

Aptima® HBV Quant vizsgálat

Használati útmutató
In vitro diagnosztikai használatra
 Kizárólag USA-ba történő exportra

Általános tudnivalók	2
Alkalmazási terület	2
A teszt összefoglalása és leírása	2
Az eljárás alapelvei	3
A biztonságosság és a teljesítőképesség összefoglalása	3
Figyelmeztetések és óvintézkedések	4
Reagenstárolási és -kezelési előírások	9
Mintavétel és -tárolás	9
Minták a Panther rendszerben	13
A vizsgálati minta szállítása	13
Panther rendszer	14
Mellékelt reagensek és anyagok	14
Szükséges, de külön beszerezhető anyagok	15
Opcionális anyagok	16
A Panther rendszer teszteljárás	17
Megjegyzések az eljáráshoz	20
Minőség-ellenőrzés	22
A vizsgálat kalibrálása	22
Negatív és pozitív kontrollok	22
Belső kalibrátor/belső kontroll	22
Az eredmények értelmezése	23
Korlátozások	24
Analitikai teljesítőképesség	25
Kimutatási határérték a WHO 3. nemzetközi szabványának alkalmazásával	25
A kimutatási határérték az egyes HBV genotípusok esetében	25
Lineáris tartomány	26
Linearitás az egyes HBV genotípusok esetén	27
A WHO 3. nemzetközi standardjának alkalmazásával megállapított alsó mennyiségi határértékek	27
A mennyiségi meghatározás alsó határa az egyes HBV genotípusok esetében	29
Visszavezethetőség a 3. WHO nemzetközi standardra	31
Precizitás	31
Potenciálisan interferáló anyagok	33
Analitikai specificitás	35
Mátrix ekvivalencia	36
Minta hígítása Aptima vizsgálatiminta-hígítóval (1:3)	36
Minta hígítása Aptima vizsgálatiminta-hígítóval (1:100)	37
Az LLoQ megerősítése az Aptima vizsgálatiminta-hígítóval hígított mintákban	39
A hígított minták precizitása	39
Átvitel	40
Reprodukálhatóság	40
Klinikai teljesítőképesség	42
Módszer-korreláció	42
Klinikai hasznosság	42
Irodalomjegyzék	51
Elérhetőségek és felülvizsgálati előzmények	52

Általános tudnivalók

Alkalmazási terület

Az Aptima® HBV Quant vizsgálat egy *in vitro* nukleinsav-amplifikációs teszt a hepatitis B vírus (HBV) DNS-mennyiségének meghatározására emberi plazmában és szérumban a teljesen automatizált Panther™ rendszerrel.

A plazma etilén-diamin-tetraecetsav (EDTA), véralvadásgátló citrát-dextróz (ACD) oldatban és plazmaelőkészítő csövekben (PPT-k) készíthető elő. A szérumban szérumszeparátor csövekben (SST-k) készíthető elő. A vizsgálati mintákat a teljesen automatizált Panther rendszerrel vizsgálják a minta feldolgozására, amplifikálására és kvantitatív meghatározására. Az A, B, C, D, E, F, G és H HBV genotípust tartalmazó mintákat a tesztben történő kvantitatív meghatározásra validálják.

Az Aptima HBV Quant vizsgálat a HBV elleni gyógyszeres kezelés alatt álló, krónikus HBV-fertőzésben szenvedő betegek kezelésének segítésére szolgál. A vizsgálat a HBV DNS-szintek mérésére használható a kiindulási vizsgálat során és a kezelés alatt, elősegítve a kezelésre adott vírusválasz értékelését. Az Aptima HBV Quant vizsgálat eredményeit az összes releváns klinikai és laboratóriumi lelet összefüggésében kell értelmezni.

Az Aptima HBV Quant teszt nem alkalmas a HBV DNS vérben vagy vérkészítményekben való jelenlétének szűrővizsgálatára vagy a HBV-fertőzés jelenlétének megerősítésére szolgáló diagnosztikai vizsgálatra.

A teszt összefoglalása és leírása

A hepatitis B vírus, a hepatitist okozó számos ismert vírus egyike, az élethosszig tartó HBV-fertőzést, májsugort, májrákot, májelégtelenséget és potenciálisan halált okozhat. Az Egészségügyi Világszervezet (WHO) a HBV-t a világ egyik leggyakoribb fertőző betegségeként tartja számon. A HBV-fertőzés prevalenciája és az átvitel módja világszerte nagyon eltérő. 2019-ben becslések szerint világszerte 296 millió ember élt krónikus HBV-fertőzéssel.¹ A HBV-fertőzés a máj dekompenzáció, a májsugor és a hepatocelluláris karcinóma (HCC) fokozott kockázatát eredményezi, amely évente világszerte 0,5–1,2 millió halálesetet okoz, és a májtranszplantációs esetek 5–10%-át teszi ki.^{2,3} A diagnózist követő megfelelő kezelés, beavatkozás és megfigyelés nélkül a májsugor 5 éves kumulatív incidenciája 8–20% között mozog. A májsugor kialakulása után a hepatocelluláris karcinóma éves kockázata 2–5%.⁴

A HBV egy körülbelül 3200 bázispárból álló, részben kettősszálú, cirkuláris DNS-genomot tartalmaz, amely négy, részben átfedő open reading frame (ORF) gént kódol, amelyek a polimeráz, a felszíni, a precore/core és az X-fehérjéket expresszálnak. A polimeráz ORF átfedésben van a másik három ORF-fel, és egy kulcsfontosságú vírusreplikációs fehérjét, a polimerázt kódolja. A felszíni ORF három fehérjét expresszál, amelyek nélkülözhetetlenek a vírus morfogeneziséhez, a vírus hepatocitákba való bejutásához és a gazdaszervezet immunválaszának kiváltásához.⁵ A HBV-nek 8 genotípusa van (A–H), és ezek jellemzően különböző földrajzi helyeken fordulnak elő.

A krónikus hepatitis B fertőzés dinamikus jellege miatt fontos a HBV-DNS és az alanin-aminotranszferáz (ALT) szintek folyamatos ellenőrzése.⁶ A vírusellenes kezelésben részesülő HBV-fertőzöttek többsége esetében a cél a HBV-DNS-szuppresszió. A széles lineáris tartományú kvantitatív nukleinsavtesztek hatékony eszközök a HBV-DNS vírusszámának ellenőrzésére a kezelés során.

Az eljárás alapelvei

Az Aptima HBV Quant vizsgálat egy *in vitro* nukleinsav-amplifikációs teszt, amely valós idejű transzkripciómediált amplifikációs (TMA) technológiát alkalmaz a Panther rendszeren a HBV DNS, A, B, C, D, E, F, G és H genotípusok mennyiségi meghatározására. Az Aptima HBV Quant vizsgálat a polimeráz és a felszíni gének két erősen konzervált régióját célozza (a potenciális mutációkkal szembeni nagyobb tolerancia érdekében). A vizsgálata WHO 3. nemzetközi hepatitis B vírus szabványára (NIBSC-kód: 10/264) standardizált.

Az Aptima HBV Quant vizsgálat három fő lépést foglal magában, amelyek mindegyike egyetlen csőben zajlik a Panther rendszerben: a célmolekula megkötése, a célmolekula TMA általi amplifikációja és az amplifikációs termékek (amplikon) kimutatása fluoreszcens jelölésű próbákkal (fáklyákkal).

A célmolekula megkötése során a vírus DNS-t izolálják a mintákból. A mintát detergenssel kezelik a vírusburok szolubilizálása, a fehérjék denaturálása és a vírus genom DNS felszabadítása érdekében. A megkötő oligonukleotidok a HBV-DNS erősen konzervált régióihoz hibridizálódnak, ha azok jelen vannak a vizsgálati mintában. A hibridizált célmolekulát ezután mágneses mikroszemcsékre rögzítik, amelyeket mágneses térben választják el a vizsgálati mintától. A mosási lépések eltávolítják az idegen komponenseket a reakciócsőből.

A célmolekulák amplifikációja TMA-val történik, amely egy transzkripciómediált nukleinsav-amplifikációs módszer, amely két enzimet, a Moloney egér leukémiavírus (MMLV) reverz transzkriptázát és a T7 RNS-polimerázt alkalmazza. A reverz transzkriptáz segítségével létrehozzák a célszekvencia DNS-kópiáját (amely a T7 RNS-polimeráz promotorszekvenciáját tartalmazza). A T7 RNS-polimeráz a DNS-kópia alapján több kópiát készít az RNS amplikonból. Az Aptima HBV Quant vizsgálat a TMA-módszert alkalmazza a HBV genom két régiójának (polimeráz gén és felszíni gén) amplifikálásához. Az említett régiók amplifikációja a HBV A, B, C, D, E, F, G és H genotípusainak amplifikálására tervezett specifikus primerekkel történik. A kettős célrégiós megközelítés az erősen konzervált régiókra irányuló primerekkel biztosítja a HBV-DNS pontos mennyiségi meghatározását.

A detektálás egyszálú nukleinsavfáklyákkal történik, amelyek a célmolekula amplifikációja során jelen vannak, és valós időben specifikusan hibridizálnak az amplikonhoz. Minden fáklya rendelkezik egy fluorofórral és egy kioltóval. Amikor a fáklya nem hibridizálódik az amplikonhoz, a kioltó a fluorofór közelében van, és elnyomja a fluoreszcenciát. Amikor a fáklya az amplikonhoz kötődik, a kioltó távolabb kerül a fluorofortól, és egy fényforrás által gerjesztve egy adott hullámhosszon jelet fog kibocsátani. Minél több fáklya hibridizálódik az amplikonhoz, annál nagyobb fluoreszcens jel keletkezik. A fluoreszcens jel meghatározott küszöbérték eléréséhez szükséges idő arányos a kiindulási HBV-koncentrációval. Minden reakció rendelkezik egy belső kalibrátorral/belső kontrollal (IC), amely ellenőrzi a vizsgálati minta feldolgozásában, az amplifikációban és a detektálásban előforduló eltéréseket. A minta koncentrációját a Panther rendszer szoftver határozza meg az egyes reakciók HBV és IC jeleinek felhasználásával és a kalibrációs adatokkal való összehasonlításával.

A biztonságosság és a teljesítőképesség összefoglalása

Az SSP (Summary of Safety and Performance – A biztonságosság és a teljesítőképesség összefoglalása) elérhető az orvostechikai eszközök európai adatbázisában (Eudamed), ahol az alapvető eszközazonosítókhoz (Basic UDI-DI) kapcsolódik. Az Aptima HBV Quant vizsgálat SSP-jének megkereséséhez tekintse meg az alapvető egyedi eszközazonosítót (BUDI): 54200455DIAGAPTHBVA.

Figyelmeztetések és óvintézkedések

- A. *In vitro* diagnosztikai használatra.
- B. Szakemberek általi használatra.
- C. Az érvénytelen eredmények kockázatának csökkentése érdekében a vizsgálat elvégzése előtt figyelmesen olvassa el a teljes használati utasítást és a *Panther/Panther Fusion™ rendszer kezelői kézikönyvét*.
- D. A célfokozó reagens (TER) maró hatású. Lásd a biztonsági adatlapra vonatkozó információkat e szakasz végén.

Laboratóriumhoz kapcsolódó

- E. FIGYELEM: A vizsgálat kontrolljai humán plazmát tartalmaznak. A plazma nem reagál a hepatitis B felszíni antigénre (HBsAg), a HCV elleni antitestekre, a HIV-1 és HIV-2 antitestekre és a HIV antigénre, ha az USA Élelmiszer- és Gyógyszerügyi Hatósága által engedélyezett eljárásokkal vizsgálják. Ezenkívül a plazma nem reagál a HBV DNS-re, a HCV RNS-re és a HIV-1 RNS-re, ha engedélyezett nukleinsavtesztekkel vizsgálják. Minden emberi vérből származó anyagot potenciálisan fertőzőnek kell tekinteni, és az általános óvintézkedésekkel kell kezelni.^{7,8,9}
- F. Ezt az eljárást kizárólag az Aptima HBV Quant vizsgálat használatára és a potenciálisan fertőző anyagok kezelésére megfelelően képzett személyzet végezheti el. Kiömlés esetén azonnal fertőtlenítsen a megfelelő helyi eljárásokkal.
- G. Kizárólag a gyártótól beszerzett vagy a gyártó által előírt egyszer használatos laboratóriumi eszközök használhatók.
- H. Tartsa be a rutinszerű laboratóriumi óvintézkedéseket. Ne pipettázzon szájon át. A kijelölt munkaterületeken tilos az étkezés, ivás vagy dohányzás. A minták és a készletek reagenseinek kezelése során viseljen egyszer használatos, púdermentes kesztyűt, védőszemüveget és laborköpenyt. A minták és a készletek reagenseinek kezelését követően a kezet alaposan meg kell mosni.
- I. A munkafelületeket, pipettákat és egyéb felszereléseket rendszeresen dekontaminálni kell 2,5–3,5%-os (0,35–0,5 M) nátrium-hipoklorit oldattal.
- J. A vizsgálati mintákkal és reagensekkel érintkezésbe került anyagokat a helyi, állami és szövetségi előírásoknak megfelelően ártalmatlanítsa.^{7,8,9,10} Alaposan tisztítsa és fertőtlenítsen minden munkafelületet.
- K. A kontrollok nátrium-azidot tartalmaznak tartósítószerként. Ne használjon fémcsövet a reagensek átviteléhez. Ha a nátrium-azid vegyületeket tartalmazó oldatokat vízvezetékrendszerbe juttatják, azokat hígítani kell, és bőséges mennyiségű folyóvízzel át kell öblíteni. Ezek az óvintézkedések a lerakódások felhalmozódásának elkerülése érdekében javasoltak a fémcsővezetékben, amelyekben robbanásveszélyes állapotok alakulhatnak ki.
- L. A molekuláris laboratóriumokra vonatkozó bevett szabványos gyakorlatok közé tartozik a környezeti ellenőrzés. A laboratóriumi környezet ellenőrzésére a következő eljárás javasolt:
 - 1. Vegyen elő egy vattapálcát, és párosítsa az Aptima vizsgálatiminta-alikvot csővel (SAT).
 - 2. Címkezzon fel megfelelően minden SAT-csövet.
 - 3. Töltsön meg minden SAT-csövet 1 ml Aptima vizsgálatiminta-hígítóval.
 - 4. A felületi minták levételéhez enyhén nedvesítse meg a vattapálcát nukleázmentes ioncserélt vízzel.

5. Függőleges fel-le mozdulatokkal törölje át a vizsgálni kívánt területet. Forgassa el a vattapálcát körülbelül másfél fordulattal, miközben áttörli a területet.
6. Azonnal helyezze a kenetmintát a csőbe, és óvatosan forgassa meg a vattapálcát a hígítószerben, hogy kivonja a vattapálcában lévő lehetséges anyagokat. Nyomja a vattapálcát a szállítócső oldalára, hogy a lehető legtöbb folyadékot kiperéselje. Dobja ki a vattapálcát, és zárja le a csövet.
7. Ismételje meg ezeket a lépéseket minden kenetminta esetében.
8. Tesztelje a kenetmintákat molekuláris vizsgálattal.

Vizsgálati mintához kapcsolódó

- M. A minták fertőzőek lehetnek. A vizsgálat végzése során alkalmazzon általános óvintézkedéseket ^{7,8,9}. A megfelelő kezelési és ártalmatlanítási módszereket a helyi szabályozásoknak megfelelően kell meghatározni. ¹⁰ Ezt az eljárást kizárólag az Aptima HBV Quant vizsgálat használatára és a fertőző anyagok kezelésére megfelelően képzett személyzet végezheti.
- N. A vizsgálati minta épségének megőrzése érdekében megfelelő tárolási körülményeket kell biztosítani a minta szállítása során. A vizsgálati minta stabilitását az ajánlástól eltérő szállítási körülmények között nem értékelték.
- O. A minták kezelési lépései során kerülje el a keresztszennyezést. Különösen ügyeljen arra, hogy elkerülje az aeroszolok terjedése miatti szennyezést, amikor a vizsgálati mintákat fellazítja vagy kibontja. A vizsgálati minták rendkívül nagy mennyiségű mikroorganizmust tartalmazhatnak. Ügyeljen arra, hogy a vizsgálatiminta-tartályok ne érintkezzenek egymással, és a felhasznált anyagokat ne a nyitott csövek felett áthaladva dobja ki. Ha megérinti a mintát, cserélje le a kesztyűjét.

Vizsgálathoz kapcsolódó

- P. A lejárati idő után ne használja a reagenskészletet, a kalibrátort vagy a kontrollokat.
- Q. A különböző törzstételszámú készletekből származó vizsgálati reagenseket nem szabad felcserélni, összekeverni vagy kombinálni. A vizsgálati folyadékok különböző tételszámúak lehetnek. A kontrollok és a kalibrátor különböző tételszámúak lehetnek.
- R. Kerülje a reagensek mikrobiális vagy nukleázzal történő szennyeződését.
- S. Zárja le és tárolja az összes vizsgálati reagenst a megadott hőmérsékleten. A nem az előírt módon tárolt vizsgálati reagensek befolyásolhatják a vizsgálat teljesítőképességét. További információkért lásd: *Reagenstárolási és -kezelési előírások* és *A Panther rendszer teszteljárás*.
- T. Ne öntse össze a vizsgálati reagenseket vagy folyadékokat erre vonatkozó utasítás nélkül. A reagenseket és folyadékokat nem szabad utántölteni. A Panther rendszer ellenőrzi a reagensek szintjét.
- U. Kerülje a TER bőrre, szembe és nyálkahártyára kerülését. Vízzel mossa le, ha ezzel a reagenssel érintkezik. Ha a reagens kiömlik, hígítsa fel vízzel, és kövesse a megfelelő helyszíni eljárásokat.
- V. A készletben lévő egyes reagensek veszélyjelzésekkel vannak ellátva.

Megjegyzés: A veszélyjelző mondatok megfelelnek az EU biztonsági adatlapokon (Safety Data Sheets, SDS) alkalmazott osztályoknak. Az Ön régiójában használt veszélyjelző információkat lásd a weboldalunkon – www.hologicsds.com – található biztonsági adatlap könyvtár régióspecifikus biztonsági adatlapján (SDS). A szimbólumokkal kapcsolatos további információkért lásd a <https://www.hologic.com/package-inserts> weboldalon található szimbólummagyarázatot.

Észak-Amerikai veszélyjelzések	
	HBV VL Kit kontrollok <i>Humán szérum /Humán plazma 95–100%</i> <i>Nátrium-azid <1%</i> — —
	Célfokozó reagens <i>Lithium Hydroxide, Monohydrate 5–10%</i> — — VESZÉLY H302 – Lenyelve ártalmas H314 – Súlyos bőregést és szemkárosodást okoz P264 – A használatot követően az arcot, kezét és a kitett bőrt alaposan meg kell mosni P270 – A termék használata közben tilos enni, inni vagy dohányozni. P330 – A szájat ki kell öblíteni. P501 – A tartalom/edény elhelyezése hulladékként: engedélyezett hulladéktátratlanító létesítményben. P260 – A por/füst/gáz/köd/gőzök/permet belélegzése tilos. P280 – Védőkesztyű/védőruha/szemvédő/arcvédő használata kötelező P301 + P330 + P331 – LENYELÉS ESETÉN: a szájat ki kell öblíteni. TILOS hánytatni P303 + P361 + P353 – HA BÖRRE (vagy hajra) KERÜL: Az összes szennyezett ruhadarabot azonnal le kell vetni. A bőrt le kell öblíteni vízzel/vagy zuhanyozás P304 + P340 – BELÉLEGZÉS ESETÉN: Az érintett személyt friss levegőre kell vinni és olyan nyugalmi testhelyzetbe kell helyezni, hogy könnyen tudjon lélegezni P305 + P351 + P338 – SZEMBE KERÜLÉS ESETÉN: Több percig tartó óvatos öblítés vízzel. Adott esetben a kontaktlencsék eltávolítása, ha könnyen megoldható. Az öblítés folytatása. P321 – Szakellátás (lásd a kiegészítő elsősegély-nyújtási utasításokat a címkén). P363 – A szennyezett ruhát újbóli használat előtt ki kell mosni P405 – Elzárva tárolandó P301 + P317 – LENYELÉS ESETÉN: orvosi segítséget kell kérni. P316 – Azonnal sürgősségi orvosi segítséget kell kérni.
EU H-mondatok	
 	Amplifikációs reagens <i>Magnesium Chloride 60–65%</i> — — H412 – Ártalmas a vízi élővilágra, hosszan tartó károsodást okoz. P273 – Kerülni kell az anyagnak a környezetbe való kijutását. P501 – A tartalom/edény elhelyezése hulladékként: jóváhagyott hulladékkezelő létesítményben.
	Enzimreagens <i>HEPES 1–5%</i> <i>Triton X-100 1–5%</i> — — H412 – Ártalmas a vízi élővilágra, hosszan tartó károsodást okoz. P273 – Kerülni kell az anyagnak a környezetbe való kijutását. P501 – A tartalom/edény elhelyezése hulladékként: jóváhagyott hulladékkezelő létesítményben.

—	Enzimoldószer <i>Glycerol 20–25%</i> <i>Triton X-100 5–10%</i> <i>HEPES 1–5%</i> — H412 – Ártalmas a vízi élővilágra, hosszan tartó károsodást okoz. P273 – Kerülni kell az anyagnak a környezetbe való kijutását. P501 – A tartalom/edény elhelyezése hulladékként: jóváhagyott hulladékkezelő létesítményben.
—	Promoterreagens <i>Magnesium Chloride 60–65%</i> — H412 – Ártalmas a vízi élővilágra, hosszan tartó károsodást okoz. P273 – Kerülni kell az anyagnak a környezetbe való kijutását. P501 – A tartalom/edény elhelyezése hulladékként: jóváhagyott hulladékkezelő létesítményben.
—	Célmolekula-megkötő reagens <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 – Ártalmas a vízi élővilágra, hosszan tartó károsodást okoz. P273 – Kerülni kell az anyagnak a környezetbe való kijutását. P501 – A tartalom/edény elhelyezése hulladékként: jóváhagyott hulladékkezelő létesítményben.
—	HBV VL Kit kalibrátorok <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 – Ártalmas a vízi élővilágra, hosszan tartó károsodást okoz. P273 – Kerülni kell az anyagnak a környezetbe való kijutását. P501 – A tartalom/edény elhelyezése hulladékként: jóváhagyott hulladékkezelő létesítményben.
  	HBV VL Kit kontrollok <i>Humán szérum /Humán plazma 95–100%</i> <i>Nátrium-azid <1%</i> — VESZÉLY H300 – Lenyelve halálos. H410 – Nagyon mérgező a vízi élővilágra, hosszan tartó károsodást okoz. P264 – A használatot követően az arcot, kezét és a kitett bőrt alaposan meg kell mosni. P273 – Kerülni kell az anyagnak a környezetbe való kijutását. P301 + P310 – LENYELÉS ESETÉN: Azonnal forduljon TOXIKOLÓGIAI KÖZPONTHOZ/orsvoshoz. P321 – Szakellátás (lásd a kiegészítő elsősegélynyújtási utasításokat ezen a címkén). P330 – A szájat ki kell öblíteni. P391 – A kiömlött anyagot össze kell gyűjteni.

Célfokozó reagens*Lithium Hydroxide, Monohydrate 5–10%***VESZÉLY**

H302 – Lenyelve ártalmas.

H314 – Súlyos égési sérülés és szemkárosodást okoz.

P264 – A használatot követően az arcot, kezet és a kitett bőrt alaposan meg kell mosni.

P270 – A termék használata közben tilos enni, inni vagy dohányozni.

P330 – A száját ki kell öblíteni.

P501 – A tartalom/edény elhelyezése hulladékként: jóváhagyott hulladékkezelő létesítményben.

P260 – A por/füst/gáz/köd/gőzök/permet belélegzése tilos.

P280 – Védőkesztyű/védőruha/szemvédő/arcvédő használata kötelező.

P301+ P330 + P331 – LENYELÉS ESETÉN: A száját ki kell öblíteni. TILOS hánytatni.

P303 + P361 + P353 – HA BŐRRE (vagy hajra) KERÜL: Az összes szennyezett ruhadarabot azonnal le kell vetni. A bőrt le kell öblíteni vízzel [vagy zuhanyozás].

P304 + P340 – BELÉLEGZÉS ESETÉN: Az érintett személyt friss levegőre kell vinni és olyan nyugalmi testhelyzetbe kell helyezni, hogy könnyen tudjon lélegezni.

P305 + P351 + P338 – SZEMBE KERÜLÉS ESETÉN: Több percig tartó óvatos öblítés vízze. Adott esetben a kontaktlencsék eltávolítása, ha könnyen megoldható. Az öblítés folytatása.

P310 – Azonnal forduljon TOXIKOLÓGIAI KÖZPONTHOZ vagy orvoshoz.

P321 – Szakellátás (lásd a kiegészítő elsősegély-nyújtási utasításokat a jelen címkén).

P363 – A szennyezett ruhadarabot újbóli használat előtt ki kell mosni.

P405 – Elzárva tárolandó.

Reagenstárolási és -kezelési előírások

- A. Az alábbi táblázat tartalmazza a reagensek, kontrollok és a kalibrátor tárolási körülményeit és stabilitását.

Reagens	Bontatlan tárolás	Bontott készlet (feloldott)	
		Tárolás	Stabilitás
qHBV amplifikációs reagens	2 °C és 8 °C között		
qHBV amplifikációs oldószer	2 °C és 8 °C között	2 °C és 8 °C között	30 nap ^a
qHBV enzimreagens	2 °C és 8 °C között		
qHBV enzimoldószer	2 °C és 8 °C között	2 °C és 8 °C között	30 nap ^a
qHBV promoterreagens	2 °C és 8 °C között		
qHBV promoteroldószer	2 °C és 8 °C között	2 °C és 8 °C között	30 nap ^a
qHBV célmolekula-megkötő reagens	2 °C és 8 °C között	2 °C és 8 °C között	30 nap ^a
qHBV PCAL (pozitív kalibrátor)	-15 °C és -35 °C között	15 °C és 30 °C között	Egyszer használatos üveg Használja fel 24 órán belül
qHBV NC CONTROL – (negatív kontroll)	-15 °C és -35 °C között	15 °C és 30 °C között	Egyszer használatos üveg Használja fel 24 órán belül
qHBV LPC CONTROL + (alacsony pozitív kontroll)	-15 °C és -35 °C között	15 °C és 30 °C között	Egyszer használatos üveg Használja fel 24 órán belül
qHBV HPC CONTROL + (magas pozitív kontroll)	-15 °C és -35 °C között	15 °C és 30 °C között	Egyszer használatos üveg Használja fel 24 órán belül
qHBV célfokozó reagens	15 °C és 30 °C között	15 °C és 30 °C között	30 nap ^a

^a Amikor a reagenseket kiveszik a Panther rendszerből, azonnal vissza kell helyezni őket a megfelelő tárolási hőmérsékletre.

- B. A fel nem használt feloldott reagenseket, a célmolekula-megkötő reagenst (TCR) és a célfokozó reagenst (TER) 30 nap vagy a törzstétel lejárat dátuma után dobja ki, attól függően, hogy melyik következik be előbb.
- C. A Panther rendszer fedélzetén tárolt reagensek a készülékben 72 órán át stabilak. A reagensek akár 8 alkalommal is betölthetők a Panther rendszerbe. A Panther rendszer a reagensek betöltését minden alkalommal naplózza.
- D. A kalibrátor felolvasztása után az oldatnak tisztának kell lennie, azaz nem lehet zavaros vagy nem tartalmazhat csapadékot. Győződjön meg arról, hogy a csapadék feloldódott. Ne használja a kalibrátort, ha gélesedés, csapadék vagy zavarosság látható.
- E. A promoterreagens és a feloldott promoterreagens fényérzékeny. A tárolás és a felhasználásra való előkészítés során védje ezeket a reagenseket a fénytől.
- F. A qHBV célfokozó reagensnek használat előtt 15 °C és 30 °C között kell lennie.

Mintavétel és -tárolás

Megjegyzés: Minden vizsgálati mintát úgy kell kezelni, mintha potenciálisan fertőző ágenseket tartalmazna. Az általános óvintézkedéseket kell alkalmazni.

Megjegyzés: A minták kezelési lépései során ügyeljen arra, hogy ne alakuljon ki keresztszennyezés. Például a felhasznált anyagokat ne a nyitott csövek felett áthaladva dobja ki.

Megjegyzés: Csak műanyag másodlagos csövek tárolása ajánlott.

A következő üveg- vagy műanyag csövekbe levett teljes vérminták használhatók:

- Etilén-diamin-tetraecetsav (EDTA) vagy savas citrát-dextróz (ACD) véralvadást gátlókat tartalmazó csövek
- Plazmaelőkészítő csövek
- Szérumcsövek
- Szérumseparátor csövek

Szérum esetében hagyja, hogy a további feldolgozás előtt kialakuljon az alvadék.

A. Mintavétel

A teljes vér 2 °C és 30 °C között legfeljebb 24 órán át tárolható, a plazmát pedig a feldolgozás előtt centrifugálással kell elválasztani egy elsődleges csőben. Válassza el a plazmát vagy szérumot a vörösvértestektől a gyártó által a használt csőre vonatkozóan megadott utasításokat követve. A plazma vagy szérum a Panther rendszerben elsődleges csőben vizsgálható, vagy átvihető egy másodlagos csőbe, például az Aptima® vizsgálati minta alikvot csőbe. Az 500 µl-es reakciótér fogat eléréséhez az elsődleges gyűjtőcsövek esetében a plazma vagy szérum minimális térfogata legfeljebb 1200 µl, a másodlagos csövek esetében pedig 700 µl. A következő táblázat meghatározza az egyes elsődleges és másodlagos csőtípusok holt térfogati követelményeit.

Cső (méret és típus)	Holt térfogat a Panther rendszeren
Aptima minta alikvot cső (SAT)	0,2 ml
12 x 75 mm	0,5 ml
13 x 100 mm	0,5 ml
13 x 100 mm géllal	0,3 ml
16 x 100 mm géllal	0,7 ml

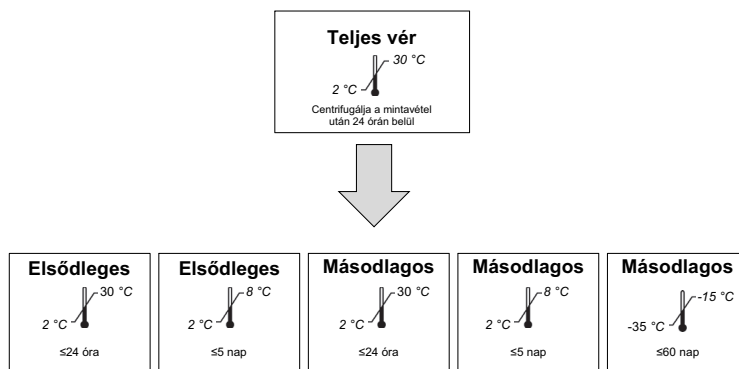
Ha nem vizsgálják meg azonnal, a plazma és a szérum az alábbi előírásoknak megfelelően tárolható. Ha a plazma vagy a szérum átkerül a SAT-csőbe vagy egy másodlagos csőbe, a plazma vagy a szérum -20 °C-on lefagyasztható. Ne lépje túl a 3 fagyasztási-felolvasztási ciklust. Ne fagyassza le a vizsgálati mintákat EDTA, ACD vagy szérum elsődleges gyűjtőcsövekben.

B. Vizsgálati minta tárolási feltételei

1. EDTA és ACD plazma vizsgálati minták

A teljes vér 2 °C és 30 °C között tárolható, és a mintát a mintavételtől számított 24 órán belül centrifugálni kell. A plazmát ezután a következő feltételek valamelyike mellett lehet tárolni:

- Az elsődleges gyűjtőcsőben vagy másodlagos csőben 2 °C és 30 °C között legfeljebb 24 órán keresztül,
- Az elsődleges gyűjtőcsőben vagy másodlagos csőben 2 °C és 8 °C között legfeljebb 5 napig, vagy
- A másodlagos csőben -20 °C-on legfeljebb 60 napig.

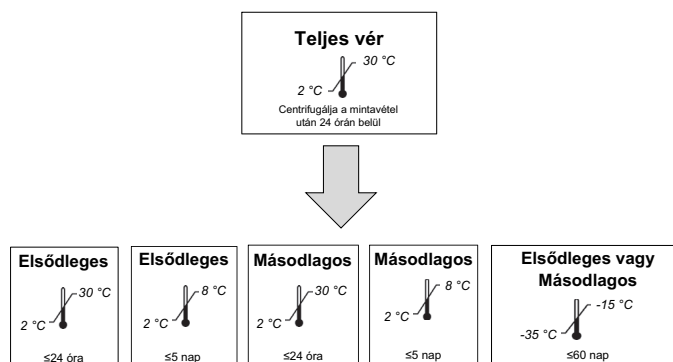


1. ábra EDTA/ACD csövek tárolási feltételei

2. PPT vizsgálati minták

A teljes vér 2 °C és 30 °C között tárolható, és a mintát a mintavételtől számított 24 órán belül centrifugálni kell. A plazmát ezután a következő feltételek valamelyike mellett lehet tárolni:

- A PPT- vagy másodlagos csőben 2 °C és 30 °C között legfeljebb 24 órán keresztül,
- A PPT- vagy másodlagos csőben 2 °C és 8 °C között legfeljebb 5 napig, vagy
- A PPT vagy másodlagos csőben -20 °C-on legfeljebb 60 napig.

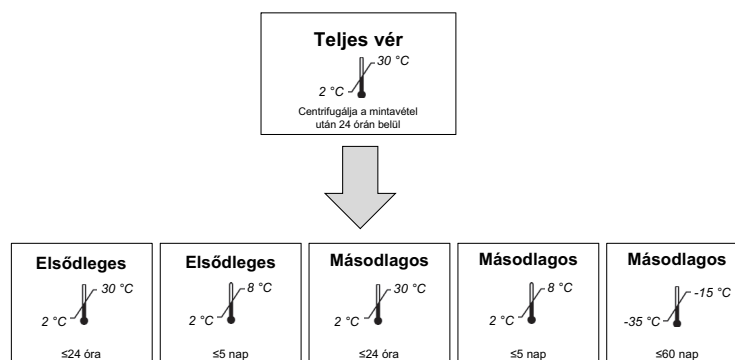


2. ábra A PPT-k tárolási feltételei

3. Szérumcső vizsgálati minták

A teljes vér 2 °C és 30 °C között tárolható, és a mintát a mintavételtől számított 24 órán belül centrifugálni kell. A szérumot ezután a következő feltételek valamelyike mellett lehet tárolni:

- A szérumcsőben vagy másodlagos csőben 2 °C és 30 °C között legfeljebb 24 órán keresztül,
- A szérumcsőben vagy másodlagos csőben 2 °C és 8 °C között legfeljebb 5 napig, vagy
- A másodlagos csőben -20 °C-on legfeljebb 60 napig.

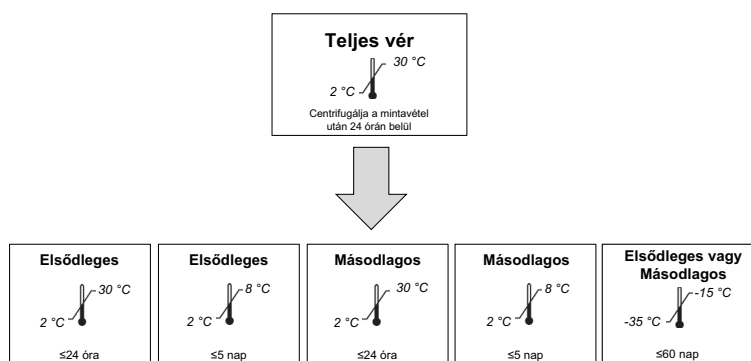


3. ábra A szérumcsövek tárolási feltételei

4. SST vizsgálati minták

A teljes vér 2 °C és 30 °C között tárolható, és a mintát a mintavételtől számított 24 órán belül centrifugálni kell. A szérumot ezután a következő feltételek valamelyike mellett lehet tárolni:

- A SST- vagy másodlagos csőben 2 °C és 30 °C között legfeljebb 24 órán keresztül,
- A SST- vagy másodlagos csőben 2 °C és 8 °C között legfeljebb 5 napig, vagy
- A SST vagy másodlagos csőben -20 °C-on legfeljebb 60 napig.



4. ábra Az SST-k tárolási feltételei

C. Hosszú távú fagyasztott tárolás

A plazma- vagy szérumminták -70 °C-on legfeljebb 60 napig tárolhatók SAT-csőben.

D. Plazma- és szérum vizsgálati minta hígítása

A plazma- és szérum vizsgálati minták a Panther rendszerrel történő vizsgálathoz a SAT-csőben vagy egy másodlagos csőben hígíthatók. További információkért lásd alább az *A Panther rendszer teszteljárás*.E. lépést itt: 5.

Megjegyzés: Ha a vizsgálati mintát hígítják, a hígítás után azonnal meg kell vizsgálni. Ne fagyassza le a hígított vizsgálati mintát.

Minták a Panther rendszerben

A mintákat a Panther rendszerben legfeljebb 8 órán át lehet fedetlenül hagyni. A minták kivehetők a Panther rendszerből és vizsgálhatók, amennyiben a rendszerben töltött teljes idő nem haladja meg a 8 órát a minta Panther rendszer általi pipettázása előtt.

A vizsgálati minta szállítása

Biztosítsa a *Mintavétel és -tárolás* című részben leírt mintaanyag-tárolási feltételeket.

Megjegyzés: A vizsgálati minták szállítását a vonatkozó nemzeti, nemzetközi és regionális szállítási előírásoknak megfelelően kell végezni.

Panther rendszer

A Panther rendszeren végzett Aptima HBV Quant vizsgálatához szükséges reagensek listáját lásd alább. A reagensek neve mellett a reagensazonosító szimbólumok is fel vannak tüntetve.

Mellékelt reagensek és anyagok

Aptima HBV Quant vizsgálati készlet, 100 teszt (Kat. szám: PRD-03424)

(1 vizsgálati doboz, 1 kalibrátor készlet, 1 kontroll készlet és 1 célfokozó reagens doboz)

További kalibrátorok és kontrollok külön rendelhetők. A katalógusszámokat lásd alább.

Aptima HBV Quant vizsgálati doboz

(kézhezvétel után 2–8 °C-on kell tárolni)

Szimbólum	Komponens	Mennyiség
A	qHBV amplifikációs reagens <i>Nem fertőző nukleinsav pufferoldatban szárítva.</i>	1 üveg
E	qHBV enzimreagens <i>Reverz transzkriptáz és RNS-polimeráz térfogatnövelő szert tartalmazó, HEPES pufferoldatban szárítva.</i>	1 üveg
PRO	qHBV promoterreagens <i>Nem fertőző nukleinsav pufferoldatban szárítva.</i>	1 üveg
AR	qHBV amplifikációs oldószer <i>Glicerint és tartósítószeret tartalmazó vizes oldat.</i>	1 × 7,2 ml
ER	qHBV enzimoldószer <i>Felületaktív anyagot és glicerint tartalmazó, HEPES pufferoldat.</i>	1 × 5,8 ml
PROR	qHBV promoteroldószer <i>Glicerint és tartósítószeret tartalmazó vizes oldat.</i>	1 × 4,5 ml
TCR	qHBV célmolekula-megkötő reagens <i>Nukleinsavak puffertelt sóoldatban, amely szilárd fázisú, nem fertőző nukleinsavakat és belső kalibrátort tartalmaz.</i>	1 × 72,0 ml
	Feloldáshoz használatos gallérok	3
	Törzstétel vonalkódos lapja	1 lap

Aptima HBV Quant kalibrátor készlet (Kat. szám: PRD-03425)

(kézhezvétel után –15 °C és –35 °C között kell tárolni)

Szimbólum	Komponens	Mennyiség
PCAL	qHBV pozitív kalibrátor <i>Plazmid DNS pufferoldatban</i>	5 × 2,5 ml
	Kalibrátor vonalkódcímke	—

Aptima HBV Quant kontroll készlet (Kat. szám: PRD-03426)
(kézhezvétel után –15 °C és –35 °C között kell tárolni)

Szimbólum	Komponens	Mennyiség
NC	qHBV negatív kontroll <i>HBV negatív fibrinmentes humán plazma, amely gentamicint és 0,2% nátrium-azidot tartalmaz tartósítószerként.</i>	5 × 0,8 ml
LPC	qHBV alacsony pozitív kontroll <i>Inaktivált HBV pozitív plazma fibrinmentes humán plazmában, amely gentamicint és 0,2% nátrium-azidot tartalmaz tartósítószerként.</i>	5 × 0,8 ml
HPC	qHBV magas pozitív kontroll <i>Inaktivált HBV pozitív plazma fibrinmentes humán plazmában, amely gentamicint és 0,2% nátrium-azidot tartalmaz tartósítószerként.</i>	5 × 0,8 ml
	Kontroll vonalkód címke	—

Aptima HBV Quant célfokozó reagens doboz
(kézhezvétel után 15–30 °C-on kell tárolni)

Szimbólum	Komponens	Mennyiség
TER	qHBV célfokozó reagens <i>Koncentrált lítium-hidroxid oldat</i>	1 × 46,0 ml

Szükséges, de külön beszerezhető anyagok

Megjegyzés: Ellenkező megjegyzés hiányában a Hologic által értékesített anyagok mellett fel van tüntetve a katalógusszám.

Anyag	Kat. Sz.
Panther™ rendszer	303095
Panther Fusion™ rendszer	PRD-04172
Panther™ rendszer, folyamatos folyadékellátás és hulladékkezelés (Panther Plus)	PRD-06067
Aptima® HBV Quant kalibrátor készlet	PRD-03425
Aptima® HBV Quant kontroll készlet	PRD-03426
Panther futtatási készlet a valós idejű vizsgálatokhoz (csak valós idejű vizsgálatokhoz)	PRD-03455 (5000 teszt)
Aptima® vizsgálat folyadékkészlet (más néven univerzálisfolyadék-készlet) <i>tartalma: Aptima® mosóoldat, Aptima® dezaktivációs-folyadék-puffer és Aptima® olajreagens</i>	303014 (1000 teszt)
Többcsöves egységek (MTU-k)	104772-02
Panther™ hulladékgyűjtő zsák készlet	902731
Panther™ hulladéktároló fedél	504405
Vagy Panther™ rendszer futtatási készlet <i>(ha a nem valós idejű TMA-vizsgálatokat valós idejű TMA-vizsgálatokkal párhuzamosan végzik)</i> <i>tartalma: MTU-k, hulladékszákok, hulladéktároló fedelek, automatikus érzékelők és vizsgálati folyadékok</i>	303096 (5000 teszt)

Anyag	Kat. Sz.
Hegyek, 1000 µl, vezető, folyadékérzékelő	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
<i>Nem minden termék érhető el minden régióban. A régióra vonatkozó információkért forduljon a helyi képviselőhöz.</i>	
Fehérítőszer, 5–8,25% (0,7–1,16 M) nátrium-hipoklorit oldat	—
Eldobható púdermentes kesztyűk	—
Tartalék, nem átszűrhető kupakok	103036A
Reagens cserekupakok	
<i>Amplifikációs reagens, enzimreagens és promoterreagens oldószer palackok</i>	CL0041 (100 kupak)
<i>TCR-palack</i>	CL0040 (100 kupak)
<i>TER-palack</i>	501604 (100 kupak)
Műanyag hátlappal borított laboratóriumi terítők	—
Szállítócső törlőkendő	—
Pipetta	—
Hegyek	—
Elsődleges gyűjtőcső opciók:	
13 mm x 100 mm	—
13 mm x 75 mm	—
16 mm x 100 mm	—
Centrifuga	—
Vortex keverő	—

Opcionális anyagok

Anyag	Kat. Sz.
Másodlagos cső opciók:	
12 mm x 75 mm	—
13 mm x 100 mm	—
16 mm x 100 mm	—
Aptima® vizsgálati minta alikvot csövek (SAT) (100-as csomag)	FAB-18184
Szállítócső kupak (100 csomag)	504415
kupak SAT-csőhöz	
Aptima® vizsgálatiminta-hígító	PRD-03003
Aptima® vizsgálatiminta-hígító készlet	PRD-03478
vizsgálatiminta-hígítót, 100 SAT-csövet és 100 kupakot tartalmaz	
Átviteli pipetták	—
Vattapálcák	—
Csőrázó	PRD-03488

A Panther rendszer teszteljárás

Megjegyzés: A további eljárásleírásokat lásd a Panther/Panther Fusion rendszer kezelői kézikönyvében.

A. A munkaterület előkészítése

1. Tisztítsa meg a reagensek készítéséhez használt munkafelületeket. Törölje le a munkafelületeket 2,5–3,5%-os (0,35–0,5 M) nátrium-hipoklorit oldattal. Hagyja, hogy a nátrium-hipoklorit oldat legalább 1 percig érintkezzen a felületekkel, majd öblítse le ioncserélt (DI) vízzel. Ne hagyja megszáradni a nátrium-hipoklorit oldatot. Fedje le a vizsgálóasztal felületét tiszta, műanyag hátlappal borított, nedvszívó laboratóriumi terítővel.
2. Tisztítson meg egy külön munkafelületet a minták előkészítéséhez. A fent leírt eljárás szerint járjon el (A.1 lépés).
3. Tisztítsa meg a pipettákat. A fent leírt tisztítási eljárás szerint járjon el (A.1. lépés).

B. Kalibrátor és kontrollok előkészítése

Hagyja, hogy a kalibrátor és a kontrollok elérjék a 15 °C és 30 °C közötti hőmérsékletet a feldolgozás előtt az alábbiak szerint:

1. Vegye ki a kalibrátort és a kontrollokat a tárolóból (-15 °C és -35 °C között), és helyezze 15 °C és 30 °C közötti hőmérsékletre. A felolvasztás során óvatosan fordítsa meg az egyes csöveket, hogy alaposan összekeveredjenek. Használat előtt győződjön meg arról, hogy a cső tartalma teljesen felolvadt.

Választható. A kalibrátor- és kontrolkcsöveket csőrázóra helyezheti, hogy a tartalmuk alaposan összekeveredjen. Használat előtt győződjön meg arról, hogy a cső tartalma teljesen felolvadt.

Megjegyzés: Kerülje a túlzott habképződést a kalibrátor és a kontrollok megfordításakor. A hab zavarja a Panther rendszer szintérzékelő funkcióját.

2. Amikor a cső tartalma felolvadt, törölje szárazra a cső külsejét egy tiszta, száraz, eldobható törlőkendővel.
3. A szennyeződés megelőzése érdekében ekkor még ne nyissa ki a csöveket.

C. Reagens feloldása/új készlet előkészítése

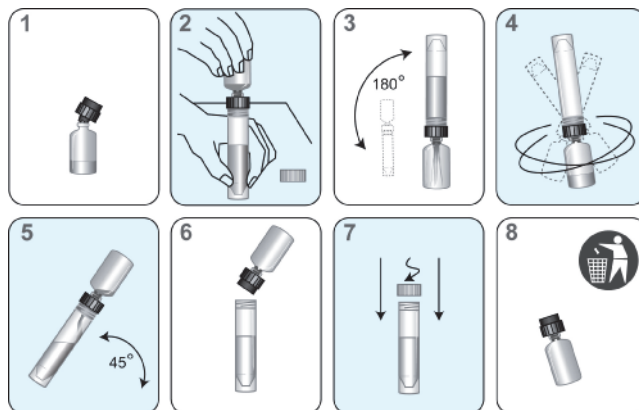
Megjegyzés: Mindig kezdje a reagensek feloldásával, és csak utána kezdje el a munkát a Panther rendszeren.

1. A TCR előkészítéséhez tegye az alábbiakat:
 - a. Vegye ki a TCR-t a tárolóból (2 °C és 8 °C között). Ellenőrizze a TCR palackján lévő tételszámot, hogy az megegyezik-e a törzstétel vonalkódos lapján szereplő tételszámmal.
 - b. Azonnal rázza fel 10-szer erőteljesen a TCR palackot. Hagyja a TCR palackot legalább 45 percig 15 °C és 30 °C közötti hőmérsékleten melegedni. Ez idő alatt legalább 10 percenként meg kell keverni és meg kell fordítani a TCR palackot.

Választható. A TCR palack előkészíthető egy csőrázón a következő utasításokat követve: Vegye ki a TCR-t a tárolóból (2 °C és 8 °C között), és azonnal rázza fel erőteljesen, 10-szer. Helyezze a TCR palackot egy csőrázóra, és hagyja a TCR-t legalább 45 percig 15 °C és 30 °C közötti hőmérsékleten melegedni.
 - c. Használat előtt győződjön meg arról, hogy az összes csapadék oldatban van, és a mágneses részecskék szuszpendálva vannak.
2. Az amplifikációs reagensek, enzimreagensek és promóterreagensek újragyártásához végezze el a következőket:
 - a. Vegye ki a liofilizált reagenseket és a megfelelő oldószereket a tárolóból (2 °C és 8 °C között). Párosítsa össze az oldószereket a megfelelő liofilizált reagenssel.
 - b. Győződjön meg arról, hogy az oldószer és a liofilizált reagens címkéjének színe megegyezik. A törzstétel vonalkódos lapja (Master Lot Barcode Sheet) segítségével ellenőrizze, hogy megfelelő reagenseket párosított-e össze.

- i. A fémzár és a gumidugó eltávolításával nyissa ki a liofilizált reagens üvegét.
 - ii. Határozott mozdulattal illessze be a feloldáshoz használatos gallér bevágott végét (fekete) az üveg nyílásába (5. ábra, 1. lépés).
 - iii. Nyissa fel a megfelelő oldószeres palackot, és helyezze a kupakját tiszta, lefedett munkafelületre.
 - iv. Helyezze az oldószeres palackot egy stabil felületre (pl. asztalra). Ezután fordítsa a liofilizált reagens üvegét az oldószeres palackra, és határozott mozdulattal csatlakoztassa a gallért az oldószeres palackhoz (5. ábra, 2. lépés).
 - v. Lassan fordítsa fejjel lefelé az így összekapcsolt üvegeket (üveg és oldatos palack), hogy az oldat az üvegbe kerüljön (5. ábra, 3. lépés).
 - vi. Fogja meg az összeállított palackokat, és legalább 10 másodpercig forgassa (5. ábra, 4. lépés).
 - vii. Várjon 30 percig, hogy a liofilizált reagens feloldódjon.
 - viii. Miután a liofilizált reagens feloldódott, legalább 10 másodpercig forgassa az összeállított palackokat, majd az üvegben lévő oldatot az alapos keverés érdekében enyhén rázza előre-hátra.
- c. Lassan döntse meg újra az összeállított palackokat, hogy az összes oldat vissza tudjon folyni az oldószeres palackba (5. ábra, 5. lépés).
 - d. Óvatosan vegye le a feloldáshoz használatos gallért és az üveget (5. ábra, 6. lépés).
 - e. Tegye vissza a kupakot a palackra. Írja fel a kezelő monogramját és a feloldási dátumot a címkére (5. ábra, 7. lépés).
 - f. Dobja ki a feloldáshoz használatos gallért és az üveget (5. ábra, 8. lépés).

Vigyázat! A reagensek feloldása során kerülje a habképződést. A hab zavarja a Panther rendszer szintérzékelő funkcióját.



5. ábra Reagensfeloldási eljárás

3. Vegye ki a qHBV célfokozó reagenst a tárolóból (15 °C és 30 °C között). Írja fel a kezelő monogramját és a felbontás dátumát a címkére. Ellenőrizze a TER-palack tételszámát, és bizonyosodjon meg arról, hogy megegyezik a törzstétel vonalkódos lapján szereplő számmal.
- D. Előzőleg elkészített reagensek előkészítése
1. Távolítsa el az előzőleg elkészített reagenseket a tárolóból (2–8 °C). Az előzőleg elkészített amplifikációs reagenseknek, enzimreagenseknek, promoterreagenseknek és TCR-eknek el kell érnie a 15 °C és 30 °C közötti hőmérsékletet a vizsgálat elindítása előtt.
 2. Vegye ki a TER-t a tárolóból (15 °C és 30 °C között).

3. Korábban elkészített TCR esetében a rendszerbe való betöltés előtt hajtja végre a fenti C.1 lépést.
4. Keveréssel és fel-le fordítással alaposan keverje össze az amplifikációs reagenseket, enzimreagenseket és promóterreagenseket, mielőtt betölti azokat a készülékbe. A reagensek fel-le fordítása során kerülje a habképződést.
Opció: A korábban elkészített reagenst a következő utasítások követésével csőrázón is el lehet készíteni: Vegye ki a reagenst a tárolóból (2–8 °C). Tegye a reagenst a csőrázóra, és legalább 30 percig hagyja 15–30 °C-on melegedni.
5. A reagenspalackokat nem szabad utántölteni. A Panther rendszer felismeri és elutasítja az utántöltött palackokat.

E. Vizsgálati minta kezelése

1. Győződjön meg arról, hogy az elsődleges csövekben lévő feldolgozott vizsgálati mintákat vagy a másodlagos csövekben lévő hígítatlan plazma vizsgálati mintákat megfelelően tárolták a következő szerint: *Mintavétel*.
2. Ügyeljen arra, hogy a fagyasztott minták teljesen felolvadjanak. Vortexelje a felengedett mintákat 3–5 másodpercig, hogy alaposan összekeverje őket.
3. Feldolgozás előtt hagyja a vizsgálati mintákat 15–30 °C-ra melegedni. További információért lásd: *Minták a Panther rendszerben*.
4. Biztosítsa, hogy minden egyes elsődleges gyűjtőcső legfeljebb 1200 µl mintát tartalmazzon, vagy minden egyes SAT-cső legalább 700 µl vizsgálati mintát tartalmazzon. Az egyes elsődleges és másodlagos csőtípusokhoz szükséges holt térfogati követelmények meghatározásához tekintse meg a táblázatot: *Mintavétel*. Ha a vizsgálati minta hígítására van szükség, további információkért lásd az alábbi E.5 lépést.
5. Hígítsa a plazma- vagy szérum vizsgálati mintát 1:3 arányban egy SAT csőben vagy 1:100 arányban egy másodlagos csőben.

A vizsgálati mintát egy másodlagos csőben fel lehet hígítani a Panther rendszerrel történő vizsgálathoz.

Megjegyzés: Ha a vizsgálati mintát hígítják, a hígítás után azonnal meg kell vizsgálni.

a. Kis térfogatú vizsgálati minták hígítása

A vizsgálati minták térfogata az Aptima vizsgálatiminta-hígító segítségével a minimálisan szükséges térfogatra (700 µl) növelhető. A legalább 240 µl-es minták két rész vizsgálatiminta-hígítóval (1:3) hígíthatók az alábbiak szerint:

- i. Helyezzen 240 µl vizsgálati mintát a SAT csőbe.
- ii. Adjon hozzá 480 µl Aptima vizsgálatiminta-hígítót.
- iii. Kupakkal zárja le a csövet.
- iv. Óvatosan fordítsa meg 5-ször, hogy összekeverje.

Az 1:3 arányban hígított vizsgálati minták a Panther rendszer 1:3 opciójával vizsgálhatók (további információkért lásd a *Panther/Panther Fusion rendszer kezelői kézikönyvét*). A szoftver a hígítási tényező alkalmazásával automatikusan megadja a tiszta eredményt. Ezeket a vizsgálati mintákat hígított vizsgálati mintaként kell megjelölni.

b. Magas titerű vizsgálati minták hígítása

Ha egy minta eredménye a felső mennyiségi határérték (ULoQ) felett van, a minta 99 rész Aptima vizsgálatiminta-hígítóval (1:100) hígítható az alábbiak szerint:

- i. Helyezzen 30 µl vizsgálati mintát a SAT-csőbe vagy egy másodlagos csőbe.
- ii. Adjon hozzá 2970 µl Aptima vizsgálatiminta-hígítót.
- iii. Kupakkal zárja le a csövet.
- iv. Óvatosan fordítsa meg 5-ször, hogy összekeverje.

Az 1:100 arányban hígított vizsgálati minták a Panther rendszer 1:100 opciójával vizsgálhatók (további információkért lásd a *Panther/Panther Fusion rendszer kezelői kézikönyvét*). A szoftver a hígítási tényező alkalmazásával automatikusan megadja a tiszta eredményt. Ezeket a vizsgálati mintákat hígított vizsgálati mintaként kell megjelölni.

Megjegyzés: Az ULoQ-nál nagyobb tiszta koncentrációjú hígított vizsgálati minták esetében az eredményeket tudományos jelöléssel kell közölni.

6. Közvetlenül a mintáknak a mintatartó állványba való betöltése előtt centrifugálja az egyes mintákat 1000–3000 g-n 10 percig. Ne távolítsa el a kupakokat. A csőben lévő buborékok veszélyeztethetik a Panther rendszer szintérzékelését. Az állvány betöltésével és a kupakok eltávolításával kapcsolatos információkat lásd alább: *A rendszer előkészítése*, F 2. lépés.

F. A rendszer előkészítése

1. Állítsa be a rendszert a *Panther/Panther Fusion rendszer kezelői kézikönyve* és a(z) *Megjegyzések az eljáráshoz* szerinti utasítások alapján. Ügyeljen arra, hogy megfelelő méretű reagensállványokat és TCR-adaptereket használjanak.
2. Töltse be a mintákat a mintatartó állványba. Végezze el a következő lépéseket minden egyes mintagyűjtő csövön (vizsgálati minta, és szükség esetén kalibrátor és kontrollok):
 - a. Lazítsa meg az egyik mintagyűjtő cső kupakját, de még ne vegye le.

Megjegyzés: Különösen ügyeljen arra, hogy elkerülje az aeroszolok terjedése miatti szennyeződést. Óvatosan lazítsa meg a minták kupakját.

- b. Töltse be a mintagyűjtő csövet a mintatartó állványba.
- c. Ismételje meg a(z) 2.a és a(z) 2.b lépést minden egyes fennmaradó minta esetében.
- d. Miután a mintákat betöltötte a mintatartó állványba, vegye le és dobja ki a mintagyűjtő csövek kupakjait a mintatartó állványból. A szennyeződés elkerülése érdekében ne vigye át a kupakot más mintatartó állványok vagy mintagyűjtő csövek felett.
- e. Ha szükséges, használjon új, eldobható transzferpipettát az esetleges buborékok vagy hab eltávolításához.
- f. Amikor az utolsó kupakot is eltávolította, töltse be a mintatartó állványt a mintarekeszbe.

Megjegyzés: Ha egyidejűleg más vizsgálatokat és mintatípusokat is futtat, rögzítse a mintatartót, mielőtt a mintatartó állványt betölti a mintarekeszbe.

- g. A következő mintatartó állványnál ismételje meg a(z) 2.a–2.f. lépéseket.

Megjegyzések az eljáráshoz

A. Kalibrátor és kontrollok

1. A qHBV pozitív kalibrátor, a qHBV alacsony pozitív kontroll, a qHBV magas pozitív kontroll és a qHBV negatív kontroll csövek a Panther rendszerben a mintatartó állvány bármelyik pozíciójába és bármelyik mintarekesz sávba betölthetők. A vizsgálati minták pipettázása akkor indul el, ha az alábbi feltételek egyike teljesül:
 - a. A rendszerben jelenleg zajlik a kalibrátor és a kontrollok feldolgozása.
 - b. A kalibrátor és kontrollok érvényes eredményei regisztrálásra kerülnek a rendszerben.
2. Miután kipipettázták a kalibrátor- és kontroll-csöveket, és folyamatban van a feldolgozásuk az Aptima HBV Quant vizsgálat reagenskészlethez, az adott feloldott készlettel a minták legfeljebb 24 óráig tesztelhetők, **kivéve, ha:**
 - a. A kalibrátor- vagy a kontrolleredmények érvénytelenek.
 - b. A kapcsolódó vizsgálati reagenskészletet eltávolítják a rendszerből.
 - c. A kapcsolódó vizsgálati reagenskészlet túllépte a stabilitási határokat.
3. A kalibrátor és minden kontrollcső egyszer használható. A cső többszöri használatának megkísérlése feldolgozási hibához vezethet.

B. Púderes kesztyűk

Mint más reagensrendszerek esetében, bizonyos kesztyűkön található túlzott mennyiségű púder a felnyitott csövek szennyeződéséhez vezethet. Púdermentes kesztyűk használata javasolt.

Minőség-ellenőrzés

A futtatás vagy a vizsgálati minta eredményét a kezelő is érvénytelenítheti, ha a vizsgálat elvégzése során technikai, kezelői vagy műszeres nehézségeket észlel, és ezeket dokumentálja. Ebben az esetben a vizsgálati mintákat újra kell vizsgálni.

A vizsgálat kalibrálása

Az érvényes eredmények előállítása érdekében el kell végezni a vizsgálat kalibrálását. Egyetlen pozitív kalibrátort kell lefuttatni három példányban minden alkalommal, amikor egy reagenskészletet betölt a Panther rendszerbe. Ha a kalibrálás megtörtént, a kalibrálás legfeljebb 24 óráig érvényes. A Panther rendszer szoftvere figyelmezteti a kezelőt, ha kalibrációra van szükség. A kezelő beolvassa a kalibrációs együtthatót, amely az összes reagenskészlethez mellékelt törzstétel vonalkódos lapján található.

A feldolgozás során a kalibrátorok elfogadási feltételeit a Panther rendszer szoftvere automatikusan ellenőrzi. Ha a kalibrátorismétlések közül kettőnél kevesebb érvényes, a szoftver automatikusan érvényteleníti a futtatást. Az érvénytelenített futtatásban lévő mintákat frissen készített kalibrátor és frissen készített kontrollok felhasználásával újra kell vizsgálni.

Negatív és pozitív kontrollok

Az érvényes eredmények előállításához egy vizsgálati kontroll sorozatot kell tesztelni. A negatív kontroll, az alacsony pozitív kontroll és a magas pozitív kontroll egy-egy ismétlését kell tesztelni minden alkalommal, amikor egy reagenskészletet betöltenek a Panther rendszerbe. A kontrollok 24 órán keresztül érvényesek. A Panther rendszer szoftvere figyelmezteti a kezelőt, ha kontrollok szükségesek.

A feldolgozás során a kontrollok elfogadási feltételeit a Panther rendszer szoftvere automatikusan ellenőrzi. Ahhoz, hogy az eredmények érvényesek legyenek, a negatív kontrollnak „Nem mutatható ki” eredményt kell adnia, a pozitív kontrolloknak pedig az előre meghatározott paramétereken belüli eredményeket kell adniuk (LPC névleges célérték: $2,7 \log_{10}$ IU/ml, HPC névleges célérték: $4,6 \log_{10}$ IU/ml. Ha bármelyik kontroll érvénytelen eredményt ad, a szoftver automatikusan érvényteleníti a futtatást. Az érvénytelenített futtatásban lévő mintákat frissen készített kalibrátor és frissen készített kontrollok felhasználásával újra kell vizsgálni.

Belső kalibrátor/belső kontroll

Minden minta tartalmaz egy belső kalibrátort/belső kontrollt (IC). A feldolgozás során a belső kontroll elfogadási kritériumait a Panther rendszer szoftvere automatikusan ellenőrzi. Ha egy belső kontroll eredménye érvénytelen, a szoftver érvényteleníti a mintaeredményt. Minden érvénytelen belső kontroll eredménnyel rendelkező mintát újra kell tesztelni az érvényes eredményhez.

A Panther rendszer szoftverét úgy tervezték, hogy pontosan ellenőrizze a folyamatokat, amikor az eljárásokat az ebben a használati utasításban és a *Panther/Panther Fusion rendszer kezelői kézikönyvben* foglalt utasítások szerint hajtják végre.

Az eredmények értelmezése

A Panther rendszer automatikusan meghatározza a HBV-DNS koncentrációját a minták és a kontrollok esetében az eredmények kalibrációs görbével való összehasonlításával. A HBV DNS-koncentrációkat IU/ml és $\log_{10}$ IU/ml egységekben adják meg. Az eredmények értelmezése a(z) 1. táblázatban található. Ha a hígítási opciót használja, a Panther rendszer automatikusan kiszámítja a tiszta minta HBV-DNS-koncentrációját a hígított koncentráció és a hígítási tényező szorzataként, és a hígított minták hígítottként lesznek megjelölve.

Megjegyzés: A hígított minták esetében az LoD (kimutatási határ) vagy LLoQ (mennyiségi meghatározás alsó határa) feletti, de ahhoz közeli koncentrációjú minta hígítása esetén a „nem mutatható ki” vagy „<10 észlelt” eredmény keletkezhet. Ajánlott egy másik tiszta mintát venni és megvizsgálni, ha a mennyiségi eredményt nem sikerül meghatározni.

1. táblázat: Az eredmények értelmezése

Jelentett Aptima HBV Quant vizsgálat eredménye		Értelmezés
IU/ml	$\log_{10}$ IU/ml ^a	
Nincs kimutatva	Nincs kimutatva	HBV-DNS nem mutatható ki.
<10 kimutatható	<1,00	HBV-DNS kimutatható, de a LLoQ alatti szinten.
10–1 000 000 000	1,00–9,00	A HBV DNS-koncentráció a 10 és 1 000 000 000 IU/ml közötti lineáris tartományban van.
> 1 000 000 000	> 9,00	A HBV-DNS-koncentráció az ULoQ felett van.
Érvénytelen ^b	Érvénytelen ^b	Az eredmény létrehozásakor jelzett hiba. A vizsgálati mintát újra kell tesztelni.

^a Az értéket két tizedesjegyre kerekítik.

^b Az érvénytelen eredmények kék színű betűtípussal jelennek meg.

Az ULoQ-nál nagyobb tiszta koncentrációjú hígított vizsgálati minták esetében az eredményeket tudományos jelöléssel kell közölni.

Az Aptima HBV Quant vizsgálat egyes kontrolljaira vonatkozó elfogadási kritériumokat az alábbi 2. táblázatban ismertetjük.

Megjegyzés: Az alábbiakban felsorolt visszanyerési tartomány az egyes konkrét tételek hozzárendelt értéke alapján változik. Lásd az egyes kontroll dobozokhoz mellékelt Control Barcode Sheet (Kontroll vonalkódlap) betétlapon felsorolt hozzárendelt koncentrációt.

2. táblázat: Az Aptima HBV Quant vizsgálati kontrollok visszanyerési tartományának elfogadási kritériumai

Komponens	Visszanyerési tartomány az érvényes futtatásokhoz
Negatív kontroll	N/A
Alacsony pozitív kontroll	+/- 0,55 $\log_{10}$ IU/ml
Magas pozitív kontroll	+/- 0,5 $\log_{10}$ IU/ml

Korlátozások

- A. Ezt a vizsgálatot csak az eljárásra kiképzett személyzet használhatja. A jelen használati utasításban megadott utasítások be nem tartása hibás eredményekhez vezethet.
- B. A megbízható eredmények a megfelelő mintavételtől, -szállítástól, -tárolástól és -feldolgozástól függenek.

Analitikai teljesítőképesség

Kimutatási határérték a WHO 3. nemzetközi szabványának alkalmazásával

A vizsgálat kimutatási határértékét (LoD) a CLSI EP17-A2 szerint a HBV-DNS azon koncentrációjaként határozzák meg, amely 95%-os vagy nagyobb valószínűséggel kimutatható.¹¹

A LoD-t a WHO 3. nemzetközi hepatitis B-vírus DNS szabvány (NIBSC 10/264, A genotípus) HBV-negatív humán EDTA-plazmában és szérumban hígított paneljeinek vizsgálatával határozták meg. Minden hígításból legalább 36 ismétlést teszteltek három reagenstétel mindegyikével, így hígításonként legalább 108 ismétléssel. Probit-elemzést végeztek a 95%-os előre jelzett kimutatási határértékek előállításához. A LoD-értékek a legmagasabb előre jelzett kimutatási határral rendelkező reagenstétel eredményei. A 3. WHO nemzetközi szabványt használó Aptima HBV Quant vizsgálat LoD értéke plazma esetében 4,8 IU/ml, szérumban 5,9 IU/ml.

A kimutatási határérték az egyes HBV genotípusok esetében

A LoD-t HBV-pozitív klinikai vizsgálati minták A, B, C, D, E, F, G és H genotípusú hígításainak HBV-negatív humán plazmában és szérumban történő vizsgálatával határozták meg.

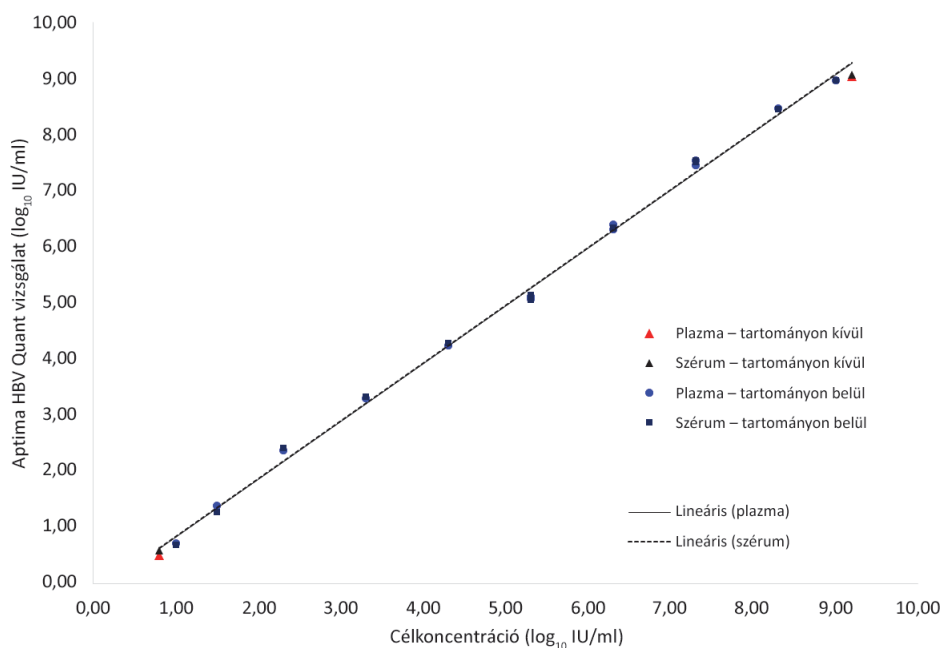
A koncentrációkat jóváhagyott vizsgálattal határozták meg. Minden paneltagból legalább 24 ismétlést teszteltek három reagenstétel mindegyikével, így paneltagonként legalább 48 ismétléssel. Probit-elemzést végeztek a 95%-os előre jelzett kimutatási határértékek előállításához. Az 3. táblázatban feltüntetett LoD-értékek a legmagasabb előre jelzett kimutatási határértékkel rendelkező reagenstétel eredményei.

3. táblázat: Kimutatási határérték (95%-os előre jelzett kimutatási határérték) az egyes HBV genotípusok esetében, klinikai vizsgálati minták felhasználásával

Genotípus	Koncentráció (IU/ml)	
	Plazma	Szérumban
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

Lineáris tartomány

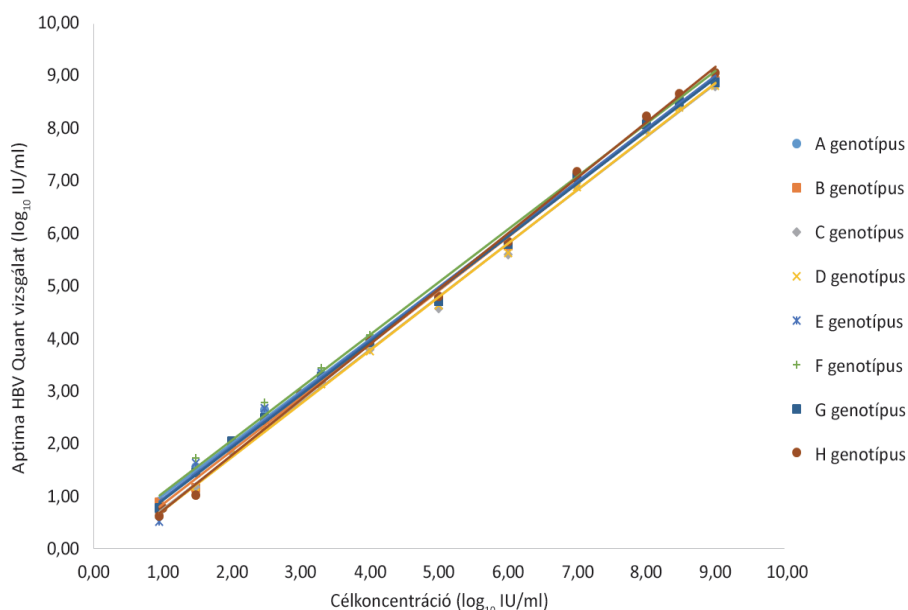
A lineáris tartományt HBV genotípus A vírus ($0,78 \log_{10}$ IU/ml – $7,30 \log_{10}$ IU/ml) és plazmid DNS ($5,30 \log_{10}$ IU/ml – $9,18 \log_{10}$ IU/ml) panelek tesztelésével határozták meg, amelyeket HBV-negatív humán plazmában és szérumban hígítottak a CLSI EP06-A szerint.¹² Az Aptima HBV Quant vizsgálat lineáris viselkedést mutatott a tesztelt tartományban, a kvantifikáció $9 \log_{10}$ IU/ml felső határértékével (ULoQ), amint az a(z) 6. ábrán is látható.



6. ábra Linearitás plazmában és szérumban

Linearitás az egyes HBV genotípusok esetén

A HBV-genotípusok linearitását az A, E, F, F, G és H genotípusra vonatkozó egyedi klinikai pozitív minták, valamint a B, C és D genotípusra vonatkozó PEI 1. WHO referenciapanelek (PEI 5086/08) vizsgálatával állapították meg. A vírust a vizsgálat alsó tartományában ($4 \log_{10}$ IU/ml és az alatti értékek az A-G genotípusok esetében, $3 \log_{10}$ IU/ml és az alatti értékek a H genotípus esetében) használták. A felső tartományhoz plazmid DNS-t használtak $2 \log_{10}$ átfedéssel. A negatív humán plazmában lévő hígításokat minden genotípusra tesztelték. A linearitást a vizsgált tartományban minden vizsgált genotípus esetében kimutatták, amint az itt látható: 7. ábra.



7. ábra Lineáris tartomány és linearitás (plazma)

A WHO 3. nemzetközi standardjának alkalmazásával megállapított alsó mennyiségi határértékek

A mennyiségi meghatározás alsó határa a CLSI EP17-A2 szerint az a legalacsonyabb koncentráció, amelynél a HBV-DNS megbízhatóan, teljes hibán belül határozható meg.¹¹ A teljes hibát a következő két módszerrel becsülték meg:

Teljes analitikai hiba (TAE) = |torzítás| + 2SD és Teljes hiba (TE) = $\text{SQRT}(2) \times 2\text{SD}$.

A mérések pontosságának és precizitásának biztosítása érdekében az Aptima HBV Quant vizsgálat teljes hibáját $1 \log_{10}$ IU/ml-ben határozták meg (azaz a LLoQ-nál két mérés közötti $1 \log_{10}$ IU/ml-nél nagyobb különbség statisztikailag szignifikáns).

A LLoQ-t a WHO 3. nemzetközi hepatitis B-vírus DNS szabvány (NIBSC 10/264, A genotípus) HBV-negatív humán plazmában és szérumban hígított paneljeinek vizsgálatával határozták meg. Minden hígításból legalább negyvenöt (45) ismétlést teszteltek három reagenstétel mindegyikével, így hígításonként legalább 135 ismétléssel. A három reagenstétel eredményei a(z) 4. táblázatban láthatók a plazma és a(z) 5. táblázatban a szérumban. A legalacsonyabb megfigyelt koncentrációra vonatkozó eredmények, amelyek megfeleltek a pontossági célknak ($\text{TE} \leq 1 \log_{10}$ IU/ml és $\text{TE} \leq 1 \log_{10}$ IU/ml), >95%-os kimutatással és a LoD-nél nagyobb vagy azzal egyenlő értékkel, mindkét táblázatban árnyékolva vannak, és az összefoglalásuk a 6. táblázatban található.

A WHO hepatitis B-vírusra vonatkozó 3. nemzetközi standardjára számított LLoQ 6 IU/ml (0,79 log₁₀IU/ml) plazma esetében és 8 IU/ml (0,88 log₁₀IU/ml) szérumban, amelyek a CLSI EP17-A2 szabványnak megfelelően a három reagenstétel közül a legmagasabb számított koncentráción alapulnak. A LLoQ-t genotípusonként állapították meg (lásd: *A mennyiségi meghatározás alsó határa az egyes HBV genotípusok esetében*). Ezek a genotípusadatok a vizsgálat általános LLoQ értékét 10 IU/ml-ben határozzák meg.

4. táblázat: A LLoQ meghatározása a plazmában hígított HBV-re vonatkozó 3. WHO nemzetközi standard segítségével

Reagenstétel	Aptima HBV Quant (IU/ml)	Aptima HBV Quant (Log ₁₀ IU/ml)	SD (Log ₁₀ IU/ml)	Torzítás (Log ₁₀ IU/ml)	Számított TE (Log ₁₀ IU/ml)	Számított 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 = szórás.

Azok a paneltagok, amelyek teljesítették a pontossági célt (TE ≤ 1 és TAE ≤ 1), >LoD és >95%-os kimutatás az 1., 2. és 3. reagenstételekre vonatkozóan, árnyékolva vannak.

5. táblázat: A LLoQ meghatározása a szérumban hígított HBV-re vonatkozó 3. WHO nemzetközi szabvány segítségével

Reagenstétel	Aptima HBV Quant (IU/ml)	Aptima HBV Quant (Log ₁₀ IU/ml)	SD (Log ₁₀ IU/ml)	Torzítás (Log ₁₀ IU/ml)	Számított TE (Log ₁₀ IU/ml)	Számított 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 = szórás.

Azok a paneltagok, amelyek teljesítették a pontossági célt (TE ≤ 1 és TAE ≤ 1), >LoD és >95%-os kimutatás az 1., 2. és 3. reagenstételekre vonatkozóan, árnyékolva vannak.

6. táblázat: A kiszámított LLoQ összefoglalása a WHO 3. nemzetközi HBV standardjának alkalmazásával

Reagenstétel	Plazma LLoQ		Szérumban LLoQ	
	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

A mennyiségi meghatározás alsó határa az egyes HBV genotípusok esetében

A LLoQ-t HBV-pozitív klinikai vizsgálati minták A, B, C, D, E, F, G és H genotípusú hígításainak HBV-negatív humán plazmában és szérumban történő vizsgálatával határozták meg. A klinikai vizsgálati minták koncentrációjának meghatározását egy összehasonlító vizsgálat segítségével határozták meg. Minden paneltagból összesen 36 ismétlést teszteltek három reagenstétel mindegyikével, így paneltagonként legalább 72 ismétléssel. A legalacsonyabb megfigyelt koncentráció eredményei, amelyek megfelelnek a pontossági célnak ($TE \leq 1 \log_{10}$ IU/ml és $TAE \leq 1 \log_{10}$ IU/ml) és >95% detektálhatóságot mutatnak minden reagens tétel esetében, a(z) 7. táblázatban a plazma, illetve a 8. táblázatban a szérumban láthatók. Az egyes genotípusok reagenstételei közül a legmagasabb megfigyelt koncentrációt a 9. táblázat foglalja össze. A szérumban a D genotípusnak volt a legmagasabb LLoQ értéke, 9 IU/ml ($0,96 \log_{10}$ IU/ml). Ez alátámasztotta a vizsgálat általános LLoQ-ját, amely 10 IU/ml volt.

7. táblázat: A LLoQ meghatározása az egyes HBV genotípusok esetében, plazmában

HBV genotípusa	Reagenstétel	Aptima HBV Quant ^a (IU/ml)	Aptima HBV Quant ^a (Log ₁₀ IU/ml)	SD (Log ₁₀ IU/ml)	Torzítás (Log ₁₀ IU/ml)	Számított TE (Log ₁₀ IU/ml)	Számított TAE (Log ₁₀ 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 = szórás.

^a További szinteket futtattak, de ezek az adatok nem szerepelnek a táblázatban.

8. táblázat: A LLoQ meghatározása az egyes HBV genotípusok esetében, szérumban

HBV genotípusa	Reagenstétel	Aptima HBV Quant ^a (IU/ml)	Aptima HBV Quant ^a (Log ₁₀ IU/ml)	SD (Log ₁₀ IU/ml)	Torzítás (Log ₁₀ IU/ml)	Számított TE (Log ₁₀ IU/ml)	Számított 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 = szórás.

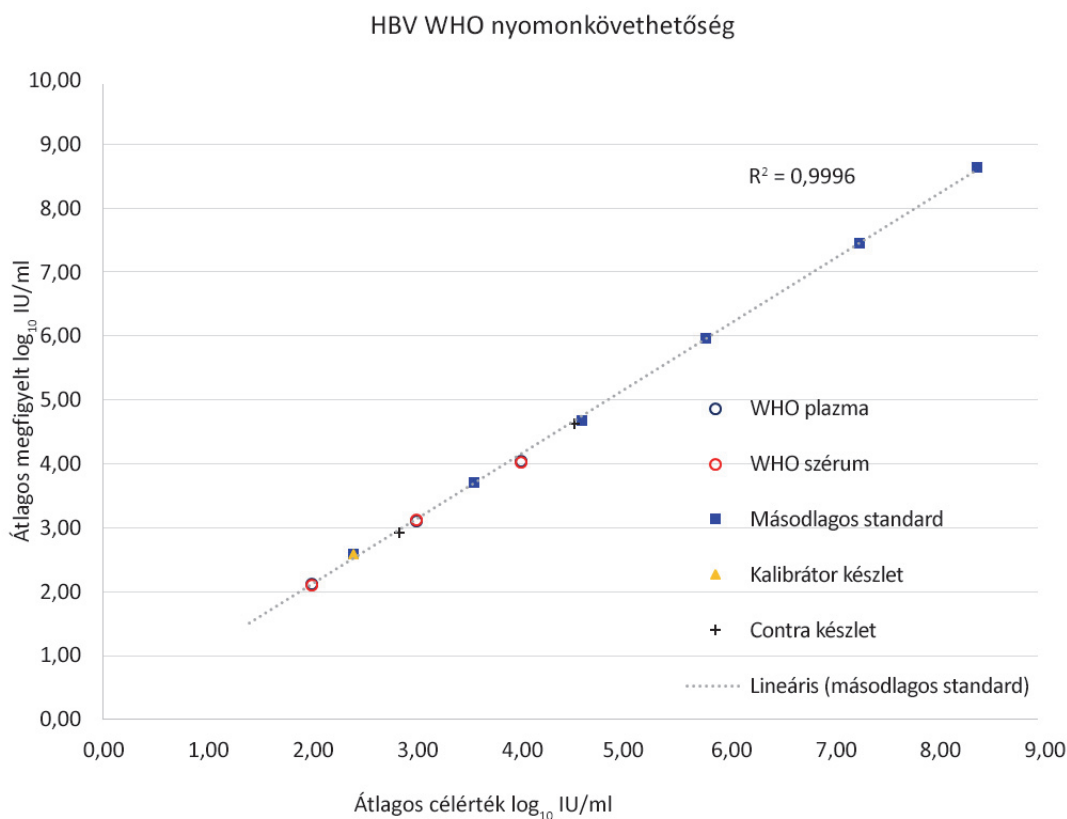
^a További szinteket futtattak, de ezek az adatok nem szerepelnek a táblázatban.

9. táblázat: A LLoQ genotípusonkénti összefoglalása plazmában és szérumban

Genotípus	Plazma LLoQ		Szérum LLoQ	
	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

Visszavezethetőség a 3. WHO nemzetközi standardra

A termékfejlesztés és a termékgyártás során ismert koncentrációjú másodlagos standardok sorozatát használták a WHO-szabványra való visszavezethetőség megállapítása érdekében. A HBV WHO-szabvány szerint vizsgált koncentrációk 2,0 és 4,0 log₁₀ IU/ml között voltak, a másodlagos szabványok szerinti koncentráció 2,4 és 8,4 log₁₀ IU/ml között volt. Az Aptima HBV Quant vizsgálat kontrolljait és kalibrátorait is tesztelték a másodlagos standardokkal és a WHO-szabvánnyal. Az összes panel hasonló eredményeket mutatott, és ezek lineárisan oszlottak el a vizsgálat lineáris tartományában, amint az a(z) 8. ábra. ábrán látható.



8. ábra A 3. HBV WHO-szabvány célkoncentrációjának és az Aptima HBV Quant vizsgálattal megfigyelt koncentrációnak a visszavezethetősége

Precizitás

Az Aptima HBV Quant precíziós panelt HBV A genotípusú vírus és HBV plazmid DNS HBV-negatív klinikai plazmában és HBV-negatív klinikai szérumban történő hígításával állították össze (a panel négy legmagasabb értékű tagja mindegyik mátrixban plazmid DNS volt). Minden mátrixban tizenegy paneltag fedte le a vizsgálat tartományát (1,30 log₁₀ IU/ml és 8,90 log₁₀ IU/ml közötti célkoncentráció), és egy kezelő három ismétlésben tesztelte őket futtatásonként három reagenstétel felhasználásával, egy Panther rendszeren, három napon keresztül, napi két futtatással.

A(z) 10. táblázatban láthatók a vizsgálati eredmények pontossága (log₁₀ IU/ml-ben) napokra és tételekre bontva, valamint a futtatások között, a futtatásokon belül és összességében. A teljes variabilitás elsősorban a futtatáson belüli mérésből (azaz a véletlen hibából) adódott.

10. táblázat: Az Aptima HBV Quant vizsgálat precizitása

Matrix	Sample	N	Mean Concentration	Mean Concentration	Inter-Lot	Inter-Lot	Inter-Day	Inter-Day	Inter-Run	Inter-Run	Intra-Run	Intra-Run	Total	Total
			(IU/mL)	(log ₁₀ IU/mL)	SD	Log Normal CV (%)	SD	Log Normal CV (%)	SD	Log Normal CV (%)	SD	Log Normal CV (%)	SD	Log Normal CV (%)
Plasma	Virus	34 ^a	32	1.21	0.07	16.2	0.07	16.2	0.05	11.7	0.28	71.8	0.28	78.2
		54	97	1.95	0.05	11.7	0.03	6.8	0.02	5.7	0.15	36.8	0.17	39.9
		54	1,474	3.16	0	1.0	0.02	3.8	0.02	4.8	0.07	15.6	0.07	16.8
		54	10,602	4.02	0.02	4.8	0.02	3.6	0.01	2.4	0.06	14.9	0.07	16.2
		54	429,428	5.63	0.03	6.7	0.01	2.7	0.01	2.4	0.06	14.1	0.07	16.1
	Plasmid DNA	54	652,103	5.8	0.06	14.2	0.01	3.4	0.01	2.0	0.06	13.1	0.09	19.8
	Virus	54	7,617,612	6.88	0.02	5.6	0.00	0.4	0.02	4.2	0.06	13.4	0.07	15.1
	Plasmid DNA	54	10,662,942	7.02	0.02	5.3	0.01	2.3	0.01	2.6	0.06	13.1	0.06	14.5
	Virus	54	89,149,358	7.95	0.01	3.4	0.01	2.7	0.01	1.6	0.04	9.7	0.05	10.8
	Plasmid DNA	54	103,400,000	8.01	0.04	9.4	0.02	3.7	0.01	2.1	0.05	12.0	0.07	15.9
		54	612,200,000	8.78	0.03	7.6	0.01	1.9	0.01	1.5	0.04	9.0	0.05	12.0
Serum	Virus	29 ^a	33	1.27	0.13	31.0	0.08	18.6	0.06	13.9	0.29	75.0	0.33	88.4
		54	88	1.92	0.05	11.2	0.02	4.8	0.02	5.5	0.12	29.1	0.14	32.3
		54	1,446	3.15	0.02	3.7	0.01	1.9	0.00	1.1	0.08	17.8	0.08	18.3
		54	7,873	3.89	0.02	4.8	0.01	2.6	0.01	2.1	0.06	13.4	0.06	14.6
		54	313,518	5.49	0.01	3.3	0.01	3.0	0.01	3.2	0.08	17.4	0.08	18.3
	Plasmid DNA	54	599,225	5.77	0.04	8.5	0.01	2.5	0.01	2.5	0.06	14.7	0.08	17.4
	Virus	54	7,011,440	6.84	0.02	3.5	0.01	3.2	0.01	3.3	0.07	16.9	0.08	17.9
	Plasmid DNA	54	8,845,332	6.94	0.05	11.9	0.01	2.2	0.01	2.2	0.05	12.2	0.07	17.4
	Virus	54	70,350,774	7.84	0.03	6.3	0.02	3.5	0.02	4.4	0.06	14.4	0.07	16.7
	Plasmid DNA	53 ^b	122,800,000	8.08	0.04	9.9	0.01	2.2	0.01	1.8	0.04	10.4	0.06	14.6
		54	678,700,000	8.83	0.02	3.6	0.01	2.2	0.01	1.8	0.05	11.7	0.05	12.5

SD = szórás.

^aKimutatott ismétlések számszerűsíthető eredménnyel, összes kimutatott ismétlés = 54.

^bEgy ismétlés érvénytelen eredményt adott.

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

Potenciálisan interferáló anyagok

Értékelték az Aptima HBV Quant vizsgálat érzékenységét az endogén anyagok emelkedett szintje vagy a HBV-vel fertőzött egyéneknek általában felírt gyógyszerek által okozott interferencia tekintetében. HBV-negatív plazmamintákat és a körülbelül 30 IU/ml ($1,48 \log_{10}$ IU/ml) és 20 000 IU/ml ($4,30 \log_{10}$ IU/ml) koncentrációjú HBV-vel adalékolt mintákat vizsgáltak.

Albumin (90 mg/ml), hemoglobin (5 mg/ml), trigliceridek (30 mg/ml) vagy nem konjugált bilirubin (0,2 mg/ml) jelenlétében nem tapasztaltak interferenciát a vizsgálat elvégzésében.

A meghatározott anyagok emelkedett szintjét mutató vagy a 11. táblázatban felsorolt betegségekben szenvedő betegektől származó klinikai plazma vizsgálati mintákat – anyagonként tíz mintát – tesztelték az Aptima HBV Quant vizsgálattal. A vizsgálat elvégzése során nem észleltek interferenciát.

11. táblázat: Vizsgált klinikai mintatípusok

Klinikai vizsgálatiminta-típusok	
1	Antinukleáris antitest (ANA)
2	Reumafaktor (RF)
3	Alkoholos cirrózis (AC)
4	Alkoholos hepatitis
5	Nem alkoholos hepatitis
6	Autoimmun hepatitis
7	Emelkedett alanin-aminotranszferáz (ALT)
8	Hepatocelluláris carcinoóma (HCC)
9	Sclerosis multiplex (MS)
10	Szisztémás lupus erythematosus (SLE)
11	Hyperglobulinémia
12	Rheumatoid arthritis (RA)
13	Anti-Jo1 antitest (JO-1)
14	Myeloma multiplex (MM)
15	Hemolizált (emelkedett hemoglobin)
16	Ikteruszos (emelkedett bilirubin)
17	Lipémiás (emelkedett lipidek)
18	Emelkedett fehérje

A(z) 12. táblázatban felsorolt exogén anyagok jelenlétében a $C_{\max}$ (humán plazma) legalább háromszorosának megfelelő koncentrációban nem tapasztaltak interferenciát a vizsgálat teljesítményében.

12. táblázat: Exogén anyagok

Exogén anyagok összessége	Vizsgált exogén anyagok
1	Szakinavir, ritonavir, amprenavir, indinavir, lopinavir, nelfinavir-mezilát
2	Klaritromicin, valganciklovir-hidroklorid, efavirenz, nevirapin
3	Paroxetin-HCl, enfuvirtid, zidovudin, didanozin, abakavir-szulfát
4	Ribavirin, entekavir, adefovir-dipivoxil, tenofovir-diszoproxil-fumarát, lamivudin, ganciklovir, aciklovir
5	Sztavudin, ciprofloxacín, fluoxetin, azitromicin, valaciklovir, szertralin, zalcitabin
6	Interferon alfa-2a, interferon alfa-2b, pegilált interferon alfa-2b

Analitikai specificitás

A(z) 13. táblázatban felsorolt kórokozókkal szembeni potenciális keresztreaktivitást HBV-negatív humán plazmában 30 IU/ml ($1,5 \log_{10}$ IU/ml) és 20 000 ($4,3 \log_{10}$ IU/ml) HBV-DNS jelenlétében vagy hiányában értékelték. Keresztreaktivitást nem észleltek. Kórokozók jelenlétében nem észleltek interferenciát.

13. táblázat: Az analitikai specificitás szempontjából vizsgált kórokozók

Mikroorganizmus/kórokozó	Koncentráció		Mikroorganizmus/kórokozó	Koncentráció	
Adenovírus 5	100 000	TCID ₅₀ /ml ^a	<i>Candida albicans</i>	1 000 000	CFU/ml ^e
BK humán polyomavírus	1000	TCID ₅₀ /ml	<i>Chlamydia trachomatis</i>	1 000 000	IFU/ml ^f
Cytomegalovírus	100 000	TCID ₅₀ /ml	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	1 000 000	CFU/ml
Dengue vírus 1	10 000	TCID ₅₀ /ml	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1 000 000	CFU/ml
Dengue vírus 2	10 000	TCID ₅₀ /ml	<i>Propionibacterium acnes</i>	1 000 000	CFU/ml
Dengue vírus 3	10 000	TCID ₅₀ /ml	<i>Staphylococcus aureus</i>	1 000 000	CFU/ml
Dengue vírus 4	100 000	TCID ₅₀ /ml	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1 000 000	CFU/ml
Epstein–Barr-vírus	100 000	másolat/ml	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1 000 000	CFU/ml
Influenza H1N1	100 000	TCID ₅₀ /ml	<i>Trichomonas vaginalis</i>	1 000 000	CFU/ml
Hepatitis A vírus	100 000	TCID ₅₀ /ml	^a TCID ₅₀ /ml = szövettenyésztet Fertőző dóziségség/ml		
Hepatitis C vírus	100 000	IU/ml ^b	^b IU/ml = nemzetközi egység/milliliter		
Hepatitis G vírus	100 000	másolat/ml	^c vp/ml = vírusrészcseke/milliliter		
Humán herpeszvírus 6B	100 000	másolat/ml	^d LD ₅₀ /ml = letális dózis/milliliter		
Humán herpeszvírus 8	100 000	másolat/ml	^e CFU/ml = telepképző egység/milliliter		
HIV-1	100 000	IU/ml	^f IFU/ml = zárványképező egység/milliliter		
HIV-2	10 000	TCID ₅₀ /ml			
Humán papillomavírus	100 000	másolat/ml			
Herpes simplex vírus 1 (HSV-1)	100 000	TCID ₅₀ /ml			
Herpes simplex vírus 2 (HSV-2)	100 000	TCID ₅₀ /ml			
Humán T-sejtes limfotróp vírus 1 (HTLV-1)	100 000	vp/ml ^c			
Humán T-sejtes limfotróp vírus 2 (HTLV-2)	100 000	vp/ml			
Japán encephalitis vírus	N/A	N/A			
Murray völgyi encephalitis vírus	2000	LD ₅₀ /ml ^d			
Parvovírus B19	100 000	IU/ml			
Rubeola vírus	10 000	TCID ₅₀ /ml			
St. Louis encephalitis vírus	100 000	TCID ₅₀ /ml			
Vaccinia vírus	1000	TCID ₅₀ /ml			
Nyugat-nílusi vírus	100 000	TCID ₅₀ /ml			
Sárgaláz vírus	100 000	TCID ₅₀ /ml			

Mátrix ekvivalencia

Száztizennyolc, egymáshoz illeszkedő vérvételi csőből (szérumcső, ACD, K2 EDTA, K3 EDTA, PPT, SST) álló mintakészletet vizsgáltak mátrix ekvivalencia szempontjából. Ezek közül 44 készlet természetes úton fertőzött HBV-pozitív, 74 készlet pedig HBV-vírussal adalékolt HBV-negatív minta volt. Az egyes vérvételi csőtípusokra vonatkozó korrelációt a(z) 14. táblázat mutatja, a szérumvételi cső mint összehasonlító eszköz használatával meghatározva.

14. táblázat: Mátrix ekvivalencia vizsgálata

Vérvételi cső	Deming-regresszió	A meredekség 95%-os CI értéke		A tengelymetszet 95%-os CI értéke		R ²	Átlagos különbség (Log ₁₀)
		Alsó határérték	Felső határérték	Alsó határérték	Felső határérték		
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 = konfidenciaintervallum.

Minta hígítása Aptima vizsgálatiminta-hígítóval (1:3)

Az Aptima vizsgálatiminta-hígítóval hígított mintákban a HBV-DNS kimutatási pontosságának értékeléséhez, a lineáris tartományt átfogó mintákat 1:3 arányban hígították Aptima vizsgálatiminta-hígítóval (például 240 µl mintát 480 µl Aptima vizsgálatiminta-hígítóval hígított mintákban kombinálva). Minden mintát tisztán és hígítva (1:3), három párhuzamos vizsgálatnak vetették alá. A vizsgálatot egy tétel vizsgálati reagenssel végezték két Panther rendszerben, két Aptima vizsgálatiminta-hígítóval. A natív mátrixban jelentett átlagos koncentráció (a hígított minta eredményére alkalmazott hígítási tényező) és az Aptima vizsgálatiminta-hígítóban jelentett átlagos koncentráció közötti különbségeket a(z) 15. táblázat mutatja be a plazma, és a 16. táblázat a szérum esetében. A hígított mintákban a mintakonzentrációkat pontosan visszanyerték.

15. táblázat: Plazmaminta 1:3 hígítási mátrix összehasonlítás összefoglalása

Plazmamátrix Átlagos jelentett koncentráció (Log ₁₀ IU/ml) n = 9	Hígítószer Átlagos jelentett koncentráció (Log ₁₀ IU/ml) n = 18	Különbség Hígítószer plazmamátrixból (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

^an = 21.^bn = 42.

16. táblázat: Szérumminta 1:3 hígítási mátrix összehasonlítás összefoglalása

Szérummátrix Átlagos jelentett koncentráció (Log ₁₀ IU/ml) n = 9	Hígítószer Átlagos jelentett koncentráció (Log ₁₀ IU/ml) n = 18	Különbség Hígítószer szérummátrixból (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

^an = 21.^bn = 42.

Minta hígítása Aptima vizsgálatiminta-hígítóval (1:100)

A HBV-DNS kimutatási pontosságának értékeléséhez az Aptima vizsgálatiminta-hígítóval, plazmával vagy szérummal hígított mintákban nyolc egyedi plazma vizsgálati mintát és nyolc egyedi szérum vizsgálati mintát, amelyeket 6 és 8 log₁₀ IU/ml közötti célértéket elérő HBV-vírussal adalékoltak, valamint nyolc egyedi plazmamintát és nyolc egyedi szérummintát, amelyeket 9,16 log₁₀ IU/ml célértéket elérő HBV-plazmid DNS-sel adalékoltak, 5 ismétlésben vizsgáltak. Közvetlenül a vizsgálat előtt 1:100 arányú hígítást végeztek egy rész mintával és 99 rész Aptima vizsgálatiminta-hígítóval. A vizsgálatot egy tétel vizsgálati reagenssel végezték két Panther rendszerben, két Aptima vizsgálatiminta-hígítóval. A natív mátrixban jelentett átlagos koncentráció (a hígított minta eredményére alkalmazott hígítási tényező) és az Aptima vizsgálatiminta-hígítóban jelentett átlagos koncentráció közötti különbséget minden mintakészletre

kiszámították, amint az a(z) 17. táblázatban látható a plazma, és a 18. táblázatban a szérum esetében.

17. táblázat: Plazmaminta 1:100 hígítási mátrix összehasonlítás összefoglalása

Plazmamátrix Átlagos jelentett koncentráció (Log ₁₀ IU/ml) n = 5	Hígítószer Átlagos jelentett koncentráció (Log ₁₀ IU/ml) n = 10	Különbség Hígítószer plazmamátrixból (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

^aPlazmid DNS felhasználásával adalékolt.

18. táblázat: Szérumminta 1:100 hígítási mátrix összehasonlítás összefoglalása

Szérummátrix Átlagos jelentett koncentráció (Log ₁₀ IU/ml) n = 5	Hígítószer Átlagos jelentett koncentráció (Log ₁₀ IU/ml) n = 10	Különbség Hígítószer szérummátrixból (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

^aPlazmid DNS felhasználásával adalékolt.

Az LLoQ megerősítése az Aptima vizsgálatiminta-hígítóval hígított mintákban

Az Aptima HBV Quant vizsgálat LLoQ értékét az Aptima vizsgálatiminta-hígítóban hígított A genotípusú HBV klinikai vizsgálati mintákkal igazolták. A mintákat HBV-negatív humán plazmából és szérumból 21, 30 és 45 IU/ml koncentrációban készítették. Mindegyik panelt 1:3 arányban hígították Aptima vizsgálatiminta-hígítóval közvetlenül a vizsgálat előtt, hogy a végső koncentráció körülbelül 7, 10 és 15 IU/ml legyen. Három napon keresztül összesen 36 ismétlést teszteltek minden egyes paneltagból egy reagenstétellel. Az Aptima vizsgálatiminta-hígítóval hígított HBV-plazma és szérumban a(z) 19. táblázatban látható módon megerősítették a ≤ 10 IU/ml LLoQ értéket.

19. táblázat: LLoQ megerősítése - Aptima vizsgálatiminta-hígítóval hígított minták

Mátrix	% kimutatva	Aptima HBV Quant (IU/ml)	Aptima HBV Quant (Log ₁₀ IU/ml)	SD (Log ₁₀ IU/ml)	Torzítás (Log ₁₀ IU/ml)	Számított TE (Log ₁₀ IU/ml)	Számított TAE (Log ₁₀ IU/ml)
Plazma	100%	3	0,50	0,19	0,10	0,54	0,48
Szérumból	100%	2	0,38	0,12	0,46	0,33	0,70

A hígított minták precizitása

Az Aptima HBV Quant precizitási panelt HBV-pozitív plazma és HBV-plazmid DNS HBV-negatív klinikai plazmához és szérumból történő hígításával állították össze. A pozitív paneleket Aptima vizsgálatiminta-hígítóval hígították. Ezeket egy kezelő öt ismétlésben tesztelte, napi két futtatással, három tétel Aptima vizsgálatiminta-hígítót használva egy Panther rendszerben, három teszt napon keresztül.

A 20. táblázat a vizsgálati eredmények precizitását mutatja be (SD log₁₀ IU/ml-ben) az Aptima vizsgálatiminta-hígító három tételére vonatkozóan. A teljes variabilitás $\leq 0,15$ SD volt a panel minden tagja és a hígítószer-tételek között.

20. táblázat: Az Aptima vizsgálatiminta-hígítóval hígított panelek precizitása

Mátrix	Célkoncentráció (Log ₁₀ IU/ml)	Hígítás	1. tétel vizsgálatiminta-hígító (n = 10)		2. tétel vizsgálatiminta-hígító (n = 10)		3. tétel vizsgálatiminta-hígító (n = 10)		Kombinált tételek (n = 30)	
			Átlagos Log ₁₀ IU/ml	SD	Átlagos log ₁₀ IU/ml	SD	Átlagos Log ₁₀ IU/ml	SD	Átlagos Log ₁₀ IU/ml	SD
Plazma	3,30	Tisztán	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	Tisztán	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	Tisztán	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
Szérumból	3,30	Tisztán	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	Tisztán	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	Tisztán	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 = szórási.

^a1 ismétlést kizártak (kiszámítható tartomány felett).

^b2 ismétlést kizártak (kiszámítható tartomány felett).

Átvitel

Annak megállapítása érdekében, hogy a Panther rendszer minimalizálja-e az átvitelből eredő hamis pozitív eredmények kockázatát, három Panther rendszerrel végeztek egy vizsgálatot, amelyben adalékolt paneleket teszteltek. Az átvitelt a HBV-negatív minták között sakktáblás mintázatban elhelyezett, magas titerű HBV-DNS-t tartalmazó plazmaminták ($8 \log_{10}$ IU/ml) segítségével vizsgálták. A tesztelést tizenöt futtatáson keresztül végezték. A teljes átviteli arány átlagosan 0,14% volt (1/705).

Reprodukálhatóság

A reprodukálhatóságot a Panther rendszerrel három külső amerikai helyszínen értékelték. Minden vizsgálóhelyen két kezelő végezte a tesztelést. Minden kezelő naponta két futtatást végzett három napon keresztül, a tesztelés alatt három reagenstételt alkalmazva. Minden futtatás három ismétlést tartalmazott az egyes panelelemből. Összesen 108 ismétlést vizsgáltak minden egyes paneltagból.

A reprodukálhatóságot HBV-negatív plazmából készített paneltagok segítségével vizsgálták. A pozitív panel tagjai pozitívak voltak a HBV A vagy C genotípusára. A HBV-DNS-koncentráció a vizsgálat lineáris tartományában volt.

A(z) 21. táblázat a vizsgálati eredmények reprodukálhatóságát és precizitását mutatja az egyes pozitív paneltagok esetében a helyszínek, a kezelők/napok, a tételek, a futtatások között, a futtatásokon belül és összességében.

A variációs koefficiens a következő egyenlet segítségével számoltuk ki, ahol σ^2 az adatok $\log_{10}$ transzformáció utáni mintavariációjának.

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

A HBV-pozitív paneltagok esetében az egyezés értéke 100%-os volt.

21. táblázat: Az Aptima HBV Quant vizsgálat HBV DNS-szintjeinek reprodukálhatósága a Panther rendszerben pozitív paneltagok esetében

Megfigyelt átlag				Az összes varianciához való százalékos hozzájárulás SD (%CV)					
GT	N	IU/ml	Log ₁₀ IU/ml	Vizsgálati helyszínek között	Kezelők/napok között ^a	Tételek között	Futtatások között	Futásokon belül	Teljes variancia SD (%CV)
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 = log-normál variációs együttható, GT = genotípus, SD = szórás

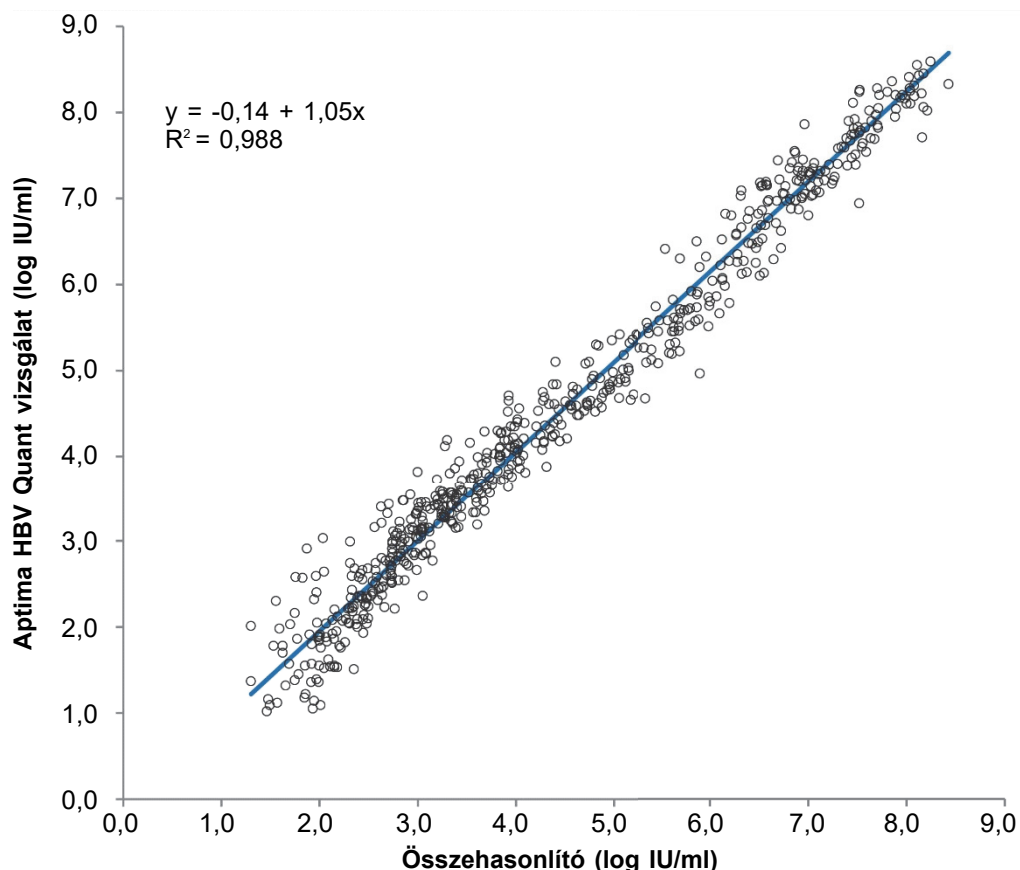
Megjegyzés: A variabilitás bizonyos tényezők hatására negatív számértéket is felvehet. Ez abban az esetben fordulhat elő, ha ezen tényezők miatt a variabilitás rendkívül alacsony. Ezekben az esetekben az SD és a CV feltüntetett értéke 0.

^a A kezelők közötti és a napok közötti értékek összekeveredhetnek a napok közötti értékekkel, ezért a kezelők közötti és a napok közötti becsléseket a kezelők/napok közötti értékben kombinálták.

Klinikai teljesítőképesség

Módszer-korreláció

Az Aptima HBV Quant vizsgálat teljesítőképességét egy CE-jelöléssel ellátott és egy Health Canada által engedélyezett összehasonlító vizsgálattal szemben értékelték HBV-fertőzött betegekből származó hígítatlan klinikai vizsgálati minták értékelésével. A lineáris regresszióhoz összesen 614 klinikai vizsgálati mintát használtak fel a két vizsgálat közös lineáris tartományán belül, amint az itt látható: 9. ábra.



9. ábra Az Aptima HBV Quant vizsgálat és az összehasonlító vizsgálat közötti korreláció

Klinikai hasznosság

A vizsgálat célja annak felmérése volt, hogy az Aptima HBV Quant vizsgálat képes-e előre jelezni a virológiai, biokémiai és szerológiai klinikai hasznossági végpontokat 48 héttel a terápia megkezdése után. A mintákat prospektív módon gyűjtötték olyan krónikus HBV-fertőzött személyektől, akik a szokásos kezelés részeként entekavirral vagy tenofovirral kezdtek monoterápiát.

A 331 bevont alany közül 86 alany nem volt értékelhető a kezelés visszavonása, abbahagyása, a kezelés korai leállítása, a 48. heti eredmények hiánya, illetve a HBV-DNS vírusszámának hiánya vagy alacsony kiindulási szintje miatt. A fennmaradó 245 alany legalább egy klinikai hasznosság végpont tekintetében értékelhető volt, és 126 HBeAg(+) és 119 HBeAg(-) alanyt tartalmazott. A 22. táblázat az értékelhető alanyok demográfiai és alapvető klinikai jellemzőit mutatja. A vizsgálatban részt vevő személyek demográfiai megoszlása megegyezett az Egyesült Államokban élő krónikus HBV-betegek demográfiai megoszlásával.¹³ A HBeAg(+) és a HBeAg(-) alanyok adatait külön elemezték.

22. táblázat: Az értékelhető alanyok demográfiai és klinikai alapjellemzői

Jellemzők	Összesen
Összes, N	245
Entekavir	94 (38,4)
Tenofovir	151 (61,6)
Nem, n (%)	Férfi Nő
	154 (62,9) 91 (37,1)
Életkor (év)	Átlag $\pm$ SD Medián Tartomány
	43,5 $\pm$ 13,63 44,0 18–83
Korcsoport (év), n (%)	18–29 30–49, n (%) 50–70, n (%) >70, n (%)
	40 (16,3) 120 (49,0) 80 (32,7) 5 (2,0)
Etnikai hovatartozás, n (%)	Spanyolajkú vagy latin-amerikai Nem spanyolajkú vagy latin-amerikai Ismeretlen/visszautasított
	7 (2,9) 236 (96,3) 2 (0,8)
Rassz ^a , n (%)	Fehér Fekete vagy afroamerikai Ázsiai Amerikai indián/alaszakai őslakos Hawaii őslakosok/csendes-óceáni szigetlakók Egyéb Ismeretlen/visszautasított
	89 (36,3) 16 (6,5) 132 (53,9) 0 (0,0) 6 (2,4) 1 (0,4) 1 (0,4)
Genotípus, n (%)	A B C D E F G H Ismeretlen
	28 (11,4) 64 (26,1) 36 (14,7) 47 (19,2) 2 (0,8) 0 (0,0) 0 (0,0) 3 (1,2) 65 (26,5)
HBV kezelési státusz, n (%)	Kezelést kapott Kezelést nem kapott
	27 (11,0) 218 (89,0)
Korábbi gyógyszeres kezelés, n (%)	Tenofovir Entekavir Adefovir Lamivudin Telbivudin Interferon Egyéb ^b Sikertelen
	5 (18,5) 4 (14,8) 2 (7,4) 1 (3,7) 0 (0,0) 10 (37,0) 5 (18,5) 1 (3,7)
Korábbi kezelés eredménye, n (%)	Siker Egyéb okokból leállítva
	0 (0,0) 26 (96,3)
HBsAg szerológiai státusz, n (%)	Pozitív/reaktív Nem történt meg
	210 (85,7) 35 (14,3)

22. táblázat: Az értékelhető alanyok demográfiai és klinikai alapjellemzői (folytatás)

Jellemzők	Összesen
Cirrotikus állapot, n (%)	Cirrotikus
	26 (10,6)
	Nem cirrotikus
HBV vírusterhelés (log ₁₀ IU/ml)	Nem történt meg
	18 (7,3)
	Átlag ± SD
ALT (U/L)	Medián
	6,4
	Tartomány
	Átlag ± SD
	102,4 ± 175,97
	ULN ^c feletti szám
	177 (85,9)

^a Az alanyok több rasszt is megjelölhetnek.

^b A felsorolt gyógyszerek különböző kombinációi.

^c Az alanin-aminotranszferáz (ALT) normál értékének felső határa (ULN) férfiaknál 30 U/L, nőknél 19 U/L volt.

A vírusellenes terápiára való reagálás előrejelzése

Az Aptima HBV Quant vizsgálat klinikai hasznosságát a tenofovirral és entekavirral kezelt egyének esetében értékelték. Nem áll rendelkezésre információ a vizsgálat klinikai hasznosságáról, ha más HBV-ellenes terápiákat alkalmaznak.

Meghatározások:

A korai virológiai válasz eredményei

12. és 24. heti virológiai válasz = HBV-DNS <10 IU/ml (<LLOQ) a Panther rendszeren végzett Aptima HBV Quant vizsgálat szerint

12. heti alternatív virológiai válasz = HBV DNS ≥2 log₁₀ csökkenés a kiindulási értékhez képest

24. heti alternatív virológiai válasz = HBV DNS <2000 IU/ml (HBeAg+ esetén) vagy <50 IU/ml (HBeAg- esetén)

Klinikai hasznossági végpontok

48. heti virológiai válasz = HBV DNS <10 IU/ml (<LLOQ) egy jóváhagyott HBV kvantitatív vizsgálattal értékelve

Alternatív 48. heti virológiai válasz = HBV DNS <50 IU/ml egy jóváhagyott HBV kvantitatív vizsgálattal értékelve

Biokémiai válasz = ALT-vizsgálati eredmények normalizálódása a 48. héten (ALT <30 U/l férfiaknál és <19 U/l nőknél)

Szerológiai válasz = HBeAg-vesztés (HBeAg-negatív eredmények) a 48. héten

Az asszociáció és a prediktív érték mérése

Pozitív prediktív érték (PPV) = valós pozitív / (valós pozitív + hamis pozitív) vagy a 48. héten (a vizsgált klinikai hasznossági végpontra vonatkozóan) a válasz valószínűsége a korai időpontban virológiai választ mutató alanyok esetében

Negatív prediktív érték (NPV) = valós negatív / (hamis negatív + valós negatív) vagy a 48. héten (a vizsgált klinikai hasznossági végpont tekintetében) a nem reagálás valószínűsége a korai időpontban virológiai nem reagáló alanyok esetében

Esélyhányados (OR) = (valós pozitív × valós negatív) / (hamis pozitív × hamis negatív)

A 48. heti virológiai válasz előrejelzése, HBV DNS <10 IU/ml mértékegységben meghatározva

Ebben a vizsgálatban a virológiai válasz elsődleges definíciója a HBV-DNS <10 IU/ml volt, és ezt a definíciót használták mind a 12. és 24. héten elért korai virológiai válaszra, mind a 48. héten elért virológiai válaszra. Értékeltek a 12. és 24. heti korai virológiai válaszok és a 48. heti klinikai hasznossági végpontok (virológiai válasz, biokémiai válasz, szerológiai válasz) közötti összefüggést.

Virológiai válasz előrejelzése a 48. héten

A 48. heti virológiai válasz és a 12. és 24. heti virológiai válasz közötti összefüggéseket a(z) 23. táblázatban foglaltuk össze.

A korai virológiai válaszok a 12. és 24. héten, a 48. heti virológiai válasz előrejelzőiként, hetenként és kezelésenként eltérőek voltak.

23. táblázat: PPV, NPV és esélyhányados a kezelés során a korai virológiai válasz alapján előre jelzett virológiai válaszra: A 48. hét virológiai válasz definíció szerint <10 IU/ml

HBsAg státusz	A korai virológiai válasz hete	Kezelés	PPV (%)		NPV (%)		VAGY
			Becsítés (95%-OS CI)	n/N	Becsítés (95%-OS CI)	n/N	Becsítés (95% CI) ^{a,b}
HBsAg(+)	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)
		Összes	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)
		Összes	70,0 (50,3, 88,1)	14/20	85,4 (81,3, 90,1)	88/103	13,69 (4,74, 44,16)
HBsAg(-)	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)
		Összes	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)
		Összes	87,6 (82,7, 92,6)	78/89	62,5 (44,8, 78,0)	15/24	11,82 (4,30, 34,94)

CI = 95%-os profil-valószínűségi konfidenciaintervallum

^a Az árnyékolás az esélyhányadosok statisztikai szignifikanciáját jelzi.

^b Az esélyhányadosok és azok konfidenciaintervallumainak kiszámításához 0,5-öt adtunk minden cellához, ha legalább egy cella nulla volt.

Biokémiai válasz előrejelzése a 48. héten

A 48. heti biokémiai válasz és a 12. és 24. heti virológiai válasz közötti összefüggéseket a(z) 24. táblázatban foglaltuk össze.

A korai virológiai válaszok értéke a 12. és 24. héten a 48. heti biokémiai válasz előrejelzőjeként hetenként és kezelésként változott.

24. táblázat: PPV, NPV és esélyhányados a kezelés során a korai biokémiai válasz alapján előre jelzett virológiai válaszra: A 48. hét virológiai válasz definíció szerint <10 IU/ml

HBeAg státusz	A korai virológiai válasz hete	Kezelés	PPV (%)		NPV (%)		VAGY
			Becsítés (95%-OS CI)	n/N	Becsítés (95%-OS CI)	n/N	Becsítés (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)
		Összes	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)
		Összes	60,0 (36,6, 80,9)	9/15	63,6 (58,2, 70,0)	42/66	2,62 (0,84, 8,70)
HBeAg(-)	12	Entekavir	43,8 (25,1, 61,2)	7/16	50,0 (25,1, 74,9)	6/12	0,78 (0,17, 3,53)
		Tenofovir	52,9 (35,1, 72,2)	9/17	76,2 (61,2, 89,8)	16/21	3,60 (0,93, 15,39)
		Összes	48,5 (36,0, 60,9)	16/33	66,7 (54,5, 78,6)	22/33	1,88 (0,70, 5,20)
	24	Entekavir	45,8 (36,0, 56,0)	11/24	75,0 (25,2, 98,7)	3/4	2,54 (0,28, 55,45)
		Tenofovir	42,9 (32,8, 53,1)	12/28	80,0 (53,0, 97,1)	8/10	3,00 (0,61, 22,34)
		Összes	44,2 (37,8, 50,8)	23/52	78,6 (55,1, 95,0)	11/14	2,91 (0,80, 13,98)

CI = 95%-os profil-valószínűségi konfidenciaintervallum, NC = nem számítható

^a Az esélyhányadosok és azok konfidenciaintervallumainak kiszámításához 0,5-öt adtunk minden cellához, ha legalább egy cella nulla.

A szerológiai válasz előrejelzése a 48. héten

A 48. heti szerológiai válasz és a 12. és 24. heti virológiai válasz közötti összefüggéseket a(z) 25. táblázatban foglaltuk össze.

A korai szerológiai válaszok értéke a 12. és 24. héten a 48. heti biokémiai válasz előrejelzőjeként hetenként és kezelésenként változott.

25. táblázat: PPV, NPV és esélyhányados a kezelés során a korai szerológiai válasz alapján előre jelzett virológiai válaszra: A 48. hét virológiai válasz definíció szerint <10 IU/ml

HBeAg státusz	A korai virológiai válasz hete	Kezelés	PPV (%)		NPV (%)		VAGY
			Becslés (95%-OS CI)	n/N	Becslés (95%-OS CI)	n/N	Becslés (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)
		Összes	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)
		Összes	25,0 (8,5, 43,6)	5/20	85,4 (82,5, 89,4)	88/103	1,96 (0,57, 5,94)

CI = 95%-os profil-valószínűségi konfidenciaintervallum

^a Az esélyhányadosok és azok konfidenciaintervallumainak kiszámításához 0,5-öt adtunk minden cellához, ha legalább egy cella nulla.

A 48. heti virológiai válasz előrejelzése HBV DNS <50 IU/ml mértékegységben (alternatív definíció)

A korai (12. és 24. hét) és a 48. heti virológiai válasz alternatív definícióit is értékelték (lásd fentebb az alternatív válaszdefiníciókat).

A klinikai hasznossági végpontok és a virológiai válasz közötti összefüggéseket a 12. és a 24. héten a virológiai válasz ezen alternatív definíciói alapján a(z) 26. táblázatban (virológiai válasz), a 27. táblázatban (biokémiai válasz) és a(z) 28. táblázatban (szerológiai válasz) foglaltuk össze.

26. táblázat: PPV, NPV és esélyhányados a kezelés során a korai virológiai válasz alapján előre jelzett virológiai válaszra: A 48. hét virológiai válasz definíció szerint <50 IU/ml

HBeAg státusz	A korai virológiai válasz hete	Kezelés	PPV (%)		NPV (%)		VAGY
			Becslés (95%-OS CI)	n/N	Becslés (95%-OS CI)	n/N	Becslés (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)
		Összes	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)
		Összes	70,5 (63,5, 77,9)	55/78	93,3 (84,0, 98,3)	42/45	33,47 (10,81, 148,13)
HBeAg(-)	12	Entekavir	100 (NC)	52/52	NC (NC)	0/0	NC
		Tenofovir	93,0 (89,1, 97,5)	53/57	60,0 (21,3, 93,3)	3/5	19,87 (2,62, 191,49)
		Összes	96,3 (94,4, 98,7)	105/109	60,0 (21,1, 93,3)	3/5	39,37 (5,24, 376,77)
	24	Entekavir	100 (NC)	47/47	0,0 (NC)	0/4	NC
		Tenofovir	93,9 (88,6, 98,3)	46/49	30,8 (6,7, 52,4)	4/13	6,81 (1,30, 39,97)
		Összes	96,9 (93,8, 99,2)	93/96	23,5 (7,0, 39,8)	4/17	9,54 (1,91, 53,22)

CI = 95%-os profil-valószínűségi konfidenciaintervallum, NC = nem számítható

^a Az árnyékolás az esélyhányadosok statisztikai szignifikanciáját jelzi.

^b Az esélyhányadosok és azok megbízhatósági intervallumainak kiszámításához 0,5-öt adtunk minden cellához, ha legalább egy cella nulla volt, kivéve, ha vagy nem volt 48. heti válasz, vagy nem volt 48. heti nem-válasz, ami azt eredményezte, hogy az esélyhányadot NC-ként jelentették.

27. táblázat: PPV, NPV és esélyhányados a kezelés során a korai biokémiai válasz alapján előre jelzett virológiai válaszra: A 48. hét virológiai válasz definíció szerint <50 IU/ml

HBeAg státusz	A korai virológiai válasz hete	Kezelés	PPV		NPV		VAGY
			Becsítés (95%-OS CI)	n/N	Becsítés (95%-OS CI)	n/N	Becsítés (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)
		Összes	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)
		Összes	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)
		Összes	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)
		Összes	42,6 (36,4, 48,9)	23/54	75,0 (48,8, 93,7)	9/12	2,23 (0,59, 10,87)

CI = 95%-os profil-valószínűségi konfidenciaintervallum

^a Az árnyékolás az esélyhányadosok statisztikai szignifikanciáját jelzi.

^b Az esélyhányadosok és azok konfidenciaintervallumainak kiszámításához 0,5-öt adtunk minden cellához, ha legalább egy cella nulla volt.

28. táblázat: PPV, NPV és esélyhányados a kezelés során a korai szerológiai válasz alapján előre jelzett virológiai válaszra: A 48. hét virológiai válasz definíció szerint <50 IU/ml

HBeAg státusz	A korai virológiai válasz hete	Kezelés	PPV		NPV		VAGY
			Becsítés (95%-OS CI)	n/N	Becsítés (95%-OS CI)	n/N	Becsítés (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)
		Összes	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)
		Összes	24,4 (20,0, 28,4)	19/78	97,8 (90,4, 99,9)	44/45	14,17 (2,77, 259,25)

CI = 95%-os profil-valószínűségi konfidenciaintervallum

^a Az árnyékolás az esélyhányadosok statisztikai szignifikanciáját jelzi.

^b Az esélyhányadosok és azok konfidenciaintervallumainak kiszámításához 0,5-öt adtunk minden cellához, ha legalább egy cella nulla volt.

Következtetés

Összességében az eredmények azt mutatják, hogy az Aptima HBV Quant vizsgálat képes a HBV-DNS-szintek mennyiségi meghatározására a kiinduláskor és a kezelés alatt, ezzel segítve a kezelésre adott vírusválasz értékelését. Ez a vizsgálat igazolta, hogy a korai virológiai válaszok a 12. és 24. héten, a 48. heti virológiai válasz előrejelzőiként, hetenként és kezelésenként változnak.

Az Aptima HBV Quant vizsgálat a HBV-ellenes gyógyszeres kezelés alatt álló, krónikus HBV-fertőzött betegek kezelésének segédeszközeként használható.

Irodalomjegyzék

1. **World Health Organization.** Global progress report on HIV, viral hepatitis and sexually transmitted infections, 2021. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240027077>. Letöltve: 2022. szeptember
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>.

Elérhetőségek és felülvizsgálati előzmények



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



Hologic BV
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

Ausztrál megbízó

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

Az országspecifikus műszaki támogatás és ügyfélszolgálat e-mail-címéért és telefonszámáért látogasson el a www.hologic.com/support weboldalra.

Az Európai Unióban az eszközzel kapcsolatban bekövetkezett súlyos váratlan eseményeket jelenteni kell a gyártónak és a felhasználó székhelye és/vagy a beteg lakóhelye szerinti tagállam illetékes hatóságának.

A Hologic, az Aptima, a Panther, a Panther Fusion és az érintett logók a Hologic, Inc. vállalatnak és/vagy leányvállalatainak a védjegyei és/vagy bejegyzett védjegyei az Amerikai Egyesült Államokban és/vagy más országokban. A jelen használati utasításban megjelenő minden más védjegy a jogos tulajdonosok birtokában van.

A jelen használati utasításban megjelenő minden más védjegy a jogos tulajdonosok birtokában van.

Ezt a terméket egy vagy több, a www.hologic.com/patents oldalon felsorolt egyesült államokbeli szabadalom védheti.

© 2017–2025 Hologic, Inc. All rights reserved.

AW-28215-2801 Rev. 003

2025-10

Felülvizsgálati előzmények	Dátum	Leírás
AW-28215-2801 Rev. 001	2025. július	Az új, Aptima HBV vizsgálat használati útmutató (AW-28215 001. változat) létrehozása az IVDR-nek való hatósági megfelelés érdekében; az AW-13182 helyébe lép.
AW-28215-2801 Rev. 002	2025. augusztus	A BSI követelményeknek való megfelelés érdekében végzett védjegyfrissítések.
AW-28215-2801 Rev. 003	2025. október	- Csórázó opció hozzáadása. - SDS frissítése.