platný výsledek.

Software systému Panther je navržen tak, aby přesně ověřoval procesy při provádění postupů podle pokynů uvedených v této příbalové informaci a v *příručce k obsluze systému Panther / Panther Fusion*.

Interpretace výsledků

Systém Panther automaticky stanoví koncentraci DNA HBV pro vzorky a kontroly porovnáním výsledků s kalibrační křivkou. Koncentrace HBV DNA jsou uváděny v IU/ml a $\log_{10}$ IU/ml. Interpretaci výsledků uvádí Tabulka 1. Pokud je použita možnost ředění, systém Panther automaticky vypočítá koncentraci HBV DNA v čistém vzorku vynásobením koncentrace zředěného vzorku faktorem ředění. Zředěné vzorky budou označeny jako zředěné.

Poznámka: U naředěných vzorků je možné výsledky označené jako „Nedetekováno“ nebo „Detekováno < 10“ vygenerovat naředěním vzorků s koncentrací nad LoD (mez detekce) či LLoQ (spodní mez stanovitelnosti) nebo v blízkosti těchto limitů. Pokud nebyl získán kvantitativní výsledek, doporučujeme odebrat a otestovat jiný čistý vzorek.

Tabulka 1: Interpretace výsledků

Ohlášený výsledek testu Aptima HBV Quant		Interpretace
IU/ml	$\log_{10}$ IU/ml ^a	
Nedetekováno	Nedetekováno	DNA HBV nebyla detekována.
detekováno < 10	< 1,00	DNA HBV je detekována, ale v koncentraci pod LLoQ.
10 až 1 000 000 000	1,00 až 9,00	Koncentrace DNA HBV je v lineárním rozmezí 10 až 1 000 000 000 IU/ml.
> 1 000 000 000	> 9,00	Koncentrace DNA HBV je nad ULoQ.
Neplatné ^b	Neplatné ^b	Při generování výsledku byla indikována chyba. Vzorky je nutné otestovat znovu.

^a Hodnota je zkrácena na dvě desetinná místa.

^b Neplatné výsledky jsou zobrazeny modrou barvou.

U ředěných vzorků s čistými koncentracemi vyššími než ULoQ budou výsledky hlášeny ve vědeckém formátu.

Kritéria přijatelnosti jednotlivých kontrol testu Aptima HBV Quant uvádí Tabulka 2 níže.

Poznámka: Níže uvedený rozsah výtěžnosti se mění na základě přiřazené hodnoty každé konkrétní šarže. Viz přiřazená koncentrace uvedená na listu s čárovým kódem kontroly, který se dodává s každou krabičkou kontroly.

Tabulka 2: Kritéria přijatelnosti pro rozsah výtěžnosti kontrol testu Aptima HBV Quant

Komponenta	Rozsah výtěžnosti u validovaných sérií měření
Negativní kontrola	–
Slabě pozitivní kontrola	+/- 0,55 $\log_{10}$ IU/ml
Vysoce pozitivní kontrola	+/- 0,5 $\log_{10}$ IU/ml

Omezení

- A. Test smí používat pouze osoby vyškolené v provádění příslušných postupů. Nedodržení pokynů uvedených v této příbalové informaci může vést k chybným výsledkům.
- B. Spolehlivost výsledků závisí na adekvátním odběru, transportu, uchovávání a zpracování vzorků.

Analytická funkční způsobilost

Mez detekce s použitím třetího mezinárodního standardu WHO

Mez detekce (LoD) tohoto testu je definována jako koncentrace DNA HBV, která je detekována s 95% nebo vyšší pravděpodobností podle normy CLSI EP17-A2.¹¹

LoD byla stanovena pomocí panelu vzorků navazujících na 3. mezinárodní standard WHO pro DNA viru hepatitidy B (NIBSC 10/264, genotyp A) zředěných v HBV-negativní lidské plazmě s EDTA a séru. Minimálně 36 replikátů každého zředění bylo testováno s každou ze tří šarží reagensů, tedy minimálně 108 replikátů na jedno ředění. K vygenerování 95% predikovaných mezí detekce byla provedena probit analýza. Hodnoty LoD jsou výsledky ze šarže reagensů s nejvyšší predikovanou mezí detekce. LoD testu Aptima HBV Quant stanovená pomocí 3. mezinárodního standardu WHO je 4,8 IU/ml v plazmě a 5,9 IU/ml v séru.

Mez detekce u jednotlivých genotypů HBV

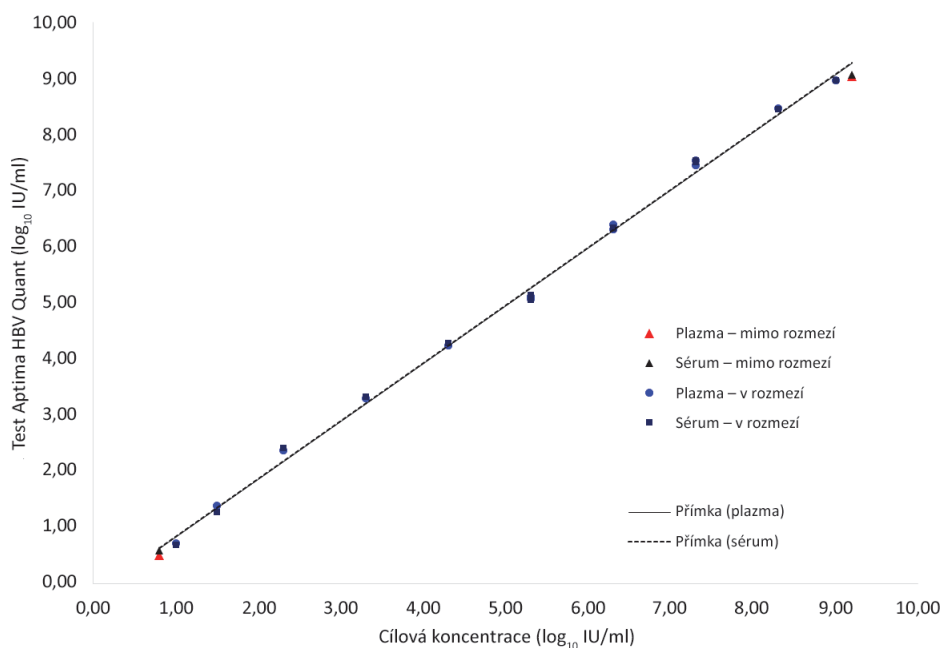
LoD byla stanovena testováním ředění HBV pozitivních klinických vzorků na genotypy A, B, C, D, E, F, G a H v HBV negativní lidské plazmě a séru. Koncentrace byly stanoveny schváleným testem. Minimálně 24 replikátů každého vzorku z panelu bylo testováno s každou ze dvou šarží reagensů, tedy minimálně 48 replikátů na každý vzorek z panelu. K vygenerování 95% predikovaných mezí detekce byla provedena probit analýza. Tabulka 3 uvádí hodnoty LoD, které jsou výsledky ze šarže reagensů s nejvyšší predikovanou mezí detekce.

Tabulka 3: Mez detekce (95% predikovaná mez detekce) u jednotlivých genotypů HBV stanovená pomocí klinických vzorků

Genotyp	Koncentrace (IU/ml)	
	Plazma	Sérum
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

Lineární rozsah

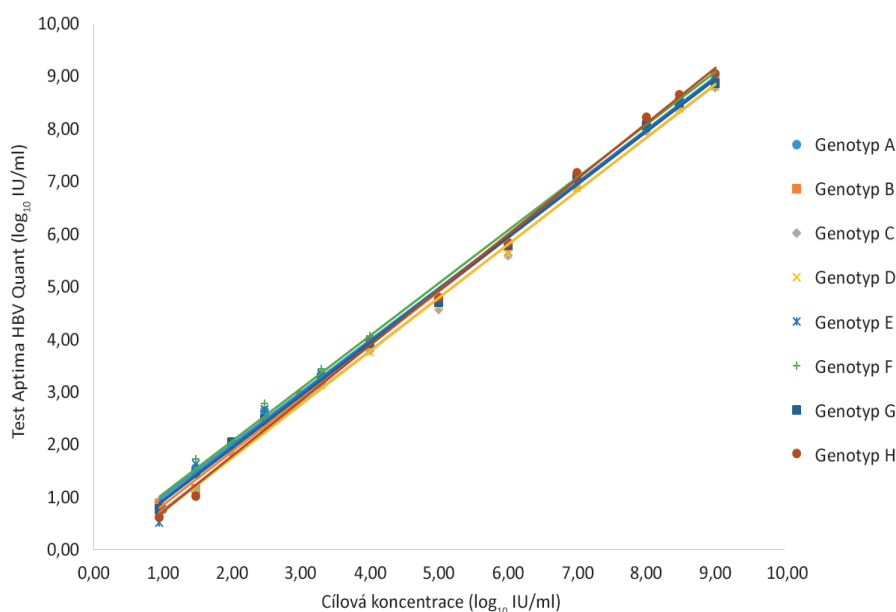
Lineární rozsah byl stanoven testováním panelů viru HBV genotypu A ($0,78 \log_{10}$ IU/ml až $7,30 \log_{10}$ IU/ml) a plazmidové DNA ($5,30 \log_{10}$ IU/ml až $9,18 \log_{10}$ IU/ml) naředěné v HBV negativní lidské plazmě a séru dle CLSI EP06-A.¹² Test Aptima HBV Quant prokázal linearitu v celém testovaném rozsahu s horní mezí stanovitelnosti (ULoQ) $9 \log_{10}$ IU/ml, jak znázorňuje Obrázek 6.



Obrázek 6. Linearita v plazmě a séru

Linearita u jednotlivých genotypů HBV

Linearita u genotypů HBV byla v případě genotypů A, E, F, G a H stanovena testováním jednotlivých klinických pozitivních vzorků a v případě genotypů B, C a D pomocí prvních referenčních panelů vzorků WHO (PEI 5086/08). V dolním rozmezí testu byl použit virus ($4 \log_{10}$ IU/ml a méně u genotypů A–G a $3 \log_{10}$ IU/ml a méně u genotypu H). V horním rozmezí s překryvem $2 \log_{10}$ byly použity plazmidy DNA. U všech genotypů byly testovány vzorky ředěné v negativní lidské plazmě. Obrázek 7 znázorňuje, že u všech testovaných genotypů byla prokázána linearita v celém testovaném rozsahu.



Obrázek 7. Lineární rozsah a linearita (plazma)

Dolní mez stanovitelnosti s použitím třetího mezinárodního standardu WHO

Dolní mez stanovitelnosti je definována jako nejnižší koncentrace, při které je DNA HBV spolehlivě kvantifikována s celkovou chybou dle normy CLSI EP17-A2.¹¹ Celková chyba byla odhadnuta následující dvojicí metod:

Celková analytická chyba (TAE) = |vychýlení měření| + 2 SD a celková chyba (TE) = $\sqrt{2} \times 2 \text{ SD}$.

Aby byla zajištěna správnost a přesnost měření, byla celková chyba testu Aptima HBV Quant nastavena na $1 \log_{10}$ IU/ml (tj. na LLoQ je rozdíl mezi dvěma měřeními větší než $1 \log_{10}$ IU/ml statisticky významný).

LLoQ byla stanovena pomocí panelu vzorků navazujících na 3. mezinárodní standard WHO pro DNA viru hepatitidy B (NIBSC 10/264, genotyp A) zředěných v HBV-negativní lidské plazmě a séru. Pětačtyřicet (45) replikátů každého zředění bylo testováno s každou ze tří šarží reagensií, tedy minimálně 135 replikátů na každé zředění. Tabulka 4 uvádí výsledky všech tří šarží reagensií v plazmě. Tabulka 5 pak to stejné v séru. Výsledky nejnižší pozorované koncentrace, která měla požadovanou přesnost ($TE \leq 1 \log_{10}$ IU/ml a $TE \leq 1 \log_{10}$ IU/ml) s $> 95\%$ detekcí a s vyšší nebo rovnou LoD jsou v obou tabulkách zobrazeny šedě. Tabulka 6 uvádí jejich shrnutí.

Vypočítaná LLoQ s použitím 3. mezinárodního standardu WHO pro virus hepatitidy B je 6 IU/ml ($0,79 \log_{10}$ IU/ml) v plazmě a 8 IU/ml ($0,88 \log_{10}$ IU/ml) v séru, přičemž výpočet v souladu s normou CLSI EP17-A2 vycházel z nejvyšší vypočítané koncentrace napříč všemi třemi šaržemi reagensů. LLoQ byla stanovena u všech genotypů (viz část *Dolní mez stanovitelnosti u jednotlivých genotypů HBV*). Z údajů jednotlivých genotypů byla celková LLoQ tohoto testu stanovena jako 10 IU/ml.

Tabulka 4: Stanovení LLoQ s použitím třetího mezinárodního standardu WHO pro HBV zředěný v plazmě

Šarže reagensie	Aptima HBV Quant (IU/ml)	Aptima HBV Quant ($\log_{10}$ IU/ml)	SD ($\log_{10}$ IU/ml)	Vychýlení měření ($\log_{10}$ IU/ml)	Vypočtená TE ($\log_{10}$ IU/ml)	Vypočtená 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 = směrodatná odchylka

Vzorky z panelu, které měly požadovanou přesnost ($TE \leq 1$ a $TAE \leq 1$), > LoD a > 95% detekci u šarží reagensů 1, 2 a 3, jsou zobrazeny šedě.

Tabulka 5: Stanovení LLoQ s použitím třetího mezinárodního standardu WHO pro HBV zředěný v séru

Šarže reagensie	Aptima HBV Quant (IU/ml)	Aptima HBV Quant ($\log_{10}$ IU/ml)	SD ($\log_{10}$ IU/ml)	Vychýlení měření ($\log_{10}$ IU/ml)	Vypočtená TE ($\log_{10}$ IU/ml)	Vypočtená 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 = směrodatná odchylka

Vzorky z panelu, které měly požadovanou přesnost ($TE \leq 1$ a $TAE \leq 1$), > LoD a > 95% detekci u šarží reagensů 1, 2 a 3, jsou zobrazeny šedě.

Tabulka 6: Shrnutí vypočtené LLoQ s použitím 3. mezinárodního standardu WHO pro HBV

Šarže reagensie	LLoQ v plazmě		LLoQ v séru	
	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

Dolní mez stanovitelnosti u jednotlivých genotypů HBV

LLOQ genotypů A, B, C, D, E, F, G a H byla stanovena testováním HBV pozitivních klinických vzorků zředěných v HBV negativní lidské plazmě a séru. Koncentrace v klinických vzorcích byla stanovena srovnávacím testem. Celkem 36 replikátů každého vzorku z panelu bylo testováno oběma šaržemi reagensů, tedy minimálně 72 replikátů na každý vzorek z panelu. Výsledky pro nejnižší pozorovanou koncentraci, které mají požadovanou přesnost ($TE \leq 1 \log_{10} \text{ IU/ml}$ a $TAE \leq 1 \log_{10} \text{ IU/ml}$) s $> 95\%$ detekcí pro každou šarži reagensie, jsou uvedeny v Tabulce 7 pro plazmu a Tabulka 8 pro sérum. Tabulka 9 uvádí souhrn nejvyšší zaznamenané koncentrace jednotlivých genotypů napříč všemi šaržemi reagensií. Genotyp D v séru měl nejvyšší LLOQ na úrovni 9 IU/ml ($0,96 \log_{10} \text{ IU/ml}$). Tato hodnota podporuje stanovení celkové LLOQ testu jako 10 IU/ml.

Tabulka 7: Stanovení LLOQ HBV v plazmě u jednotlivých genotypů

Genotyp HBV	Šarže reagensie	Aptima HBV Quant ^a (IU/ml)	Aptima HBV Quant ^a ($\log_{10} \text{ IU/ml}$)	SD ($\log_{10} \text{ IU/ml}$)	Vychýlení měření ($\log_{10} \text{ IU/ml}$)	Vypočtená TE ($\log_{10} \text{ IU/ml}$)	Vypočtená 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 = směrodatná odchylka

^a Měřeny byly i další koncentrace, data však v tabulce nejsou uvedena.

Tabulka 8: Stanovení LLoQ HBV v séru u jednotlivých genotypů

Genotyp HBV	Šarže reagensie	Aptima HBV Quant ^a (IU/ml)	Aptima HBV Quant ^a (log ₁₀ IU/ml)	SD (log ₁₀ IU/ml)	Vychýlení měření (log ₁₀ IU/ml)	Vypočtená TE (log ₁₀ IU/ml)	Vypočtená 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 = směrodatná odchylka

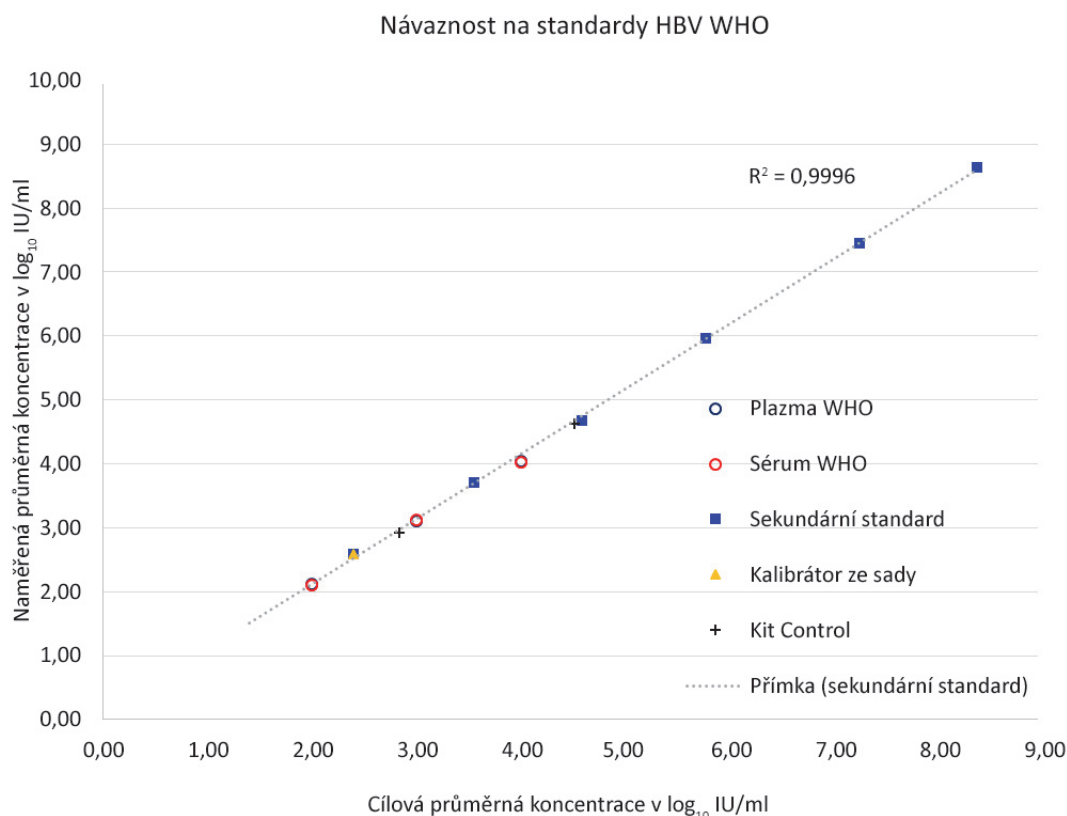
^a Měřeny byly i další koncentrace, data však v tabulce nejsou uvedena.

Tabulka 9: Souhrn LLoQ u jednotlivých genotypů v plazmě a séru

Genotyp	LLoQ v plazmě		LLoQ v séru	
	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

Návaznost na třetí mezinárodní standard WHO

Při vývoji a výrobě tohoto výrobku byla použita série sekundárních standardů se známými koncentracemi, které zajišťují návaznost na standard WHO. Koncentrace testované s použitím standardu WHO pro HBV se pohybovaly mezi 2,0 a 4,0 $\log_{10}$ IU/ml, koncentrace pro sekundární standardy se pohybovaly mezi 2,4 a 8,4 $\log_{10}$ IU/ml. Pomocí sekundárních standardů a standardu WHO byly testovány také kontroly a kalibrátory testu Aptima HBV Quant. Všechny panely vzorků vykazovaly podobné výsledky a byly lineárně rozloženy po celém lineárním rozsahu testu, jak znázorňuje Obrázek 8.



Obrázek 8. Návaznost koncentrací zaznamenaných testem Aptima HBV Quant na cílové koncentrace 3. mezinárodního standardu WHO pro HBV

Preciznost

Panel vzorků na stanovení preciznosti testu Aptima HBV Quant byl sestaven rozředěním viru HBV genotypu A a plazmidů DNA HBV do HBV-negativních klinických vzorků plazmy a HBV-negativních klinických vzorků séra (čtyři nejvyšší vzorky z panelu v každé matici byly plazmidy DNA). Rozmezí testu (cílové koncentrace od 1,30 $\log_{10}$ IU/ml do 8,90 $\log_{10}$ IU/ml) pokrývalo jedenáct vzorků z panelu v každé matici. Tyto vzorky byly každým laborantem testovány v sériích po třech replikátech, a to s použitím tří šarží reagensů v jednom systému Panther v průběhu tří dnů, kdy každý den proběhly dvě série měření.

Tabulka 10 ukazuje přesnost výsledků testu (v $\log_{10}$ IU/ml) mezi dny, mezi šaržemi, mezi sériemi, v rámci sérií a celkově. Celková variabilita byla způsobena především variabilitou v rámci série měření (tj. náhodnou chybou).

Tabulka 10: Preciznost testu Aptima HBV Quant

Matice	Vzorek	N	Střední koncentrace	Střední koncentrace	Mezi šaržemi	Mezi šaržemi	Mezi dny	Mezi dny	Mezi sériemi	Mezi sériemi	V rámci sérií	V rámci sérií	Celkem	Celkem
			(IU/ml)	(log ₁₀ IU/ml)	SD	Logarit-micko-normální CV (%)	SD	Logarit-micko-normální CV (%)	SD	Logarit-micko-normální CV (%)	SD	Logarit-micko-normální CV (%)	SD	Logarit-micko-normální 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
	Plazmid DNA	54	652.103	5,8	0,06	14,2	0,01	3,4	0,01	2,0	0,06	13,1	0,09	19,8
	Virus	54	7.617.612	6,88	0,02	5,6	0,00	0,4	0,02	4,2	0,06	13,4	0,07	15,1
	Plazmid DNA	54	10.662.942	7,02	0,02	5,3	0,01	2,3	0,01	2,6	0,06	13,1	0,06	14,5
	Virus	54	89.149.358	7,95	0,01	3,4	0,01	2,7	0,01	1,6	0,04	9,7	0,05	10,8
	Plazmid DNA	54	103.400.000	8,01	0,04	9,4	0,02	3,7	0,01	2,1	0,05	12,0	0,07	15,9
Sérum	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
	Plazmid DNA	54	599.225	5,77	0,04	8,5	0,01	2,5	0,01	2,5	0,06	14,7	0,08	17,4
	Virus	54	7.011.440	6,84	0,02	3,5	0,01	3,2	0,01	3,3	0,07	16,9	0,08	17,9
	Plazmid DNA	54	8.845.332	6,94	0,05	11,9	0,01	2,2	0,01	2,2	0,05	12,2	0,07	17,4
	Virus	54	70.350.774	7,84	0,03	6,3	0,02	3,5	0,02	4,4	0,06	14,4	0,07	16,7
	Plazmid DNA	53 ^b	122.800.000	8,08	0,04	9,9	0,01	2,2	0,01	1,8	0,04	10,4	0,06	14,6
		54	678.700.000	8,83	0,02	3,6	0,01	2,2	0,01	1,8	0,05	11,7	0,05	12,5

SD = směrodatná odchylka

^a Detekované replikáty s kvantifikovatelným výsledkem = celkový počet detekovaných replikátů byl 54.^b Výsledek jednoho replikátu byl neplatný.Logaritmicko-normální CV (%) = $\sqrt{(10^{\sigma^2 \times \ln(10)} - 1)} \times 100$

Potenciálně interferující látky

U testu Aptima HBV Quant jsme hodnotili citlivost na interferenci se zvýšenými hladinami endogenních látek nebo s léčivými přípravky, které se jedincům infikovaným HBV běžně předepisují. Testovány byly vzorky HBV-negativní plazmy a vzorky obohacené o HBV na koncentrace přibližně 30 IU/ml ($1,48 \log_{10}$ IU/ml) a 20 000 IU/ml ($4,30 \log_{10}$ IU/ml).

V přítomnosti albuminu (90 mg/ml), hemoglobinu (5 mg/ml), triglyceridů (30 mg/ml) nebo nekonjugovaného bilirubinu (0,2 mg/ml) nebyla během provádění testu pozorována žádná interference.

Testem Aptima HBV Quant byly měřeny klinické vzorky plazmy od pacientů se zvýšenými hladinami uvedených látek nebo od pacientů s uvedenými nemocemi, od každé látky deset vzorků. Tabulka 11 uvádí seznam látek a nemocí. Během provádění testu nebyla pozorována žádná interference.

Tabulka 11: Typy testovaných klinických vzorků

Typy klinických vzorků	
1	Antinukleární protilátky (ANA)
2	Revmatoidní faktor (RF)
3	Alkoholická cirhóza (AC)
4	Alkoholická hepatitida
5	Nealkoholická hepatitida
6	Autoimunitní hepatitida
7	Zvýšená alaninaminotransferáza (ALT)
8	Hepatocelulární karcinom (HCC)
9	Roztroušená skleróza (MS)
10	Systémový lupus erythematoses (SLE)
11	Hyperglobulinemie
12	Revmatoidní artritida (RA)
13	Anti-Jo1 protilátka (JO-1)
14	Mnohočetný myelom (MM)
15	Hemolýza (zvýšený hemoglobin)
16	Ikterus (zvýšený bilirubin)
17	Lipemie (zvýšená hladina lipidů)
18	Zvýšený protein

V přítomnosti exogenních látek, které uvádí Tabulka 12, nebyla při koncentracích alespoň trojnásobku $C_{\max}$ (lidská plazma) během provádění testu pozorována žádná interference.

Tabulka 12: Exogenní látky

Skupina exogenních látek	Testované exogenní látky
1	Saquinavir, ritonavir, amprenavir, indinavir, lopinavir, nelfinavir mesylát
2	Klarithromycin, valganciklovir hydrochlorid, efavirenz, nevirapin
3	Paroxetin HCl, enfuvirtid, zidovudin, didanosin, abakavir sulfát
4	Ribavirin, entekavir, adefovir-dipivoxil, tenofovir-disoproxyl-fumarát, lamivudin, ganciclovir, acyklovir
5	Stavudin, ciprofloxacin, fluoxetin, azithromycin, valacyclovir, sertralin, zalcitabin
6	Interferon alfa -2a, interferon alfa -2b, pegylovaný interferon alfa-2b

Analytická specifita

Potenciální zkřížená reaktivita na patogeny, které uvádí Tabulka 13, byla vyhodnocena v HBV-negativní lidské plazmě v přítomnosti nebo nepřítomnosti 30 IU/ml ($1,5 \log_{10}$ IU/ml) a 20 000 IU/ml ($4,3 \log_{10}$ IU/ml) DNA HBV. Nebyla pozorována žádná zkřížená reaktivita. V přítomnosti patogenů nebyla pozorována žádná interference.

Tabulka 13: Patogeny testované za účelem ověření analytické specifity

Mikroorganismus/patogen	Koncentrace		Mikroorganismus/patogen	Koncentrace	
Adenovirus 5	100 000	TCID ₅₀ /ml ^a	<i>Candida albicans</i>	1 000 000	CFU/ml ^e
BK lidský polyomavirus	1 000	TCID ₅₀ /ml	<i>Chlamydia trachomatis</i>	1 000 000	IFU/ml ^f
Cytomegalovirus	100 000	TCID ₅₀ /ml	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	1 000 000	CFU/ml
Virus horečky dengue 1	10 000	TCID ₅₀ /ml	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1 000 000	CFU/ml
Virus horečky dengue 2	10 000	TCID ₅₀ /ml	<i>Propionibacterium acnes</i>	1 000 000	CFU/ml
Virus horečky dengue 3	10 000	TCID ₅₀ /ml	<i>Staphylococcus aureus</i>	1 000 000	CFU/ml
Virus horečky dengue 4	100 000	TCID ₅₀ /ml	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1 000 000	CFU/ml
Virus Epstein-Barr	100 000	kopii/ml	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1 000 000	CFU/ml
Chřipka H1N1	100 000	TCID ₅₀ /ml	<i>Trichomonas vaginalis</i>	1 000 000	CFU/ml
Virus hepatitidy A	100 000	TCID ₅₀ /ml	^a TCID ₅₀ /ml = infekční dávkové jednotky tkáňové kultury na ml		
Virus hepatitidy C	100 000	IU/ml ^b	^b IU/ml = mezinárodní jednotky na ml		
Virus hepatitidy G	100 000	kopii/ml	^c vp/ml = virové částice na ml		
Lidský herpes virus 6B	100 000	kopii/ml	^d LD ₅₀ /ml = smrtelná dávka na ml		
Lidský herpes virus 8	100 000	kopii/ml	^e CFU/ml = kolonie tvořící jednotky na ml		
HIV-1	100 000	IU/ml	^f IFU/ml = inkluze tvořící jednotky na ml		
HIV-2	10 000	TCID ₅₀ /ml			
Lidský papilomavirus	100 000	kopii/ml			
Virus herpes simplex 1 (HSV-1)	100 000	TCID ₅₀ /ml			
Virus herpes simplex 2 (HSV-2)	100 000	TCID ₅₀ /ml			
Lidský T-lymfotropní virus 1 (HTLV-1)	100 000	vp/ml ^c			
Lidský T-lymfotropní virus 2 (HTLV-2)	100 000	vp/ml			
Virus japonské encefalitidy	–	–			
Virus encefalitidy Murray Valley	2 000	LD ₅₀ /ml ^d			
Parvovirus B19	100 000	IU/ml			
Virus zarděnek	10 000	TCID ₅₀ /ml			
Virus encefalitidy St. Louis	100 000	TCID ₅₀ /ml			
Virus vakcínie	1 000	TCID ₅₀ /ml			
Virus západonilské horečky	100 000	TCID ₅₀ /ml			
Virus žluté zimnice	100 000	TCID ₅₀ /ml			

Rovnocennost matic

Rovnocennost matic byla hodnocena otestováním sto osmnácti souborů vzorků v odpovídajících zkumavkách na odběr krve (sérová zkumavka, ACD, K2 EDTA, K3 EDTA, PPT a SST). Z těchto souborů bylo 44 přirozeně infikovaných (HBV-pozitivních) a 74 bylo HBV-negativních obohacených virem HBV. Tabulka 14 uvádí korelaci jednotlivých typů zkumavek na odběr krve ve srovnání se zkumavkou na odběr séra.

Tabulka 14: Studie rovnocennosti matic

Zkumavka na krev	Demingova regrese	95% CI směrnice		95% CI posunu		R ²	Střední rozdíl (Log ₁₀)
		Dolní mez	Horní mez	Dolní mez	Horní mez		
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 spolehlivosti

Ředění vzorků roztokem k ředění vzorků Aptima (1:3)

Přesnost detekce DNA HBV ve vzorcích ředěných roztokem k ředění vzorků Aptima byla hodnocena naředěním vzorků z lineárního rozsahu roztokem k ředění vzorků Aptima v poměru 1:3 (například smísením 240 µl vzorku se 480 µl roztoku k ředění vzorků Aptima). Každý vzorek byl třikrát testován čistý a zředěný (1:3). K testování se použila jedna šarže testovacích reagensů ve dvou systémech Panther se dvěma šaržemi roztoku k ředění vzorků Aptima. Rozdíly mezi průměrnou naměřenou koncentrací v původní matici a průměrnou koncentrací ve vzorcích naředěných roztokem k ředění vzorků Aptima (kdy se výsledek zředěného vzorku opravil ředicím poměrem) uvádí Tabulka 15 (plazma) a Tabulka 16 (sérum). Koncentrace ve zředěných vzorcích byly stanoveny přesně.

Tabulka 15: Souhrn srovnávacího měření vzorků plazmy naředěných v poměru 1:3

Matice pro plazmu Průměrná naměřená koncentrace (log ₁₀ IU/ml) n = 9	Ředící roztok Průměrná naměřená koncentrace (log ₁₀ IU/ml) n = 18	Rozdíl ředěných a neředěných vzorků (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

Tabulka 16: Souhrn srovnávacího měření vzorků séra naředěných v poměru 1:3

Matice pro sérum Průměrná naměřená koncentrace (log ₁₀ IU/ml) n = 9	Ředící roztok Průměrná naměřená koncentrace (log ₁₀ IU/ml) n = 18	Rozdíl ředěných a neředěných vzorků (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

Ředění vzorků roztokem k ředění vzorků Aptima (1:100)

Přesnost detekce DNA HBV ve vzorcích plazmy nebo séra ředěných roztokem k ředění vzorků Aptima byla hodnocena pomocí osmi vzorků plazmy a osmi vzorků séra obohacených virem HBV na koncentraci od 6 do 8 log₁₀ IU/ml a dále pomocí osmi vzorků plazmy a osmi vzorků séra obohacených plazmidy DNA HBV na koncentraci 9,16 log₁₀ IU/ml, a to vždy s 5 opakováními. Ředícího poměru 1:100 bylo dosaženo smísením jednoho dílu vzorku a 99 dílů roztoku k ředění vzorků Aptima krátce před testováním. K testování se použila jedna šarže testovacích reagentů ve dvou systémech Panther se dvěma šaržemi roztoku k ředění vzorků Aptima. U každého souboru vzorků byly vypočítány rozdíly mezi průměrnou naměřenou koncentrací v původní matici a průměrnou koncentrací ve vzorcích naředěných

roztokem k ředění vzorků Aptima (kdy se výsledek zředěného vzorku opravil ředicím poměrem). Tyto rozdíly uvádí Tabulka 17 (plazma) a Tabulka 18 (sérum).

Tabulka 17: Souhrn srovnávacího měření vzorků plazmy naředěných v poměru 1:100

Matice pro plazmu Průměrná naměřená koncentrace (log ₁₀ IU/ml) n = 5	Redicí roztok Průměrná naměřená koncentrace (log ₁₀ IU/ml) n = 10	Rozdíl ředěných a neředěných vzorků (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 Obohacená plazmidy DNA

Tabulka 18: Souhrn srovnávacího měření vzorků séra naředěných v poměru 1:100

Matice pro sérum Průměrná naměřená koncentrace (log ₁₀ IU/ml) n = 5	Redicí roztok Průměrná naměřená koncentrace (log ₁₀ IU/ml) n = 10	Rozdíl ředěných a neředěných vzorků (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 Obohacená plazmidy DNA

Ověření LLoQ u vzorků ředěných roztokem k ředění vzorků Aptima

LLoQ testu Aptima HBV Quant byla ověřena na klinických vzorcích HBV genotypu A ředěných roztokem k ředění vzorků Aptima. Tyto vzorky byly připraveny z HBV-negativní lidské plazmy a séra v koncentracích 21, 30 a 45 IU/ml. Každý panel vzorků byl krátce před testováním naředěn roztokem k ředění vzorků Aptima v poměru 1:3 na konečnou koncentraci přibližně 7, 10 a 15 IU/ml. V průběhu tří dnů bylo jednou šarží reagensů otestováno celkem 36 replikátů každého vzorku z panelu. Tímto testováním byla LLoQ HBV ve vzorcích plazmy nebo séra ředěných roztokem k ředění vzorků Aptima potvrzena jako ≤ 10 IU/ml. Tabulka 19 uvádí jednotlivé výsledky.

Tabulka 19: Ověření LLoQ – vzorky v roztoku k ředění vzorků Aptima

Matice	Podíl detekce	Aptima HBV Quant (IU/ml)	Aptima HBV Quant ($\log_{10}$ IU/ml)	SD ($\log_{10}$ IU/ml)	Vychýlení měření ($\log_{10}$ IU/ml)	Vypočtená TE ($\log_{10}$ IU/ml)	Vypočtená TAE ($\log_{10}$ IU/ml)
Plazma	100 %	3	0,50	0,19	0,10	0,54	0,48
Sérum	100 %	2	0,38	0,12	0,46	0,33	0,70

Preciznost u ředěných vzorků

Na zkoušku preciznosti testu Aptima HBV Quant byl použit panel vzorků vytvořených rozředěním HBV-pozitivní plazmy a plazmidů DNA HBV do HBV-negativní klinické plazmy a séra. Pozitivní panely vzorků byly rozředěny roztokem k ředění vzorků Aptima. Testování provedl jeden laborant v sériích s pěti replikáty pomocí tří šarží roztoku k ředění vzorků Aptima v jednom systému Panther, a to v rámci dvou sérií měření denně po dobu tří dnů.

Tabulka 20 znázorňuje preciznost výsledků testu (v SD $\log_{10}$ IU/ml) u všech tří šarží roztoku k ředění vzorků Aptima. Celková variabilita byla $\leq 0,15$ SD u všech vzorků z panelu a šarží ředícího roztoku.

Tabulka 20: Ověření preciznosti u panelů vzorků ředěných v roztoku k ředění vzorků Aptima

Matice	Cílová koncentrace $\log_{10}$ IU/ml	Ředění	1. šarže roztoku k ředění vzorků (n = 10)		2. šarže roztoku k ředění vzorků (n = 10)		3. šarže roztoku k ředění vzorků (n = 10)		Kombinace šarží (n = 30)	
			Průměrná hodnota $\log_{10}$ IU/ml	SD	Průměrná hodnota $\log_{10}$ IU/ml	SD	Průměrná hodnota $\log_{10}$ IU/ml	SD	Průměrná hodnota $\log_{10}$ IU/ml	SD
Plazma	3,30	Neředěné	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	Neředěné	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	Neředěné	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
Sérum	3,30	Neředěné	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	Neředěné	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	Neředěné	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 = směrodatná odchylka.

^a Jeden replikát byl vyřazen (nad vypočitatelným rozmezím).

^b Dva replikáty byly vyřazeny (nad vypočitatelným rozmezím).

Křížová kontaminace

Aby se prokázalo, že systém Panther minimalizuje riziko falešně pozitivních výsledků vyplývajících z křížové kontaminace, byla provedena studie s použitím obohacených panelů vzorků na třech systémech Panther. Křížová kontaminace byla hodnocena pomocí vzorků plazmy obohacených o vysokou koncentraci DNA HBV ($8 \log_{10}$ IU/ml) rozptýlených mezi HBV-negativními vzorky v šachovnicovém vzoru. Testování proběhlo v patnácti sériích měření. Celková míra křížové kontaminace byla 0,14 % (1/705).

Reprodukovatelnost

Reprodukovatelnost byla hodnocena pomocí systému Panther na třech externích amerických pracovištích. Na každém pracovišti testy prováděli dva laboranti. Každý laborant prováděl dvě série měření denně po dobu tří dní, a to se třemi šaržemi reagensů. Každá série měření zahrnovala tři replikáty každého vzorku z panelu. Celkem bylo tedy otestováno 108 replikátů každého vzorku z panelu.

Reprodukovatelnost byla zkoušena na panelu vzorků připravených pomocí HBV-negativní plazmy. Pozitivní vzorky z panelu byly pozitivní na genotypy HBV A nebo C. Koncentrace DNA HBV pokrývaly celý lineární rozsah tohoto testu.

Tabulka 21 uvádí reprodukovatelnost a preciznost výsledků testu u jednotlivých pozitivních vzorků z panelu mezi pracovišti, mezi laboranty a jednotlivými dny, mezi šaržemi, mezi sériemi měření, v rámci série měření a celkově.

Variační koeficient byl vypočítán následující rovnicí, kde σ^2 představuje výběrový rozptyl souboru dat po transformaci $\log_{10}$.

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

U všech HBV-pozitivních vzorků z panelu byla 100% shoda.

Tabulka 21: Reprodukovatelnost stanovení koncentrací DNA HBV u pozitivních vzorků z panelu testem Aptima HBV Quant v systému Panther

GT	N	Pozorovaný průměr		Procentuální podíl na celkovém rozptylu SD (% CV)					Celková variance SD (% CV)
		IU/ml	log ₁₀ IU/ml	Mezi pracovišti	Mezi laboranty/dny ^a	Mezi šaržemi	Mezi sériemi	V rámci sérií	
A	108	17,6	1,2	0,059 (13,578)	< 0,001 (< 0,001)	0,138 (32,693)	0,090 (20,869)	0,178 (42,883)	0,250 (62,666)
	108	129,4	2,1	0,009 (2,162)	0 (0)	0,074 (17,109)	0,051 (11,869)	0,106 (24,736)	0,139 (32,886)
	107	1056,0	3,0	0,035 (7,994)	0,032 (7,432)	0,014 (3,246)	0,032 (7,356)	0,085 (19,666)	0,103 (24,060)
	108	7663,0	3,9	0 (0)	0,027 (6,262)	0,040 (9,235)	0,044 (10,088)	0,066 (15,194)	0,092 (21,540)
	108	188172,1	5,3	0,027 (6,281)	0,042 (9,707)	0,042 (9,787)	0,030 (6,829)	0,072 (16,689)	0,102 (23,772)
	108	9389094,1	7,0	0,038 (8,846)	0 (0)	0,031 (7,237)	0,064 (14,791)	0,068 (15,756)	0,106 (24,692)
	107	86664677,2	7,9	0,038 (8,692)	0,029 (6,753)	0,020 (4,584)	0,037 (8,635)	0,049 (11,375)	0,081 (18,725)
	107	753726183,2	8,9	0,024 (5,476)	0,052 (11,997)	0,015 (3,499)	0,045 (10,304)	0,053 (12,187)	0,091 (21,163)
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	217400,5	5,3	0,031 (7,255)	0,047 (10,843)	0,016 (3,791)	0,026 (6,023)	0,063 (14,685)	0,090 (21,044)
	108	12087179,5	7,1	0,046 (10,543)	0 (0)	0,020 (4,652)	0,064 (14,762)	0,073 (16,922)	0,109 (25,501)
	108	57743712,8	7,8	0,044 (10,232)	0,028 (6,472)	0,013 (2,944)	0,043 (10,026)	0,052 (12,010)	0,087 (20,146)
	108	572184754,9	8,7	0,042 (9,711)	0,048 (11,160)	0,028 (6,374)	0,034 (7,740)	0,048 (11,081)	0,091 (21,208)

% CV = logaritmicke-normální variační koeficient, GT = genotyp a SD = směrodatná odchylka.

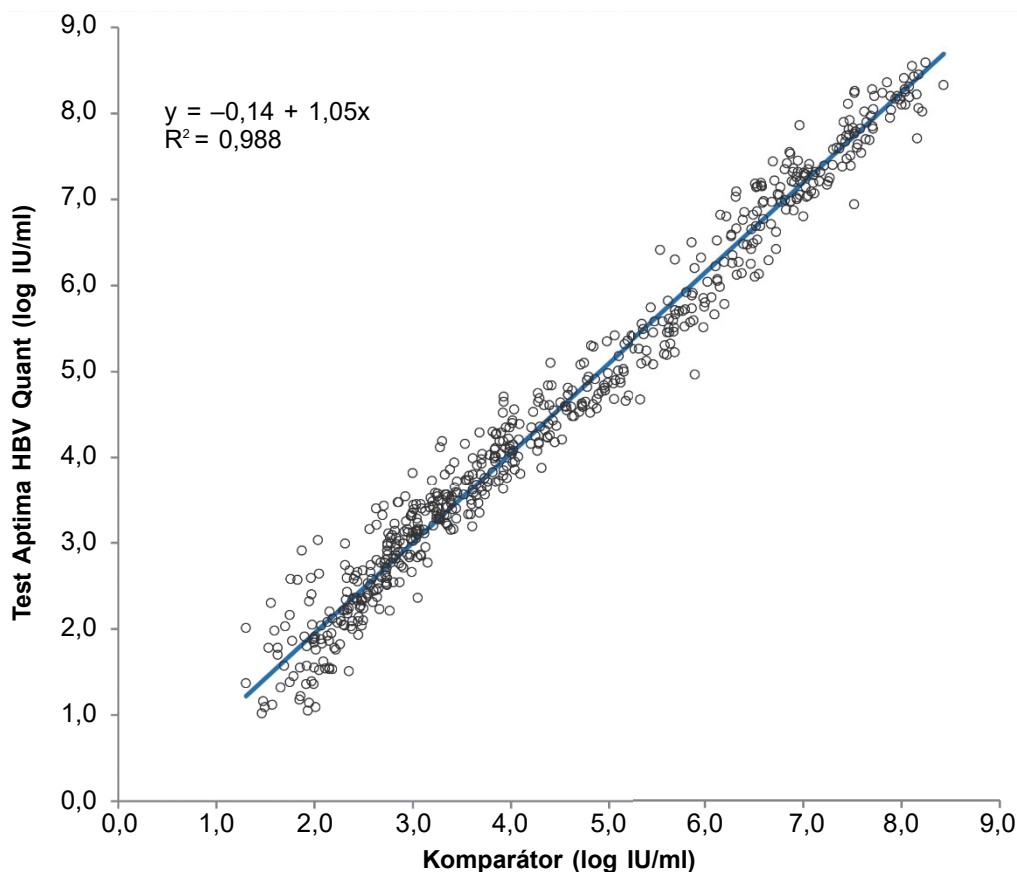
Poznámka: Variabilita některých koeficientů může dosahovat záporných číselných hodnot. K tomu dochází v případě, že je variabilita u těchto faktorů velmi nízká. V těchto případech je hodnota SD a CV uvedena jako 0.

^a Odchylku mezi laboranty je možné nedopatřením zaměnit s odchylkou mezi dny, tyto hodnoty jsme proto sloučili do jedné.

Klinická funkční způsobilost

Korelace metod

Funkční způsobilost testu Aptima HBV Quant byla hodnocena schváleným srovnávacím testem s označením CE a Health Canada, který spočíval v měření neřaděných klinických vzorků od pacientů infikovaných HBV. Pro lineární regresi bylo použito celkem 614 klinických vzorků v lineárním rozsahu společném pro oba testy, jak znázorňuje Obrázek 9.



Obrázek 9. Korelace testu Aptima HBV Quant se srovnávacím testem

Klinické využití

Tato studie byla navržena k vyhodnocení schopnosti testu Aptima HBV Quant predikovat virologické, biochemické a sérologické koncové body 48 týdnů od zahájení léčby. Vzorky byly prospektivně odebrány u subjektů s chronickou infekcí HBV, které v rámci běžné léčby začínali podstupovat monoterapii entekavirem nebo tenofovirem.

Z celkového počtu 331 zařazených subjektů bylo 86 vyřazeno kvůli odvolání souhlasu, přerušení léčby, absenci výsledků z 48. týdne nebo nízké původní virové zátěži DNA HBV či její absenci. Zbývajících 245 subjektů bylo hodnoceno alespoň z hlediska jednoho z koncových bodů klinického využití, a to včetně 126 subjektů s HBeAg(+) a 119 subjektů s HBeAg(-). Tabulka 22 ukazuje demografické a výchozí klinické charakteristiky hodnotitelných subjektů. Demografické rozdělení subjektů v této studii odpovídalo pacientům s chronickou infekcí HBV v USA.¹³ Údaje HBeAg(+) a HBeAg(-) subjektů byly analyzovány zvlášť.

Tabulka 22: Demografické údaje a výchozí klinické vlastnosti hodnotitelných subjektů

Vlastnosti		Celkem
Celkem, N	N	245
Entekavir	n (%)	94 (38,4)
Tenofovir	n (%)	151 (61,6)
Pohlaví, n (%)	Mužské	154 (62,9)
	Ženské	91 (37,1)
Věk (roky)	Průměr ± SD	43,5 ± 13,63
	Medián	44,0
	Rozsah	18–83
Věková kategorie (roky), n (%)	18–29	40 (16,3)
	30–49, n (%)	120 (49,0)
	50–70, n (%)	80 (32,7)
	> 70, n (%)	5 (2,0)
Etnikum, n (%)	Hispánské či latinskoamerické	7 (2,9)
	Jiné než hispánské či latinskoamerické	236 (96,3)
	Neznámá či neuvedená	2 (0,8)
Rasa ^a , n (%)	Běloši	89 (36,3)
	Černoši a afroameričané	16 (6,5)
	Asijci	132 (53,9)
	Původní obyvatelé USA a Aljašky	0 (0,0)
	Původní obyvatelé Havaje / ostrovů v Tichomoří	6 (2,4)
	Jiné	1 (0,4)
	Neznámá či neuvedená	1 (0,4)
Genotyp, n (%)	A	28 (11,4)
	B	64 (26,1)
	C	36 (14,7)
	D	47 (19,2)
	E	2 (0,8)
	F	0 (0,0)
	G	0 (0,0)
	H	3 (1,2)
	Neznámé	65 (26,5)
Předchozí léčba HBV, n (%)	Ano	27 (11,0)
	Ne	218 (89,0)
Dříve užívané přípravky, 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)
	Jiné ^b	5 (18,5)
Výsledek předchozí léčby, n (%)	Neúspěšná	1 (3,7)
	Úspěšná	0 (0,0)
	Přerušena z jiných důvodů	26 (96,3)
Přítomnost HBsAg v séru, n (%)	Pozitivní/reaktivní	210 (85,7)
	Nestanoveno	35 (14,3)

Tabulka 22: Demografické údaje a výchozí klinické vlastnosti hodnotitelných subjektů (pokračování)

Vlastnosti		Celkem
Přítomnost cirhózy, n (%)	S cirhózou	26 (10,6)
	Bez cirhózy	201 (82,0)
	Nestanoveno	18 (7,3)
Virová nálož HBV (log ₁₀ IU/ml)	Průměr ± SD	6,3 ± 1,93
	Medián	6,4
	Rozsah	3–9
ALT (jednotky/l)	Průměr ± SD	102,4 ± 175,97
	Počet nad ULN ^c	177 (85,9)

^a Subjekty mohly uvádět více ras.^b Různé kombinace uvedených léčivých přípravků.^c Horní mez normálního rozmezí (ULN) alaninaminotransferázy (ALT) byla 30 jednotek/l u mužů a 19 jednotek/l u žen.

Predikce odpovědi na léčbu antivirotiky

Klinické využití testu Aptima HBV Quant bylo hodnoceno u osob léčených tenofovirem a entekavirem. O klinickém využití testu při použití jiných antivirotik proti HBV nejsou dostupné žádné informace.

Definice:

Výsledky časné virologické odpovědi

Virologická odpověď po 12 a 24 týdnech = podle testů Aptima HBV Quant provedených v systému Panther je koncentrace DNA HBV < 10 IU/ml (< LLoQ).

Alternativní virologická odpověď po 12 týdnech = koncentrace DNA HBV oproti původní hodnotě klesla o $\geq 2 \log_{10}$.

Alternativní virologická odpověď po 24 týdnech = koncentrace DNA HBV < 2000 IU/ml (u HBeAg+ subjektů) nebo < 50 IU/ml (u HBeAg- subjektů).

Koncové body klinického využití

Virologická odpověď po 48 týdnech = podle schváleného kvantitativního testu je DNA HBV < 10 IU/ml (< LLoQ).

Alternativní virologická odpověď po 48 týdnech = podle schváleného kvantitativního testu je DNA HBV < 50 IU/ml.

Biochemická odpověď = normalizace výsledků stanovení ALT po 48 týdnech (koncentrace ALT < 30 jednotek/l u mužů a < 19 jednotek/l u žen).

Sérologická odpověď = ztráta HBeAg (HBeAg-negativní výsledky) po 48 týdnech.

Míra souvislosti a prediktivní hodnoty

Pozitivní prediktivní hodnota (Positive Predictive Value – PPV) = skutečně pozitivní výsledky / (skutečně pozitivní výsledky + falešně pozitivní výsledky) nebo pravděpodobnost odpovědi po 48 týdnech (u hodnoceného koncového bodu klinického využití) u subjektů s časnou virologickou odpovědí.

Negativní prediktivní hodnota (Negative Predictive Value – NPV) = skutečně negativní výsledky / (skutečně negativní výsledky + falešně negativní výsledky) nebo pravděpodobnost absence odpovědi po 48 týdnech (u hodnoceného koncového bodu klinického využití) u subjektů bez časné odpovědi.

Poměr šancí (Odds Ratio – OR) = (skutečně pozitivní × skutečně negativní) / (falešně pozitivní × falešně negativní)

Predikce virologické odpovědi po 48 týdnech definované jako DNA HBV < 10 IU/ml

V této studii byla primární definicí virologické odpovědi koncentrace DNA HBV < 10 IU/ml. Tato definice byla použita pro časnou virologickou odpověď po 12 a 24 týdnech i pro virologickou odpověď po 48 týdnech. Dále byla hodnocena souvislost mezi časnými virologickými odpověďmi po 12 a 24 týdnech a koncovými body klinického využití po 48 týdnech (virologická odpověď, biochemická odpověď a sérologická odpověď).

Predikce virologické odpovědi po 48 týdnech

Shrnutí souvislosti virologické odpovědi po 48 týdnech a virologické odpovědi po 12 a 24 týdnech uvádí Tabulka 23.

Časné virologické odpovědi po 12 a 24 týdnech jako prediktory virologické odpovědi po 48 týdnech v závislosti na týdnech a léčbě.

Tabulka 23: PPV, NPV a poměr šancí virologické odpovědi predikované na základě časné virologické odpovědi během léčby: Virologická odpověď po 48 týdnech definovaná jako < 10 IU/ml

Stav HBeAg	Týden časné virologické odpovědi	Léčba	PPV (%)		NPV (%)		Poměr šancí
			Odhad (95% CI)	n/N	Odhad (95% CI)	n/N	Odhad (95% CI) ^{a,b}
HBeAg(+)	12	Entekavir	0,0 (0,0; 93,2)	0/1	82,5 (80,0; 88,4)	33/40	1,49 (< 0,01; 30,95)
		Tenofovir	100 (27,3; 100)	2/2	74,4 (72,6; 78,7)	61/82	14,30 (1,11; > 999,99)
		Vše	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)
		Vše	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)
		Vše	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)
		Vše	87,6 (82,7; 92,6)	78/89	62,5 (44,8; 78,0)	15/24	11,82 (4,30; 34,94)

CI = 95 % interval spolehlivosti založený na profilové věrohodnosti

^a Tmavě zvýrazněné hodnoty jsou statisticky významné poměry šancí.

^b Kdykoli byla při výpočtu poměrů šancí a jejich intervalů spolehlivosti alespoň jedna buňka nula, byla ke všem buňkám přičtena hodnota 0,5.

Predikce biochemické odpovědi po 48 týdnech

Tabulka 24 uvádí shrnutí souvislosti biochemické odpovědi po 48 týdnech a virologické odpovědi po 12 a 24 týdnech.

Hodnota časně virologické odpovědi po 12 a 24 týdnech jako prediktor biochemické odpovědi po 48 týdnech v závislosti na týdnech a léčbě.

Tabulka 24: PPV, NPV a poměr šancí biochemické odpovědi predikované na základě časně virologické odpovědi během léčby: Virologická odpověď po 48 týdnech definovaná jako < 10 IU/ml

Stav HBeAg	Týden časně virologické odpovědi	Léčba	PPV (%)		NPV (%)		Poměr šancí
			Odhad (95% CI)	n/N	Odhad (95% CI)	n/N	Odhad (95% CI) ^a
HBeAg(+)	12	Entekavir	NC (NC)	0/0	67,9 (63,4–76,1)	19/28	2,05 (0,01–393,52)
		Tenofovir	100 (27,6; 100)	2/2	58,5 (55,1; 63,9)	31/53	7,00 (0,54; 983,90)
		Vše	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)
		Vše	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)
		Vše	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)
		Vše	44,2 (37,8; 50,8)	23/52	78,6 (55,1; 95,0)	11/14	2,91 (0,80; 13,98)

CI = 95 % interval spolehlivosti založený na profilové věrohodnosti, NC = nelze vypočítat.

^a Kdykoli byla při výpočtu poměrů šancí a jejich intervalů spolehlivosti alespoň jedna buňka nula, byla ke všem buňkám přičtena hodnota 0,5.

Predikce sérologické odpovědi po 48 týdnech

Tabulka 25 uvádí shrnutí souvislosti sérologické odpovědi po 48 týdnech a virologické odpovědi po 12 a 24 týdnech.

Hodnota časně virologické odpovědi po 12 a 24 týdnech jako prediktor sérologické odpovědi po 48 týdnech v závislosti na týdnech a léčbě.

Tabulka 25: PPV, NPV a poměr šancí sérologické odpovědi predikované na základě časně virologické odpovědi během léčby: Virologická odpověď po 48 týdnech definovaná jako < 10 IU/ml

Stav HBeAg	Týden časně virologické odpovědi	Léčba	PPV (%)		NPV (%)		Poměr šancí
			Odhad (95% CI)	n/N	Odhad (95% CI)	n/N	Odhad (95% CI) ^a
HBeAg(+)	12	Entekavir	100 (6,5; 100)	1/1	86,8 (84,2; 93,9)	33/38	18,27 (0,86; > 999,99)
		Tenofovir	0,0 (0,0; 72,0)	0/2	82,9 (81,7; 86,0)	68/82	0,95 (< 0,01; 12,45)
		Vše	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)
		Vše	25,0 (8,5; 43,6)	5/20	85,4 (82,5; 89,4)	88/103	1,96 (0,57; 5,94)

CI = 95% interval spolehlivosti založený na profilové věrohodnosti

^a Kdykoli byla při výpočtu poměrů šancí a jejich intervalů spolehlivosti alespoň jedna buňka nula, byla ke všem buňkám přičtena hodnota 0,5.

Predikce virologické odpovědi po 48 týdnech definované jako DNA HBV < 50 IU/ml (alternativní definice)

Současně byly hodnoceny alternativní definice časné virologické odpovědi (po 12 a 24 týdnech) a virologické odpovědi po 48 týdnech (viz definice alternativních reakcí výše).

Tabulka 26 (virologická odpověď), Tabulka 27 (biochemická odpověď) a Tabulka 28 (sérologická odpověď) uvádí souhrny souvislostí koncových bodů klinického využití a virologické odpovědi po 12 a 24 týdnech s těmito alternativními definicemi virologické odpovědi.

Tabulka 26: PPV, NPV a poměr šancí virologické odpovědi predikované na základě časné virologické odpovědi během léčby: Virologická odpověď po 48 týdnech definovaná jako < 50 IU/ml

Stav HBeAg	Týden časné virologické odpovědi	Léčba	PPV (%)		NPV (%)		Poměr šancí
			Odhad (95% CI)	n/N	Odhad (95% CI)	n/N	Odhad (95% CI) ^{a,b}
HBeAg(+)	12	Entekavir	34,2 (26,9; 39,2)	13/38	66,7 (16,1; 98,2)	2/3	1,04 (0,09; 23,60)
		Tenofovir	55,1 (51,9; 59,4)	43/78	83,3 (43,5; 99,2)	5/6	6,14 (0,93; 120,54)
		Vše	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)
		Vše	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)
		Vše	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)
		Vše	96,9 (93,8; 99,2)	93/96	23,5 (7,0; 39,8)	4/17	9,54 (1,91; 53,22)

CI = 95% interval spolehlivosti založený na profilové věrohodnosti, NC = nelze vypočítat.

^a Tmavě zvýrazněné hodnoty jsou statisticky významné poměry šancí.

^b Kdykoli byla při výpočtu poměrů šancí a jejich intervalů spolehlivosti alespoň jedna buňka nula, byla ke všem buňkám přičtena hodnota 0,5, s výjimkou případů, kdy po 48 týdnech nebyly žádné odpovědi, nebo kdy po 48 týdnech došlo k odpovědi u všech subjektů – v těchto případech byl poměr šancí označený jako NC.

Tabulka 27: PPV, NPV a poměr šancí biochemické odpovědi predikované na základě časné virologické odpovědi během léčby: Virologická odpověď po 48 týdnech definovaná jako < 50 IU/ml

Stav HBeAg	Týden časné virologické odpovědi	Léčba	PPV		NPV		Poměr šancí
			Odhad (95% CI)	n/N	Odhad (95% CI)	n/N	Odhad (95% CI) ^{a,b}
HBeAg(+)	12	Entekavir	33,3 (25,1–39,0)	9/27	100 (6,7–100)	1/1	1,54 (0,07–233,77)
		Tenofovir	44,2 (39,6; 48,6)	23/52	66,7 (15,7; 98,2)	2/3	1,59 (0,14; 35,36)
		Vše	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)
		Vše	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)
		Vše	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)
		Vše	42,6 (36,4; 48,9)	23/54	75,0 (48,8; 93,7)	9/12	2,23 (0,59; 10,87)

CI = 95% interval spolehlivosti založený na profilové věrohodnosti

^a Tmavě zvýrazněné hodnoty jsou statisticky významné poměry šancí.

^b Kdykoli byla při výpočtu poměrů šancí a jejich intervalů spolehlivosti alespoň jedna buňka nula, byla ke všem buňkám přičtena hodnota 0,5.

Tabulka 28: PPV, NPV a poměr šancí sérologické odpovědi predikované na základě časné virologické odpovědi během léčby: Virologická odpověď po 48 týdnech definovaná jako < 50 IU/ml

Stav HBeAg	Týden časné virologické odpovědi	Léčba	PPV		NPV		Poměr šancí
			Odhad (95% CI)	n/N	Odhad (95% CI)	n/N	Odhad (95% CI) ^{a,b}
HBeAg(+)	12	Entekavir	16,7 (10,4; 19,6)	6/36	100 (44,1; 100)	3/3	1,49 (0,12; 209,89)
		Tenofovir	16,7 (12,9; 18,6)	13/78	83,3 (44,2; 99,2)	5/6	1,00 (0,14; 19,98)
		Vše	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)
		Vše	24,4 (20,0; 28,4)	19/78	97,8 (90,4; 99,9)	44/45	14,17 (2,77; 259,25)

CI = 95% interval spolehlivosti založený na profilové věrohodnosti

^a Tmavě zvýrazněné hodnoty jsou statisticky významné poměry šancí.

^b Kdykoli byla při výpočtu poměrů šancí a jejich intervalů spolehlivosti alespoň jedna buňka nula, byla ke všem buňkám přičtena hodnota 0,5.

Závěr

Celkové výsledky prokazují, že test Aptima HBV Quant může být použit k měření výchozích koncentrací DNA HBV a změn koncentrací během léčby a je vhodný k hodnocení virové odpovědi na léčbu. Tato studie prokázala, že časně virologické odpovědi po 12 a 24 týdnech slouží jako prediktory virologické odpovědi po 48 týdnech v závislosti na týdnech a léčbě.

Test Aptima HBV Quant může sloužit jako pomůcka při léčbě pacientů s chronickou infekcí HBV, kteří užívají antivirotika proti HBV.

Literatura

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

Kontaktní údaje a historie revizí



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



Hologic BV
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgie

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

E-mailovou adresu a telefonní číslo oddělení technické podpory a zákaznických služeb ve vaší zemi najdete na adrese www.hologic.com/support.

Závažné události, ke kterým dojde v souvislosti s prostředkem v Evropské unii, mají být hlášeny výrobcí a příslušnému orgánu členského státu, ve kterém je uživatel a/nebo pacient usazen.

Hologic, Aptima, Panther, Panther Fusion a související loga jsou ochranné známky a/nebo registrované ochranné známky společnosti Hologic, Inc., a/nebo jejích dceřiných společností v USA nebo v jiných zemích. Veškeré ostatní ochranné známky, které se mohou vyskytnout v této příbalové informaci, jsou majetkem příslušných vlastníků.

Veškeré ostatní ochranné známky, které se mohou vyskytnout v této příbalové informaci, jsou majetkem příslušných vlastníků.

Tento produkt může být chráněn jedním či více patenty USA uvedenými na adrese www.hologic.com/patents.

© 2017–2025 Hologic, Inc. Všechna práva vyhrazena.

AW-28215-2601 Rev. 003

2025-10

Historie revizí	Datum	Popis
AW-28215-2601 Rev. 001	Červenec 2025	První vydání nového návodu k použití testu Aptima HBV Assay AW-28215 Revize 001 pro splnění regulačních požadavků IVDR, které nahradí AW-13182.
AW-28215-2601 Rev. 002	Srpen 2025	Aktualizace ochranných známek pro splnění požadavků BSI.
AW-28215-2601 Rev. 003	Říjen 2025	- Přidána možnost třepačky zkumavek. - Aktualizace bezpečnostního listu.