

Aptima® HBV Quant Assay

Návod na použitie
Na diagnostické použitie *in vitro*
Len na export z USA

Všeobecné informácie	2
Určené použitie	2
Zhrnutie a vysvetlenie testu	2
Princípy postupu	3
Súhrn parametrov bezpečnosti a výkonu	3
Varovania a bezpečnostné opatrenia	4
Požiadavky na skladovanie a manipuláciu s reagensiami	8
Odber vzoriek a skladovanie	9
Vzorky v systéme Panther	12
Preprava preparátov	12
Systém Panther	13
Poskytnuté reagensie a materiály	13
Potrebné materiály predávané samostatne	14
Voliteľné materiály	15
Postup testovania v systéme Panther	16
Poznámky k postupu	20
Kontrola kvality	21
Kalibrácia testu	21
Negatívne a pozitívne kontroly	21
Interný kalibrátor/interná kontrola	21
Interpretácia výsledkov	22
Obmedzenia	23
Analytický výkon	24
Limit detekcie podľa 3. medzinárodného štandardu WHO	24
Limit detekcie rôznych genotypov HBV	24
Lineárny rozsah	25
Linearita rôznych genotypov HBV	26
Spodný limit kvantifikácie podľa 3. medzinárodného štandardu WHO	26
Spodný limit kvantifikácie rôznych genotypov HBV	28
Sledovateľnosť k 3. medzinárodnému štandardu WHO	30
Presnosť	30
Potenciálne interferujúce látky	32
Analytická špecificita	34
Ekvivalencia matrice	35
Riedenie vzorky pomocou riediaceho prípravku na vzorky Aptima (1 : 3)	35
Riedenie vzorky pomocou riediaceho prípravku na vzorky Aptima (1 : 100)	36
Potvrdenie LLoQ u vzoriek riedených riediacim prípravkom na vzorky Aptima	38
Presnosť riedených vzoriek	38
Prenos	39
Reprodukovateľnosť	39
Klinický výkon	41
Korelácia metód	41
Klinická využiteľnosť	41
Literatúra	50
Kontaktné údaje a história revízií	51

Všeobecné informácie

Určené použitie

Test Aptima® HBV Quant je *in vitro* test založený na amplifikácii nukleových kyselín na kvantifikáciu DNA vírusu hepatitídy B (HBV) v ľudskej plazme a sére na plne automatizovanom systéme Panther™.

Plazmu je možné pripraviť pomocou kyseliny etyléndiamíntetraoctovej (EDTA), antikoagulačného roztoku citrátovanej dextrózy (ACD) a skúmaviek na prípravu plazmy (PPT). Sérum je možné pripraviť v skúmavkách na sérum a skúmavkách na separáciu séra (SST). Vzorky sa testujú pomocou plne automatizovaného systému Panther, ktorý zaisťuje spracovanie, amplifikáciu a kvantifikáciu vzoriek. Vzorky obsahujúce HBV genotypy A, B, C, D, E, F, G a H sú validované na kvantifikáciu v teste.

Test Aptima HBV Quant je určený na použitie ako pomôcka na liečbu pacientov s chronickými HBV infekciami podstupujúcich terapiu HBV antivirotikami. Test je možné použiť na stanovenie hladiny HBV DNA vo východiskovej úrovni a v priebehu liečby ako pomôcky pri hodnotení vírusovej odpovede na liečbu. Výsledky testu Aptima HBV Quant je nutné interpretovať v kontexte všetkých relevantných klinických a laboratórnych zistení.

Test Aptima HBV Quant nie je určený na použitie ako skriningový test na prítomnosť HBV DNA v krvi alebo krvných produktoch ani ako diagnostický test na potvrdenie prítomnosti infekcie HBV.

Zhrnutie a vysvetlenie testu

Vírus hepatitídy B je jedným z niekoľkých vírusov, ktoré spôsobujú hepatitídu. Vedie k celoživotnej infekcii HBV, cirhóze pečene, rakovine pečene, zlyhaniu pečene a potenciálnej smrti. Svetová zdravotnícka organizácia (WHO) uvádza HBV ako jednu z najčastejších infekčných chorôb na svete. Prevalencia HBV infekcie a metóda prenosu sa vo svete významne líšia. V roku 2019 sa odhadovalo, že celosvetovo žije s chronickou infekciou HBV 296 miliónov ľudí. Infekcia¹ HBV má za následok zvýšené riziko dekompenzácie pečenných funkcií, cirhózy a hepatocelulárneho karcinómu (HCC) s mortalitou 0,5 až 1,2 milióna úmrtí a 5 – 10 % prípadov transplantácie pečene po celom svete.^{2,3} Bez vhodnej liečby, zákroku a sledovania po diagnóze sa 5-ročná kumulatívna incidencia cirhózy pohybuje medzi 8 – 20 %. Po rozvoji cirhózy je ročné riziko hepatocelulárneho karcinómu 2 % až 5 %.⁴

HBV obsahuje genóm na cirkulárnej čiastočne dvojvláknovej DNA s približne 3 200 párami báz, ktoré kódujú štyri čiastočne sa prekrývajúce otvorené čítacie rámce (open reading frames, ORF) exprimujúce polymerázu, povrchové, precore/core a X proteíny. ORF polymeráza prekrýva ďalšie 3 ORF a kóduje kľúčový vírusový replikačný proteín, polymerázu. Povrchové ORF exprimujú tri proteíny, ktoré sú kľúčové pre vírusovú morfogenezu, vstup vírusu do hepatocytov a podnietenie imunitnej odpovede hostiteľa.⁵ Existuje 8 genotypov HBV (A – H) a tie sa nachádzajú typicky v odlišných geografických oblastiach.

Kvôli dynamickým vlastnostiam chronickej infekcie hepatitídou B je dôležité neustále sledovanie HBV DNA a hladín alanínaminotransferázy (ALT).⁶ U väčšiny jedincov infikovaných HBV a liečených antivírusovou liečbou je cieľom potlačenie DNA vírusu HBV. Kvantitatívne testy nukleových kyselín so širokým lineárnym rozsahom sú účinné nástroje na sledovanie vírusovej záťaže DNA vírusu HBV v priebehu liečby.

Princípy postupu

Test Aptima HBV Quant je *in vitro* test založený na amplifikácii nukleových kyselín, ktorý používa technológiu amplifikácie mediovanej transkripciou (TMA) v reálnom čase na systéme Panther na kvantifikáciu HBV DNA, genotypov A, B, C, D, E, F, G a H. Test Aptima HBV Quant je zameraný na dve vysokokonzervované oblasti v génoch pre polymerázu a povrchové proteíny (s cieľom dosiahnuť vyššiu toleranciu voči potenciálnym mutáciám). Test je štandardizovaný podľa 3. medzinárodnej normy WHO pre vírus hepatitídy B (kód NIBSC: 10/264).

Test Aptima HBV Quant pozostáva z troch hlavných krokov, ktoré všetky prebiehajú v jednej skúmavke v systéme Panther: záchyt cieľa, amplifikácia cieľa pomocou TMA a detekcia produktov amplifikácie (amplikónov) fluorescenčne značenými sondami (próby).

V priebehu záchytu cieľa sa zo vzoriek izoluje vírusová DNA. Vzorka je ošetrovaná detergentom, aby sa solubilizoval obal vírusu, denaturovali proteíny a uvoľnila genómová DNA vírusu. Zachytené oligonukleotidy hybridizujú do vysoko konzervovaných oblastí HBV DNA (ak sú prítomné) v testovanej vzorke. Hybridizovaný cieľ sa potom zachytí na magnetické mikročastice, ktoré sú oddelené zo vzorky v magnetickom poli. Na odstránenie cudzorodých komponentov z reakčnej skúmavky sa použijú kroky premývania.

Cieľová amplifikácia nastane prostredníctvom metódy TMA, čo je metóda amplifikácie kyseliny nukleovej prostredníctvom transkripcie, kde sa používajú dva enzýmy, reverzná transkriptáza z myšieho leukemického vírusu Moloney (MMLV) a T7 RNA polymeráza. Reverzná transkriptáza sa používa na generovanie kópie DNA (obsahujúcej promotorovú sekvenciu pre T7 RNA polymerázu) cieľovej sekvencie. T7 RNA polymeráza produkuje viac kópií RNA amplikónu zo šablóny DNA kópie. Test Aptima HBV Quant používa metódu TMA na amplifikáciu dvoch oblastí HBV genómu (gén pre polymerázu a gén pre povrchové proteíny). Amplifikácia týchto oblastí sa dosiahne pomocou špecifických primerov navrhnutých na amplifikáciu HBV genotypov A, B, C, D, E, F, G a H. Prístup s duálnou cieľovou oblasťou s primerom zameraným na vysoko konzervované oblasti zaisťuje presnú kvantifikáciu HBV DNA.

Detekcia je dosiahnutá pomocou horákov z jednovláknovej nukleovej kyseliny, ktoré sú prítomné v priebehu amplifikácie cieľa a ktoré hybridizujú špecificky na amplikón v reálnom čase. Každý horák má fluorofór a zhášadlo. Ak sonda nie je hybridizovaná na amplikón, zhášadlo je v tesnej blízkosti fluorofóru a potlačí fluorescenciu. Keď sa sonda naviaže na amplikón, zhášadlo sa presunie do väčšej vzdialenosti od fluorofóru a bude po excitácii svetelným zdrojom vydávať signál so špecifickou vlnovou dĺžkou. S hybridizáciou ďalších sond na amplikón vznikne vyšší fluorescenčný signál. Doba, než fluorescenčný signál dosiahne špecifikovaný prah, je úmerná počiatočnej koncentrácii HBV. Každá reakcia má interný kalibrátor/internú kontrolu (IC) slúžiacu na kontrolu variácií v spracovaní vzorky, amplifikácii a detekcii. Koncentrácia vzorky je stanovená pomocou softvéru systému Panther na základe HBV a IC signálov pre každú reakciu a ich porovnania s kalibračnými informáciami.

Súhrn parametrov bezpečnosti a výkonu

Súhrn parametrov bezpečnosti a výkonu (Summary of Safety and Performance, SSP) je dostupný v Európskej databáze zdravotníckych pomôcok (Eudamed), kde je prepojený s identifikátormi pomôcky (Základné UDI-DI). Dokument SSP pre test Aptima HBV Quant nájdete podľa základného jedinečného identifikátora pomôcky (BUDI): 54200455DIAGAPTHBVAf.

Varovania a bezpečnostné opatrenia

- A. Len na diagnostické použitie *in vitro*.
- B. Na profesionálne použitie.
- C. Na zníženie rizika neplatných výsledkov si pred vykonaním tohto rozboru pozorne prečítajte celý príbalový leták a *prevádzkovú príručku systému Panther/Panther Fusion™*.
- D. Cieľová posilňovacia reagentia (TER) je korozívna. Pozrite si informácie o bezpečnostných údajoch na konci tejto časti.

Súvisiace s laboratóriom

- E. UPOZORNENIE: Kontroly pre tento test obsahujú ľudskú plazmu. Plazma je podľa testovania postupmi licencovanými Úradom pre kontrolu potravín a liečiv USA areaktívna na povrchový antigén hepatitídy B (HBsAg), protilátky proti HCV, protilátky proti HIV-1 a HIV-2 a HIV antigén. Okrem toho je plazma areaktívna voči HBV DNA, HCV RNA a HIV-1 RNA pri testovaní licencovanými testami nukleových kyselín. Všetok materiál pochádzajúci z ľudskej krvi je nutné považovať za potenciálne infekčný a pri práci s ním je nutné dodržiavať univerzálne bezpečnostné opatrenia.^{7,8,9}
- F. Tento postup smie vykonávať len personál adekvátne vyškolený v práci s testom Aptima HBV Quant a v manipulácii s potenciálne infekčnými materiálmi. Ak dôjde k vyliatiu, okamžite miesto vydezinfikujte pomocou príslušných postupov pracoviska.
- G. Používajte iba dodané alebo špecifikované jednorazové laboratórne pomôcky.
- H. Dodržiavajte rutinné laboratórne opatrenia. Nepipetujte ústami. Vo vyhradených pracovných oblastiach nejedzte, nepite ani nefajčte. Pri manipulácii so vzorkami a súpravami reagentií používajte jednorazové rukavice bez púdru, ochranné okuliare a laboratórne plášte. Po manipulácii so vzorkami a súpravami reagentií si dôkladne umyte ruky.
- I. Pracovné plochy, pipety a iné zariadenia sa musia pravidelne dekontaminovať 2,5 % až 3,5 % (0,35 M až 0,5 M) roztokom chlórnanu sodného.
- J. Všetky materiály, ktoré sa dostali do kontaktu so vzorkami a reagentiami, zlikvidujte v súlade s miestnymi, štátnymi a federálnymi nariadeniami.^{7,8,9,10} Všetky pracovné plochy dôkladne očistite a vydezinfikujte.
- K. Kontroly obsahujú azid sodný ako konzervačné činidlo. Na prenos reagentií nepoužívajte kovové skúmavky. Ak roztoky obsahujúce zlúčeniny azidu sodného likvidujete vo vodovodnom systéme, musia byť zriadené a spláchnuté hojným množstvom tečúcej vody. Tieto bezpečnostné opatrenia sa odporúčajú, aby sa zabránilo nahromadeniu usadenín v kovových potrubíach, kde by mohli vzniknúť výbušné podmienky.
- L. Zásady osvedčenej praxe pre molekulárne laboratória zahŕňajú sledovanie prostredia. Pri sledovaní laboratórneho prostredia odporúčame nasledujúci postup:
 - 1. Zoberte si vatovú tyčinku a spárujte ju s alikvotálnou skúmavkou na vzorky Aptima (SAT).
 - 2. Príslušným spôsobom označte každú skúmavku SAT.
 - 3. Naplňte každú SAT 1 ml prípravku na riedenie na vzorky Aptima.
 - 4. Pred zberom povrchových vzoriek zľahka navlhčite vatovú tyčinku deionizovanou vodou bez obsahu nukleázy.

5. Otrite požadovaný povrch vertikálnym pohybom zhora nadol. Pri otieraní lokality otočte tyčinku približne o polovicu otočky.
6. Okamžite vložte vzorku na vatovej tyčinke do skúmavky a jemne tyčinku premiešajte vírením v prípravku na riedenie, aby ste extrahovali potenciálne otretené materiály. Pritlačte vatovú tyčinku o bočnú stranu prepravnej skúmavky a vyextrahujte čo najviac tekutiny. Zlikvidujte vatovú tyčinku a zatvorte skúmavku uzáverom.
7. Zopakujte kroky u zostávajúcich sterových vzoriek.
8. Otestujte sterový materiál molekulárnym testom.

Súvisiace so vzorkami

- M. Preparáty môžu byť infekčné. Pri vykonávaní tohto testu použite univerzálne bezpečnostné opatrenia^{7,8,9}. Správne postupy manipulácie a likvidácie by mali byť stanovené v súlade s platnými miestnymi usmerneniami.¹⁰ Tento postup smie vykonávať len personál adekvátne vyškolený na prácu s testom Aptima HBV Quant a na manipuláciu s potenciálne infekčnými materiálmi.
- N. Počas prepravy zachovajte príslušné podmienky na uchovávanie, aby ste zaistili integritu preparátu. Stabilita preparátov v prepravných podmienkach iných, ako sú odporúčané, sa nehodnotila.
- O. Počas manipulácie s preparátmi sa vyhnite krížovej kontaminácii. Zvláštnu pozornosť venujte prevencii šírenia kontaminácie formou aerosólu pri uvoľňovaní alebo odstraňovaní uzáverov zo vzoriek. Vzorky môžu obsahovať extrémne vysoké hladiny organizmov. Uistite sa, že nádoby na vzorky sa navzájom nedotýkajú a použité materiály zlikvidujte bez toho, aby prešli cez otvorené nádoby. Vymeňte si rukavice, ak sa dostanú do kontaktu so vzorkou.

Súvisiace s testom

- P. Nepoužívajte súpravu reagensí, kalibrátor ani kontroly po dátume expirácie.
- Q. Nezamieňajte, nemiešajte ani nekombinujte reagenty na rozbor zo súprav s rôznymi číslami hlavnej šarže. Testové kvapaliny môžu pochádzať z rôznych šarží. Kontroly a kalibrátor môžu pochádzať z rôznych šarží.
- R. Zabráňte kontaminácii reagensí mikróbmi a nukleázami.
- S. Uzavrite a uskladnite všetky reagenty na test pri špecifikovaných teplotách. Výkonnosť testu môže byť ovplyvnená použitím nesprávne uskladnených reagensí na test. Viac informácií nájdete v časti *Požiadavky na skladovanie a manipuláciu s reagensiami a Postup testovania v systéme Panther*.
- T. Žiadne reagenty na test ani kvapaliny nekombinujte bez konkrétnych pokynov. Reagenty ani kvapaliny nedolievajte. Systém Panther overuje hladiny reagensí.
- U. Zabráňte kontaktu TER s pokožkou, očami a sliznicami. Ak dôjde ku kontaktu s touto reagensiou, umyte vodou. Ak dôjde k vyliatiu tejto reagensie, zriedte vodou a postupujte podľa príslušných postupov pre vaše pracovisko.
- V. Niektoré reagenty tejto súpravy sú označené informáciami o nebezpečenstve.

Poznámka: Oznámenie o nebezpečenstve odráža klasifikácie bezpečnostných údajov EÚ (SDS). Informácie o oznámeniach o nebezpečenstve, ktoré sú špecifické pre váš región, nájdete v KBÚ pre jednotlivé regióny v knižnici kariet bezpečnostných údajov na adrese www.hologicsds.com. Viac informácií o symboloch nájdete vo vysvetlení symbolov na adrese <https://www.hologic.com/package-inserts>.

Informácie o nebezpečenstve platné v Severnej Amerike	
	Súprava kontrol HBV VL <i>L'udské sérum/L'udská plazma 95 – 100 %</i> <i>Azid sodný <1 %</i> — —
 	Cieľová posilňovacia reagencia <i>Lithium Hydroxide, Monohydrate 5 – 10 %</i> — — NEBEZPEČENSTVO H302 – Škodlivý po požití. H314 – Spôsobuje vážne poleptanie kože a poškodenie očí. P264 – Po manipulácii si starostlivo umyte tvár, ruky a exponovanú pokožku. P270 – Pri používaní výrobku nejedzte, nepite ani nefajčite. P330 – Vypláchnite ústa. P501 – Zneškodnite obsah/nádobu v schválenom zariadení na likvidáciu odpadov. P260 – Nevdychujte prach/dym/plyn/hmlu/pary/aerosóly. P280 – Noste ochranné rukavice/ochranné oblečenie/ochranné okuliare/ochranu tváre. P301 + P330 + P331 – PO POŽITÍ: vypláchnite ústa. NEVYVOLÁVAJTE zvracanie. P303 + P361 + P353 – PRI KONTAKTE S POKOŽKOU (alebo vlasmi): Vyzlečte všetky kontaminované časti odevu. Pokožku ihneď opláchnite vodou [alebo sprchou]. P304 + P340 – PO VDÝCHNUTÍ: Presuňte osobu na čerstvý vzduch a umožnite jej pohodlne dýchať. P305 + P351 + P338 – PO ZASIAHNUTÍ OČÍ: Niekoľko minút ich opatrne vyplachujte vodou. Ak používate kontaktné šošovky a ak je to možné, odstráňte ich. Pokračujte vo vyplachovaní. P321 – Odborné ošetrovanie (pozri doplnkové pokyny prvej pomoci na etikete). P363 – Kontaminovaný odev pred ďalším použitím vyperte. P405 – Uchovávať uzamknuté. P301 + P317 – PO POŽITÍ: Vyhľadajte lekársku pomoc. P316 – Okamžite vyhľadajte lekársku pomoc.
Informácie o nebezpečenstve platné v EÚ	
—	Amplifikačná reagencia <i>Magnesium Chloride 60 – 65 %</i> — H412 – Škodlivý pre vodné organizmy, s dlhodobými účinkami. P273 – Zabráňte uvoľneniu do životného prostredia. P501 – Zneškodnite obsah/nádobu v schválenom zariadení na likvidáciu odpadov.
—	Enzýmová reagencia <i>HEPES 1 – 5 %</i> <i>Triton X-100 1 – 5 %</i> — H412 – Škodlivý pre vodné organizmy, s dlhodobými účinkami. P273 – Zabráňte uvoľneniu do životného prostredia. P501 – Zneškodnite obsah/nádobu v schválenom zariadení na likvidáciu odpadov.
—	Rekonštitučný roztok na enzýmy <i>Glycerol 20 – 25 %</i> <i>Triton X-100 5 – 10 %</i> <i>HEPES 1 – 5 %</i> — H412 – Škodlivý pre vodné organizmy, s dlhodobými účinkami. P273 – Zabráňte uvoľneniu do životného prostredia. P501 – Zneškodnite obsah/nádobu v schválenom zariadení na likvidáciu odpadov.

—	Promotorová reagencia Magnesium Chloride 60 – 65 % H412 – Škodlivý pre vodné organizmy, s dlhodobými účinkami. P273 – Zabráňte uvoľneniu do životného prostredia. P501 – Zneškodnite obsah/nádobu v schválenom zariadení na likvidáciu odpadov.
—	Reagencia na zachytenie cieľa HEPES 15 – 20% Lauryl Sulfate Lithium Salt 5-10% Succinic Acid 1-5% Lithium Hydroxide, Monohydrate 1-5% H412 – Škodlivý pre vodné organizmy, s dlhodobými účinkami. P273 – Zabráňte uvoľneniu do životného prostredia. P501 – Zneškodnite obsah/nádobu v schválenom zariadení na likvidáciu odpadov.
—	Súprava kalibrátorov HBV VL HEPES 15-20% Lauryl Sulfate Lithium Salt 5-10% Succinic Acid 1-5% Lithium Hydroxide, Monohydrate 1-5% H412 – Škodlivý pre vodné organizmy, s dlhodobými účinkami. P273 – Zabráňte uvoľneniu do životného prostredia. P501 – Zneškodnite obsah/nádobu vo schválenom zariadení na likvidáciu odpadov.
  	Súprava kontrol HBV VL Ľudské sérum/Ľudská plazma 95 – 100 % Azid sodný <1 % NEBEZPEČENSTVO H300 – Smrteľný po požití. H410 – Veľmi toxický pre vodné organizmy, s dlhodobými účinkami. P264 – Po manipulácii starostlivo umyte tvár, ruky a exponovanú pokožku. P273 – Zabráňte uvoľneniu do životného prostredia. P301 + P310 – PO POŽITÍ: Okamžite volajte NÁRODNÉ TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÉ CENTRUM alebo lekára. P321 – Odborné ošetrenie (pozri dodatočné pokyny k prvej pomoci na etikete). P330 – Vypláchnite ústa. P391 – Zozbierajte uniknutý produkt.
 	Cieľová posilňovacia reagencia Lithium Hydroxide, Monohydrate 5 – 10 % NEBEZPEČENSTVO H302 – Škodlivý po požití. H314 – Spôsobuje vážne poleptanie kože a poškodenie očí. P264 – Po manipulácii starostlivo umyte tvár, ruky a akúkoľvek odhalenú pokožku. P270 – Pri používaní výrobku nejedzte, nepite ani nefajčite. P330 – Vypláchnite ústa. P501 – Zneškodnite obsah/nádobu prostredníctvom schváleného závodu na likvidáciu odpadov. P260 – Nevdychujte prach/dym/plyn/hmlu/pary/aerosóly. P280 – Noste ochranné rukavice/ochranný odev/ochranné okuliare/ochranu tváre. P301 + P330 + P331 – PO POŽITÍ: Vypláchnite ústa. Nevyvolávajte vracanie. P303 + P361 + P353 – PRI KONTAKTE S POKOŽKOU (alebo vlasmi): Ihneď odstráňte/vyzlečte všetky kontaminované časti odevu. Pokožku ihneď opláchnite vodou [alebo sprchou]. P304 + P340 – PO VDÝCHNUTÍ: Presuňte osobu na čerstvý vzduch a umožnite jej pohodlne dýchať. P305 + P351 + P338 – PO ZASIAHNUTÍ OČÍ: Opatrne niekoľko minút oplachujte vodou. Ak používate kontaktné šošovky a ak je to možné, odstráňte ich. Pokračujte vo vyplachovaní. P310 – Okamžite volajte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÉ CENTRUM alebo lekára. P321 – Odborné ošetrenie (pozri doplnkové pokyny prvej pomoci na etikete). P363 – Kontaminovaný odev pred ďalším použitím vyperte. P405 – Uchovávať uzamknuté.

Požiadavky na skladovanie a manipuláciu s reagensiami

- A. Nasledujúca tabuľka uvádza podmienky skladovania a stability pre reagensie, kontroly a kalibrátor.

Reagensia	Uskladnenie neotvorených balení	Otvorená súprava (rekonštituovaná)	
		Skladovanie	Stabilita
Amplifikačná reagensia qHBV	2 °C až 8 °C		
Rekonštitučný roztok na amplifikáciu qHBV	2 °C až 8 °C	2 °C až 8 °C	30 dní ^a
Enzymová reagensia qHBV	2 °C až 8 °C		
Rekonštitučný roztok na enzýmy qHBV	2 °C až 8 °C	2 °C až 8 °C	30 dní ^a
Promotorová reagensia qHBV	2 °C až 8 °C		
Rekonštitučný roztok promotora qHBV	2 °C až 8 °C	2 °C až 8 °C	30 dní ^a
Reagensia na záchyt cieľa qHBV	2 °C až 8 °C	2 °C až 8 °C	30 dní ^a
qHBV PCAL (pozitívny kalibrátor)	-15 °C až -35 °C	15 °C až 30 °C	Jednorazová ampulka Použiť do 24 hodín
qHBV NC CONTROL – (negatívna kontrola)	-15 °C až -35 °C	15 °C až 30 °C	Jednorazová ampulka Použiť do 24 hodín
qHBV LPC CONTROL + (nízko pozitívna kontrola)	-15 °C až -35 °C	15 °C až 30 °C	Jednorazová ampulka Použiť do 24 hodín
qHBV HPC CONTROL + (vysoko pozitívna kontrola)	-15 °C až -35 °C	15 °C až 30 °C	Jednorazová ampulka Použiť do 24 hodín
Cieľová posilňovacia reagensia qHBV	15 °C až 30 °C	15 °C až 30 °C	30 dní ^a

^a Po odstránení zo systému Panther je nutné reagensie ihneď vrátiť do príslušných skladovacích teplôt.

- B. Nepoužité rekonštitučné reagensie, reagensiu na záchyt cieľa (TCR) a cieľovú posilňovaciu reagensiu (TER) zlikvidujte po 30 dňoch alebo po dátume exspirácie šarže matrice, podľa toho, čo nastane skôr.
- C. Reagensie uchovávané v systéme Panther majú stabilitu v prístroji 72 hodín. Reagensie je možné vložiť do systému Panther až 8-krát. Systém Panther zapisuje každé vloženie reagensí do protokolov.
- D. Po rozmrazení kalibrátora musí byť roztok priehľadný, tzn. nie zakalený a bez precipitátov. Zaistite rozpustenie precipitátov. Ak je prítomné želírovanie, zrazenina alebo zahmlenie, kalibrátor nepoužívajte.
- E. Promotorová reagensia a rekonštituovaná promotorová reagensia sú fotosenzitívne. Počas uskladnenia a prípravy na použitie chráňte tieto reagensie pred svetlom.
- F. Cieľová posilňovacia reagensia qHBV musí mať pred použitím teplotu 15 °C až 30 °C.

Odber vzoriek a skladovanie

Poznámka: So všetkými preparátmi zaobchádzajte tak, ako keby obsahovali potenciálne infekčné činitele. Používajte všeobecné bezpečnostné opatrenia.

Poznámka: Pri manipulácii so vzorkami je nutné predísť krížovej kontaminácii. Napríklad použitý materiál zlikvidujte bez toho, aby ste prechádzali ponad otvorené skúmavky.

Poznámka: Na skladovanie odporúčame iba plastové sekundárne skúmavky.

Je možné použiť vzorky plnej krvi odobrané do nasledujúcich sklenených alebo plastových skúmaviek:

- Skúmavky obsahujúce kyselinu etyléndiamintetraoctovú (EDTA) alebo angikoagulačný roztok citrátovanej dextrózy (ACD)
- Skúmavky na prípravu plazmy
- Sérové skúmavky
- Skúmavky na separáciu séra

V prípade séra nechajte pred ďalším spracovaním vytvoriť zrazeninu.

A. Odber preparátov

Plnú krv je možné skladovať pri teplote 2 °C až 30 °C najviac 24 hodín a plazma sa musí pred spracovaním oddeliť centrifugáciou v primárnej skúmavke. Plazmu alebo sérum od erytrocytov separujte podľa pokynov výrobcu použitej skúmavky. Plazmu alebo sérum je možné otestovať v systéme Panther v primárnej skúmavke alebo preniesť do sekundárnej skúmavky, ako napr. skúmavka na alikvotáciu vzoriek Aptima®. Minimálny objem plazmy alebo séra v primárnych odberových skúmavkách je až 1 200 µl a v sekundárnych skúmavkách je minimálny objem 700 µl, aby ste získali reakčný objem 500 µl. Nasledujúca tabuľka identifikuje požiadavky na mŕtvy objem pre každý typ primárnej a sekundárnej skúmavky.

Skúmavka (veľkosť a typ)	Mŕtvy objem na systéme Panther
Alikvotačná skúmavka na vzorky Aptima (SAT)	0,2 ml
12 × 75 mm	0,5 ml
13 × 100 mm	0,5 ml
13 × 100 mm s gélom	0,3 ml
16 × 100 mm s gélom	0,7 ml

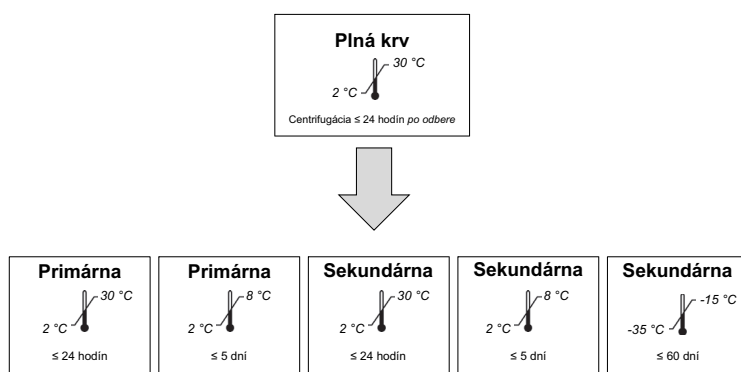
Ak nevykonáte testovanie ihneď, plazmu a sérum je možné skladovať v súlade so špecifikáciami nižšie. Pri prenose do SAT alebo sekundárnej skúmavky je možné plazmu alebo sérum zmraziť na teplotu –20 °C. Neprekračujte 3 cykly zmrazenia-rozmrazenia. Nezmrazujte vzorky v EDTA, ACD ani sérových primárnych odberových skúmavkách.

B. Podmienky skladovania vzoriek

1. Vzorky plazmy s EDTA a ACD

Plnú krv je možné skladovať pri teplote 2 °C až 30 °C a je nutné ju centrifugovať do 24 hodín od odberu vzoriek. Plazmu je možné následne uchovávať v jednom z nasledujúcich prostredí:

- V primárnej odberovej skúmavke alebo sekundárnej skúmavke pri teplote 2 °C až 30 °C až 24 hodín,
- v primárnej odberovej skúmavke alebo sekundárnej skúmavke pri teplote 2 °C až 8 °C až 5 dní alebo
- V sekundárnej skúmavke pri teplote –20 °C až 60 dní.

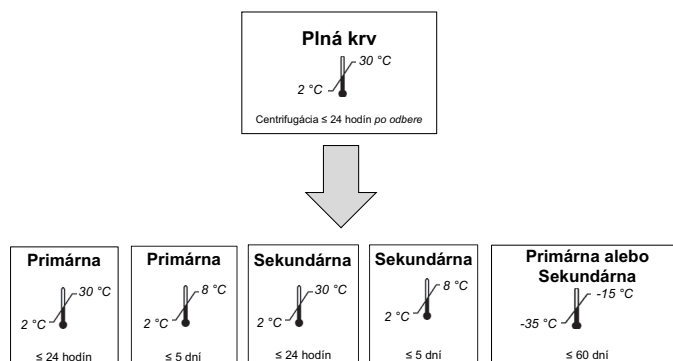


Obrázok 1. Podmienky skladovania pre skúmavky s EDTA/ACD

2. Vzorky PPT

Plnú krv je možné skladovať pri teplote 2 °C až 30 °C a je nutné ju centrifugovať do 24 hodín od odberu vzoriek. Plazmu je možné následne uchovávať v jednom z nasledujúcich prostredí:

- V skúmavke s PPT alebo sekundárnej skúmavke pri teplote 2 °C až 30 °C až 24 hodín,
- v skúmavke s PPT alebo sekundárnej skúmavke pri teplote 2 °C až 8 °C až 5 dní alebo
- v skúmavke s PPT alebo sekundárnej skúmavke pri teplote –20 °C až 60 dní.

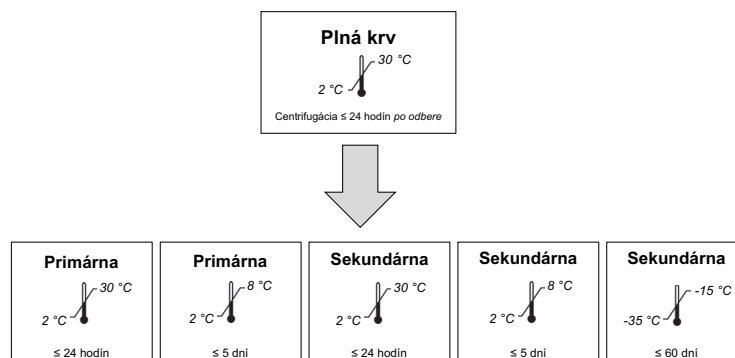


Obrázok 2. Podmienky skladovania vzoriek PPT

3. Vzorky v sérových skúmavkách

Plnú krv je možné skladovať pri teplote 2 °C až 30 °C a je nutné ju centrifugovať do 24 hodín od odberu vzoriek. Sérum je možné následne uchovávať v jednom z nasledujúcich prostredí:

- V sérovej skúmavke alebo sekundárnej skúmavke pri teplote 2 °C až 30 °C až 24 hodín,
- v sérovej skúmavke alebo sekundárnej skúmavke pri teplote 2 °C až 8 °C až 5 dní alebo
- V sekundárnej skúmavke pri teplote –20 °C až 60 dní.

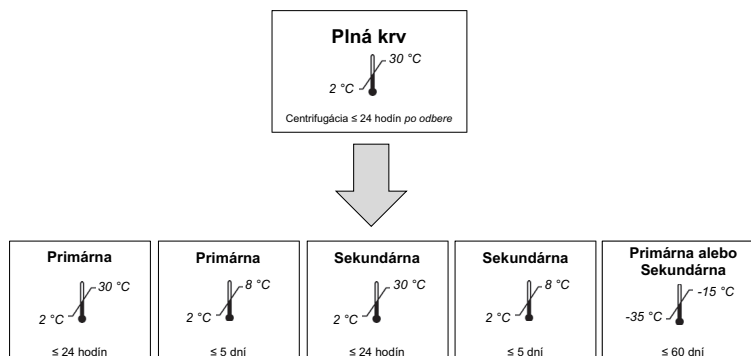


Obrázok 3. Podmienky skladovania sérových skúmaviek

4. Vzorky SST

Plnú krv je možné skladovať pri teplote 2 °C až 30 °C a je nutné ju centrifugovať do 24 hodín od odberu vzoriek. Sérum je možné následne uchovávať v jednom z nasledujúcich prostredí:

- V skúmavke so SST alebo sekundárnej skúmavke pri teplote 2 °C až 30 °C až 24 hodín,
- v skúmavke s SST alebo sekundárnej skúmavke pri teplote 2 °C až 8 °C až 5 dní alebo
- v skúmavke so SST alebo sekundárnej skúmavke pri teplote –20 °C až 60 dní.



Obrázok 4. Podmienky skladovania pre SST

C. Dlhodobé skladovanie v zmrazenom stave

Vzorky plazmy alebo séra je možné skladovať pri teplote –70 °C až 60 dní v SAT.

D. Riedenie vzoriek plazmy a séra

Vzorky plazmy a séra je možné riediť v SAT alebo sekundárnej skúmavke na testovanie na systéme Panther. Viac informácií nájdete v časti *Postup testovania v systéme Panther*, krok E.5.

Poznámka: Ak je vzorka nariedená, je nutné test vykonať ihneď po riedení. Nezmrazujte nariedené vzorky.

Vzorky v systéme Panther

Vzorky je možné ponechať v systéme Panther neuzatvorené až 8 hodín. Vzorky je možné vytiahnuť zo systému Panther a otestovať, kým celková doba v prístroji neprekročí 8 hodín pred pipetovaním vzorky systémom Panther.

Preprava preparátov

Dodržiavajte podmienky pre skladovanie vzorky podľa popisu v časti *Odber vzoriek a skladovanie*.

Poznámka: Preparáty sa musia prepravovať v súlade s platnými národnými, medzinárodnými a regionálnymi usmerneniami týkajúcimi sa prepravy.

Systém Panther

Reagencie pre test Aptima HBV Quant sú uvedené pod systémom Panther. Identifikačné symboly reagensov sú uvedené aj vedľa názvu reagensov.

Poskytnuté reagencie a materiály

Súprava testu Aptima HBV Quant, 100 testov (kat. č. PRD-03424)
(1 škatuľa testu, 1 súprava kalibrátora, 1 súprava kontrol a 1 krabica cieľovej posilňovacej reagensie)

Ďalšie kalibrátory a kontroly je možné objednať samostatne. Nižšie nájdete katalógové číslo jednotlivých boxov.

Škatuľa testu Aptima HBV Quant

(po prijatí uchovávať pri teplote 2 °C až 8 °C)

Symbol	Komponent	Množstvo
A	Amplifikačná reagensia qHBV <i>Neinfekčné nukleové kyseliny sušené v pufrovanom roztoku.</i>	1 liekovka
E	Enzýmová reagensia qHBV <i>Reverzná transkriptáza a RNA polymeráza sušené v HEPES pufrovanom roztoku.</i>	1 liekovka
PRO	Promotorová reagensia qHBV <i>Neinfekčné nukleové kyseliny sušené v pufrovanom roztoku.</i>	1 liekovka
AR	Rekonštitučný roztok na amplifikáciu qHBV <i>Vodný roztok obsahujúci glycerol a konzervačné látky.</i>	1 × 7,2 ml
ER	Rekonštitučný roztok na enzýmy qHBV <i>Pufrovaný roztok HEPES obsahuje povrchovo aktívnu látku a glycerol.</i>	1 × 5,8 ml
PROR	Rekonštitučný roztok promótora qHBV <i>Vodný roztok obsahujúci glycerol a konzervačné látky.</i>	1 × 4,5 ml
TCR	Reagensia na záchyt cieľa qHBV <i>Nukleové kyseliny v pufrovanom fyziologickom roztoku obsahujúcom pevnú fázu, neinfekčné nukleové kyseliny a interný kalibrátor.</i>	1 × 72,0 ml
	Rekonštitučné objímky	3
	List čiarových kódov hlavnej šarže	1 list

Súprava kalibrátora Aptima HBV Quant (kat. č. PRD-03425)

(po prijatí uchovávať pri teplote -15 °C až -35 °C)

Symbol	Komponent	Množstvo
PCAL	Pozitívny kalibrátor qHBV <i>Plazmidová DNA v pufrovanom roztoku.</i>	5 × 2,5 ml
	Štítok s čiarovým kódom kalibrátora	–

Súprava kontrol Aptima HBV Quant (kat. č. PRD-03426)
(po prijatí uchovávať pri teplote -15 °C až -35 °C)

Symbol	Komponent	Množstvo
NC	Negatívna kontrola qHBV <i>HBV negatívna defibrinovaná ľudská plazma obsahujúca gentamicín a 0,2 % azid sodný ako konzervanty.</i>	5 × 0,8 ml
LPC	Nízka pozitívna kontrola qHBV <i>Inaktivovaná HBV pozitívna plazma v defibrinovanej ľudskej plazme obsahujúcej gentamicín a 0,2 % azid sodný ako konzervanty.</i>	5 × 0,8 ml
HPC	Vysoká pozitívna kontrola qHBV <i>Inaktivovaná HBV pozitívna plazma v defibrinovanej ľudskej plazme obsahujúcej gentamicín a 0,2 % azid sodný ako konzervanty.</i>	5 × 0,8 ml
	Štítok s čiarovým kódom kontroly	–

Škatuľa cieľovej posilňovacej reagentie Aptima HBV Quant
(po prijatí uchovávať pri teplote 15 °C až 30 °C)

Symbol	Komponent	Množstvo
TER	Cieľová posilňovacia reagentia qHBV <i>Konzentrovaný roztok hydroxidu lítneho.</i>	1 × 46,0 ml

Potrebné materiály predávané samostatne

Poznámka: Materiály dostupné od spoločnosti Hologic majú uvedené katalógové čísla, pokiaľ nie je uvedené inak.

Materiál	Kat. č.
Systém Panther™	303095
Systém Panther Fusion™	PRD-04172
Kontinuálna kvapalina a odpad systému Panther™ (Panther Plus)	PRD-06067
Súprava kalibrátora Aptima® HBV Quant	PRD-03425
Súprava kontrol Aptima® HBV Quant	PRD-03426
Súprava chodu Panther pre testy v reálnom čase (iba pre testy v reálnom čase)	PRD-03455 (5 000 testov)
Súprava kvapalín testu Aptima® (takisto označovaná ako súprava univerzálnych kvapalín) <i>obsahuje premývací roztok Aptima®, pufer na deaktiváciu kvapaliny Aptima® a olejovú reagentiu Aptima®</i>	303014 (1 000 testov)
<i>Viacskúmavkové jednotky (MTU)</i>	104772-02
<i>Súprava odpadových vriec Panther™</i>	902731
<i>Kryt odpadkového koša Panther™</i>	504405
Alebo súprava cyklu systému Panther™ <i>(pri spracovaní testov TMA nevykonávaných v reálnom čase paralelne s testami TMA v reálnom čase)</i> <i>obsahuje MTU, odpadové vrecia, kryty odpadkového koša, kvapaliny na automatickú detekciu a testové kvapaliny</i>	303096 (5 000 testov)

Materiál**Kat. č.**

Špičky, vodivosť 1 000 µl, vnímanie kvapaliny

901121 (10612513 Tecan)

903031 (10612513 Tecan)

Nie všetky produkty sú dostupné vo všetkých oblastiach. Informácie špecifické pre danú oblasť vám poskytne váš zástupca.

MME-04134 (30180117 Tecan)

MME-04128

Bielidlo, 5 % až 8,25 % (0,7 M až 1,16 M) roztok chlórnanu sodného

–

Jednorazové rukavice bez púdra

–

Náhradné nepreniknuteľné uzávery

103036A

Náhradné uzávery na reagenty

Fľaše na rekonštitučný roztok pre amplifikačnú, enzýmovú a promotorovú reagentiu

CL0041 (100 uzáverov)

Fľaša TCR

CL0040 (100 uzáverov)

Fľaša TER

501604 (100 uzáverov)

Plastové kryty na laboratórne stoly

–

Utierky neuvolňujúce vlákna

–

Pipetovač

–

Špičky

–

Možnosti pre primárne odberové skúmavky:

13 mm × 100 mm

–

13 mm × 75 mm

–

16 mm × 100 mm

–

Centrifúga

–

Vortexové miešadlo

–

Voliteľné materiály**Materiál****Kat. č.**

Možnosti pre sekundárnu skúmavku:

12 mm × 75 mm

–

13 mm × 100 mm

–

16 mm × 100 mm

–

Skúmavky na alikvotné preparáty Aptima® (SAT) (balenie 100 ks)

FAB-18184

Uzáver prepravnej skúmavky (balenie 100 ks)

504415

uzáver pre SAT

Prípravok na riedenie preparátu Aptima®

PRD-03003

Súprava prípravku na riedenie preparátu Aptima®

PRD-03478

obsahuje riediaci prípravok na vzorky, 100 SAT a 100 uzáverov

Transferové pipety

–

Vatové tyčinky

–

Trepačka skúmaviek

PRD-03488

Postup testovania v systéme Panther

Poznámka: Ďalšie informácie o postupoch nájdete v prevádzkovej príručke systému Panther/Panther Fusion.

A. Príprava pracovnej oblasti

1. Vyčistite pracovné povrchy, kde sa budú pripravovať reagenty. Pracovné plochy utrite 2,5 % až 3,5 % (0,35 M až 0,5 M) roztokom chlórnanu sodného. Roztok chlórnanu sodného nechajte minimálne 1 minútu v kontakte s povrchmi a potom opláchnite deionizovanou (DI) vodou. Nedovoľte, aby roztok chlórnanu sodného vyschol. Zakryte povrch pracovného stola čistými absorpčnými krytmi na laboratórny stôl podlepenými plastom.
2. Vyčistite samostatný pracovný povrch, kde budete pripravovať vzorky. Postupujte podľa pokynov vyššie (krok A.1).
3. Vyčistite prípadné pipetory. Pri čistení postupujte podľa pokynov vyššie (krok A.1).

B. Príprava kalibrátora a kontrol

Pred spracovaním ponechajte kalibrátor a kontroly dosiahnuť teplotu 15 °C až 30 °C:

1. Vytiahnite kalibrátor a kontroly zo skladovacieho priestoru (-15 °C až -35 °C) a uložte ich do prostredia s teplotou 15 °C až 30 °C. Po celú dobu rozmrazovania jemne prevráťte každú skúmavku a starostlivo premiešajte. Pred použitím sa uistite, že je obsah skúmavky plne rozmrazený.

Možnosť. Skúmavky kalibrátora a kontrol je možné vložiť do trepačky a nechať tak dobre premiešať. Pred použitím sa uistite, že je obsah skúmavky plne rozmrazený.

Poznámka: Pri prevracaní kalibrátora a kontrol nevytvárajte nadmernú penu. Pena interferuje so snímaním hladiny v systéme Panther.

2. Po rozmrazení obsahu skúmavky vysušte vnútro skúmavky čistou suchou jednorazovou utierkou.
3. Zatiaľ skúmavky neotvárajte, aby nedošlo ku kontaminácii.

C. Rekonštitúcia/príprava reagentov novej súpravy

Poznámka: Rekonštitúciu reagentov je nutné vykonať pred zahájením akýchkoľvek postupov na systéme Panther.

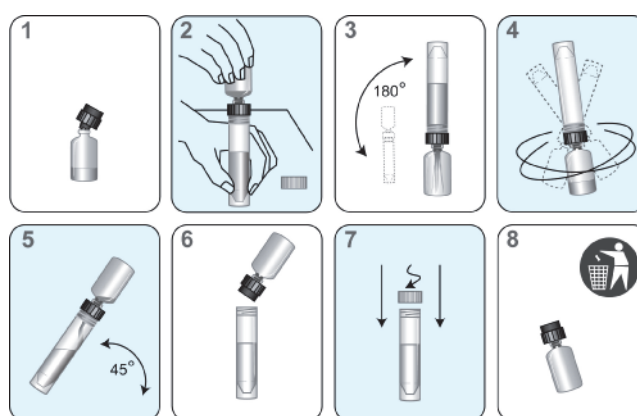
1. Pri príprave TCR postupujte nasledovne:
 - a. Vytiahnite TCR zo skladovacieho priestoru (2 °C až 8 °C). Skontrolujte číslo šarže na fľaši s TCR, aby ste zaistili, že sa zhoduje s číslom šarže na liste čiarových kódov hlavnej šarže.
 - b. Fľaštičku s TCR ihneď starostlivo 10-krát premiešajte. Ponechajte fľaštičku TCR v prostredí s teplotou 15 °C až 30 °C minimálne 45 minút, aby sa zahriala. Po toto obdobie miešajte fľaštičku TCR vírením a prevracaním minimálne raz za 10 minút.

Možnosť. Fľaštičku TCR je možné pripraviť na trepačke nasledujúcim postupom: Vytiahnite fľaštičku TCR zo skladovacieho prostredia (2 °C až 8 °C) a ihneď starostlivo 10-krát pretrepte. Vložte TCR fľaštičku na trepačku a ponechajte TCR pri teplote 15 °C až 30 °C zahriať minimálne 45 minút.
 - c. Pred použitím sa uistite, že sa všetok precipitát dostal do roztoku a že sú magnetické častičky suspendované.
2. Pri rekonštitúcii amplifikačných, enzýmových a promotorových postupujte nasledujúcim spôsobom:
 - a. Vytiahnite lyofilizované reagenty a príslušné rekonštitučné roztoky zo skladovacieho priestoru (2 °C až 8 °C). Každý rekonštitučný roztok spárujte s príslušnou lyofilizovanou reagentou.

- b. Skontrolujte, že rekonštitučný roztok a lyofilizovaná reagentia majú zodpovedajúce farby štítkov. Skontrolujte čísla šarží na liste čiarových kódov hlavnej šarže, aby ste sa uistili, že sú spárované príslušné reagentie.
- Otvorte ampulku lyofilizovanej reagentie odstránením kovovej pečate a gumovej zátky.
 - Pevne pripojte koniec rekonštitučnej objímky so zárezom (čierny) na ampulku (Obrázok 5, krok 1).
 - Otvorte príslušnú fľaštičku s rekonštitučným roztokom a nasadte uzáver na čistom, zakrytom pracovnom povrchu.
 - Uložte fľaštičku s rekonštitučným roztokom na stabilný povrch (tzn. stôl). Následne prevráťte ampulku s lyofilizovanou reagentiou cez fľaštičku s rekonštitučným roztokom a pevne pripojte objímku k fľaštičke s rekonštitučným roztokom (Obrázok 5, krok 2).
 - Pomaly prevráťte prepojené fľaštičky (ampulka pripojená k fľaštičke s roztokom), aby roztok vtekol do sklenenej ampulky (Obrázok 5, krok 3).
 - Zdvihnite prepojené fľaštičky a vírte nimi aspoň 10 sekúnd (Obrázok 5, krok 4).
 - Počkajte minimálne 30 sekúnd, než sa lyofilizovaná reagentia dostane do roztoku.
 - Po vstupe lyofilizovanej reagentie do roztoku vírte prepojenými fľaštičkami minimálne 10 sekúnd. Potom ľahkým nakláňaním sklenenej ampulky dopredu a dozadu dobre premiešajte roztok.
- c. Pomaly znovu nakloňte prepojené fľaštičky, aby všetok roztok stiekol späť do fľaštičky s rekonštitučným roztokom (Obrázok 5, krok 5).
- d. Opatrne odstráňte rekonštitučnú objímku a sklenenú ampulku (Obrázok 5, krok 6).
- e. Znovu uzatvorte fľaštičku. Na štítku zaznamenajte údaje operátora a dátum rekonštitúcie (Obrázok 5, krok 7).
- f. Rekonštitučnú objímku a sklenenú ampulku zlikvidujte (Obrázok 5, krok 8).

Varovanie: Pri rekonštitúcii reagentií zabráňte nadmernému peneniu.

Pena interferuje so snímaním hladiny v systéme Panther.



Obrázok 5. Proces rekonštitúcie reagentie

3. Vytiahnite cieľovú posilňovaciu reagentiu qHBV zo skladovacieho priestoru (15 °C až 30 °C). Na štítku zaznamenajte iniciály operátora a dátum otvorenia. Skontrolujte číslo šarže na fľaštičke s TER, aby ste zaistili, že sa zhoduje s číslom šarže na hlavnom liste s čiarovými kódmi šarží.

D. Príprava reagensíí pre predtým pripravené reagensie

1. Vytiahnite predtým pripravené reagensie zo skladovacieho priestoru (2 °C až 8 °C). Predtým pripravené amplifikačné, enzýmové a promotorové reagensie a TCR musia pred začiatkom testu dosiahnuť teplotu 15 °C až 30 °C.
2. Vytiahnite TER zo skladovacieho priestoru (15 °C až 30 °C).
3. V prípade predtým pripraveného TCR postupujte pred vložením do systému podľa kroku C.1.
4. Vírením a prevrátením amplifikačnej, enzýmovej a promotorovej reagensie starostlivo premiešajte pred vložením do systému. Pri prevracaní reagensíí zabráňte nadmernému peneniu.

Možnosť: Predtým pripravené reagensie sa môžu pripraviť na trepačke skúmaviek podľa tohto návodu: Vyberte reagensie z chladničky (2 °C až 8 °C). Položte reagensie na trepačku a nechajte ich zohriať na teplotu 15 °C až 30 °C na minimálne 30 minút.

5. Fľašky reagensíí nedopĺňajte. Systém Panther rozpozná a odmietne fľaše, ktoré boli doplnené.

E. Manipulácia s preparátmi

1. Skontrolujte, že spracované vzorky v primárnych skúmavkách alebo neriedené vzorky plazmy v sekundárnych skúmavkách boli adekvátne uskladnené podľa *Odber preparátov*.
2. Uistite sa, že sú zmrazené vzorky adekvátne rozmrazené. Miešajte rozmrazené vzorky vírením 3 až 5 sekúnd, aby sa dobre premiešali.
3. Pred spracovaním ponechajte vzorky dosiahnuť teplotu 15 °C až 30 °C. Ďalšie informácie o položkách v prístroji nájdete v časti *Vzorky v systéme Panther*.
4. Uistite sa, že každá primárna odberová skúmavka obsahuje až 1 200 µl vzorky alebo každá SAT obsahuje minimálne 700 µl vzorky. Tabuľka v časti *Odber preparátov* identifikuje požiadavky na mŕtvy objem pre každý typ primárnej a sekundárnej skúmavky. Ak je nutné riedenie vzorky, preštudujte si ďalšie informácie v kroku E.5 nižšie.
5. Nariedte vzorku plazmy alebo séra v pomere 1 : 3 v SAT alebo 1 : 100 v sekundárnej skúmavke.

Vzorky je možné riediť v sekundárnej skúmavke na testovanie v systéme Panther.

Poznámka: Ak je vzorka nariedená, je nutné test vykonať ihneď po riedení.

a. Riedenie nízkoobjemových vzoriek

Objem vzoriek je možné zvýšiť na minimálny požadovaný objem (700 µl) pomocou riediaceho prípravku na vzorky Aptima. Vzorky s minimálnym objemom 240 µl je možné nariediť dvomi dielmi prípravku na riedenie vzoriek (1 : 3) nasledovne:

- i. Vložte 240 µl vzorky do SAT.
- ii. Pridajte 480 µl prípravku na riedenie vzoriek Aptima.
- iii. Uzatvorte skúmavku.
- iv. Premiešajte 5-násobným jemným prevrátením.

Vzorky nariedené v pomere 1 : 3 je možné testovať pomocou možnosti 1 : 3 na systéme Panther (ďalšie informácie nájdete v *prevádzkovej príručke systému Panther/Panther Fusion*). Softvér automaticky nahlásí čistý výsledok po korekcii faktorom riedenia. Tieto vzorky budú označené ako nariedené vzorky.

b. Riedenie vzoriek s vysokým titrom

Ak je výsledok vzorky nad horným limitom kvantifikácie (ULoQ), je možné nariediť ho 99 dielmi riediaceho prípravku na vzorky Aptima (1 : 100) nasledovne:

- i. Vložte 30 µl vzorky do SAT alebo sekundárnej skúmavky.
- ii. Pridajte 2 970 µl prípravku na riedenie vzoriek Aptima.
- iii. Uzatvorte skúmavku.
- iv. Premiešajte 5-násobným jemným prevrátením.

Vzorky nariedené v pomere 1 : 100 je možné testovať pomocou možnosti 1 : 100 v systéme Panther (ďalšie informácie nájdete v *prevádzkovej príručke systému Panther/Panther Fusion*). Softvér automaticky nahlási čistý výsledok po korekcii faktorom riedenia. Tieto vzorky budú označené ako nariedené vzorky.

Poznámka: V prípade riedených vzoriek s čistou koncentráciou vyššou než ULoQ budú výsledky hlásené vo vedeckom formáte.

6. Pred vložením vzoriek do stojana na vzorky centrifugujte každú vzorku pri 1 000 až 3 000 g 10 minút. Neodstraňujte uzávery. Bublíny v skúmavke môžu zhoršiť snímanie hladiny v systéme Panther. Informácie o plnení stojana a odstraňovaní uzáverov nájdete v časti *Príprava systému*, krok F.2 nižšie.

F. Príprava systému

1. Nastavte systém podľa pokynov uvedených v *prevádzkovej príručke systému Panther/Panther Fusion* a v časti *Poznámky k postupu*. Uistite sa, že sú použité reagenčné stojany s vhodnou veľkosťou a adaptéry TCR.
2. Vložte vzorky do stojana na vzorky. Vykonajte nasledujúce kroky pre každú skúmavku na vzorky (vzorka a v prípade potreby kalibrátor a kontroly):

- a. Uvoľnite uzáver jednej skúmavky na vzorky, ale neodstraňujte ho.

Poznámka: Zvláštnu pozornosť venujte prevencii šírenia kontaminácie formou aerosólu. Jemne uvoľnite uzávery na vzorkách.

- b. Vložte skúmavku na vzorky do stojana na vzorky.
- c. Zopakujte kroky 2.a a 2.b pre každú zostávajúcu vzorku.
- d. Po vložení vzoriek do stojana na vzorky vytiahnite a zlikvidujte každý uzáver skúmavky na vzorky v jednom stojane na vzorky. Aby ste predišli kontaminácii, nemanipulujte uzáverom nad žiadnymi inými stojanmi na vzorky ani skúmavkami na vzorky.
- e. V prípade potreby odstráňte prípadné bubliny alebo penu pomocou novej jednorazovej prenosovej pipety.
- f. Po odstránení posledného uzáveru vložte stojan na vzorky do rezervoára na vzorky.

Poznámka: Ak súčasne spracováвате ďalšie testy a typy vzoriek, zaistíte zachytávač vzoriek pred vložením stojana na vzorky do rezervoára na vzorky.

- g. Zopakujte kroky 2.a až 2.f pre ďalší stojan na vzorky.

Poznámky k postupu

A. Kalibrátor a kontroly

1. Skúmavky obsahujúce pozitívny kalibrátor qHBV, nízko pozitívnu kontrolu qHBV, vysoko pozitívnu kontrolu qHBV a negatívnu kontrolu qHBV je možné vložiť do akejkoľvek polohy v stojane na vzorky a do akejkoľvek dráhy rezervoára na vzorky v systéme Panther. Pipetovanie vzorky sa začne, keď je splnená jedna z nasledujúcich dvoch podmienok:
 - a. Kalibrátor a kontroly sú v súčasnosti spracovávané systémom.
 - b. Platné výsledky pre kalibrátor a kontroly sú zaregistrované v systéme.
2. Po pipetovaní skúmaviek s kalibrátorom a kontrolou a ich spracovaní pre súpravu reagensí na test Aptima HBV Quant je možné vzorky testovať pomocou spojenej rekonštitučnej súpravy až 24 hodín, **pokiaľ nenastane nasledujúce**:
 - a. Výsledky kalibrátora alebo kontroly sú neplatné.
 - b. Príslušná súprava reagensí na analýzu sa odstráni zo systému.
 - c. Súprava pridruženej reagensie na test prekročila limity stability.
3. Kalibrátor a každú skúmavku kontroly je možné použiť iba raz. Pokusy o opakované použitie skúmavky môžu viesť k chybám spracovania.

B. Púder z rukavíc

Tak ako v každom reagenčnom systéme, prebytočný púder na niektorých rukaviciach môže spôsobiť kontamináciu otvorených skúmaviek. Odporúčajú sa rukavice bez púdra.

Kontrola kvality

Obsluha môže v prípade zdokumentovaných problémov technického charakteru, s obsluhou alebo prístrojom pri vykonávaní testu zrušiť platnosť cyklu alebo výsledku vzorky. V takom prípade je nutné vzorky znovu otestovať.

Kalibrácia testu

Na získanie platných výsledkov je nutné ukončiť kalibráciu testu. Jeden pozitívny kalibrátor sa spracuje trikrát pri vložení každej súpravy reagensií do systému Panther. Po ukončení bude kalibrácia platná až 24 hodín. Softvér v systéme Panther upozorní operátora, keď bude nutné vykonať kalibráciu. Operátor naskenuje kalibračný koeficient uvedený na liste čiarových kódov hlavnej šarže dodávanom s každou súpravou reagensií.

V priebehu spracovania sú softvérom systému Panther automaticky overované kritériá pre prijateľnosť kalibrátora. Ak sú platné menej než dva replikáty kalibrátora, softvér chod automaticky vyhlási za neplatný. Vzorky v neplatnom cykle je nutné znovu otestovať pomocou čerstvo pripraveného kalibrátora a čerstvo pripravených kontrol.

Negatívne a pozitívne kontroly

Aby sa vygenerovali platné výsledky, musí sa otestovať súprava kontrol rozboru. Jedno opakovanie negatívnej kontroly, nízko pozitívnej kontroly a vysoko pozitívnej kontroly je nutné otestovať pri každom vložení súpravy reagensií do systému Panther. Po ukončení budú kontroly platné až 24 hodín. Softvér v systéme Panther upozorní operátora, keď bude nutné spracovať kontroly.

V priebehu spracovania sú softvérom systému Panther automaticky overované kritériá pre prijateľnosť kontrol. Aby boli výsledky platné, negatívna kontrola musí poskytnúť výsledok „Not Detected“ (Nedetegované) a pozitívne kontroly výsledky v rámci preddefinovaných parametrov (nominálny cieľ LPC: $2,7 \log_{10}$ IU/ml, nominálny cieľ HPC: $4,6 \log_{10}$ IU/ml). Ak majú akékoľvek kontroly neplatný výsledok, softvér automaticky zruší platnosť cyklu. Vzorky v neplatnom cykle je nutné znovu otestovať pomocou čerstvo pripraveného kalibrátora a čerstvo pripravených kontrol.

Interný kalibrátor/interná kontrola

Každá vzorka obsahuje interný kalibrátor/internú kontrolu (IC). V priebehu spracovania softvér systému Panther automaticky overí kritériá prijateľnosti IC. Ak je výsledok IC neplatný, výsledok vzorky bude takisto neplatný. Každú vzorku s neplatným výsledkom IC je nutné znovu otestovať, aby ste dostali platný výsledok.

Softvér systému Panther je navrhnutý na presnú verifikáciu procesov, keď sa vykonávajú postupy podľa pokynov poskytnutých v tomto príbalovom letáku a *prevádzkovej príručke systému Panther/Panther Fusion*.

Interpretácia výsledkov

Systém Panther automaticky stanoví koncentráciu HBV DNA pre vzorky a kontroly porovnaním výsledkov s kalibračnou krivkou. Koncentrácie HBV DNA sa uvádzajú v IU/ml a $\log_{10}$ IU/ml. Interpretáciu výsledkov uvádza Tabuľka 1. Ak je použitá možnosť riedenie, systém Panther automaticky vypočíta koncentráciu HBV DNA pre čistú vzorku vynásobením riedenej koncentrácie faktorom riedenia. Riedené vzorky budú označené ako riedené.

Poznámka: U riedených vzoriek sa môžu objaviť výsledky „Not Detected“ (Nedetegované) alebo „<10 detected“ (Detegované < 10) v dôsledku nariedenia vzorky na koncentráciu vyššiu, ale blízku LoD (limit detekcie) alebo LLoQ (spodný limit kvantifikácie). Ak ste nezískali kvantitatívny výsledok, odporúčame odobrať a otestovať inú čistú vzorku.

Tabuľka 1: Interpretácia výsledkov

Hlásený výsledok testu Aptima HBV Quant		Interpretácia
IU/ml	$\log_{10}$ IU/ml ^a	
Nedetegovaný	Nedetegovaný	HBV DNA nedetegovaná.
< 10 detegovaných	< 1,00	HBV DNA je detegovaná, ale na úrovni nižšej ako LLoQ.
10 až 1 000 000 000	1,00 až 9,00	Koncentrácia HBV DNA je v lineárnom rozsahu 10 až 1 000 000 000 IU/ml.
> 1 000 000 000	> 9,00	Koncentrácia HBV DNA je nad ULoQ.
Neplatný ^b	Neplatný ^b	Pri generovaní výsledku je uvedená chyba. Vzorku je nutné opätovne otestovať.

^a Hodnota je skrátená na dve desatinné hodnoty.

^b Neplatné výsledky sa zobrazia modrým písmom.

V prípade riedených vzoriek s čistou koncentráciou vyššou než ULoQ budú výsledky hlásené vo vedeckom formáte.

Kritériá prijateľnosti pre jednotlivé kontroly testu Aptima HBV Quant sú uvedené v Tabuľka 2 nižšie.

Poznámka: Rozsah zachytenia uvedený nižšie sa posúva na základe pridelenej hodnoty jednotlivých šarží. Pozrite si priradenú koncentráciu uvedenú na vloženom liste kontrolného čiarového kódu, ktorý sa poskytuje s každým kontrolným balením.

Tabuľka 2: Kritéria prijateľnosti pre rozsah výťažnosti pre kontroly testu Aptima HBV Quant

Komponent	Rozsah výťažnosti pre platné chody
Negatívna kontrolná vzorka	nevzťahuje sa
Nízko pozitívna kontrola	+/- 0,55 $\log_{10}$ IU/ml
Vysoko pozitívna kontrola	+/- 0,5 $\log_{10}$ IU/ml

Obmedzenia

- A. Použitie tohto testu sa obmedzuje na personál, ktorý je vyškolený v danom postupe. Nedodržanie pokynov uvedených v tomto príbalovom letáku môže viesť k chybným výsledkom.
- B. Spoľahlivé výsledky závisia od adekvátneho odberu preparátov, transportu, uchovávania a spracovania.

Analytický výkon

Limit detekcie podľa 3. medzinárodného štandardu WHO

Limit detekcie (LoD) testu je definovaný ako koncentrácia HBV DNA detegovaná s pravdepodobnosťou 95 % alebo vyššou podľa CLSI EP17-A2.¹¹

LoD bol stanovený testovaním panelov 3. medzinárodného štandardu WHO pre DNA vírusu hepatitídy B (NIBSC 10/264, genotyp A) s riedením v HBV negatívnej ľudskej EDTA plazme a sére. Testovalo sa minimálne 36 replikátov každého riedenia s každou z troch šarží reagensí, minimálne 108 replikátov na riedenie. Bola vykonaná probit analýza s cieľom získať predikované limity detekcie 95 %. Hodnoty LoD sú výsledkom pre šaržu reagensí s najvyšším predikovaným limitom detekcie. LoD testu Aptima HBV Quant podľa 3. medzinárodného štandardu WHO je 4,8 IU/ml pre plazmu a 5,9 IU/ml pre sérum.

Limit detekcie rôznych genotypov HBV

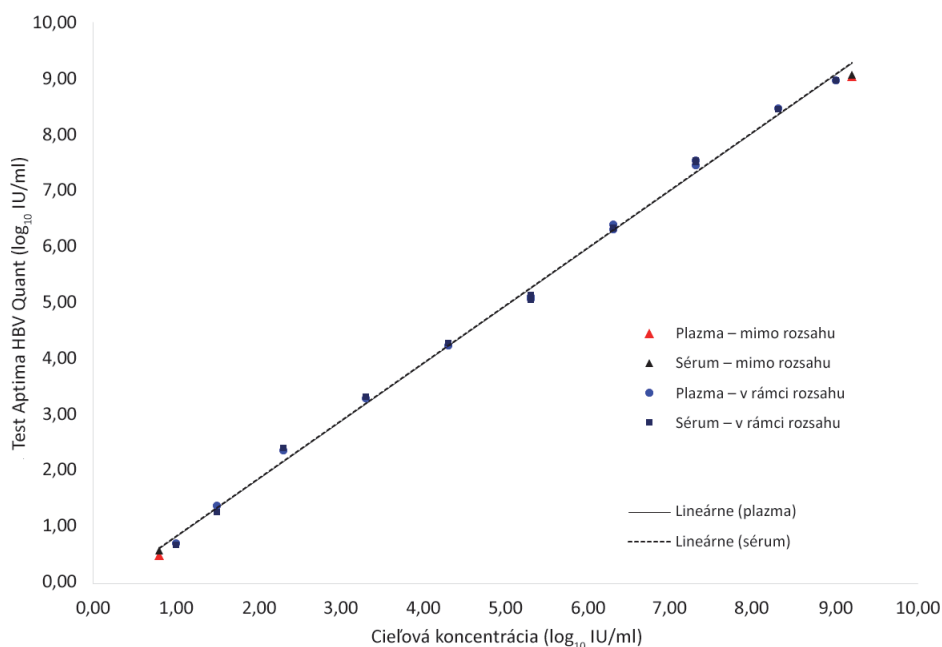
LoD bol stanovený testovaním riedení HBV pozitívnych klinických vzoriek genotypov A, B, C, D, E, F, G a H v HBV negatívnej ľudskej plazme a sére. Koncentrácie sa stanovili pomocou schváleného testu. Testovalo sa minimálne 24 replikátov každého člena panelu s každou z dvoch šarží reagensí, minimálne 48 replikátov na člen panelu. Bola vykonaná probit analýza s cieľom získať predikované limity detekcie 95 %. Hodnoty LoD uvedené v Tabuľka 3 sú výsledkom pre šaržu reagensí s najvyšším predikovaným limitom detekcie.

Tabuľka 3: Limit detekcie (predikovaný limit detekcie 95 %) rôznych genotypov HBV pri použití klinických vzoriek

Genotyp	Koncentrácia (IU/ml)	
	Plazma	Sérum
A	3,3	4,1
B	2,9	3,9
C	4,9	5,2
D	5,7	5,4
E	5,8	5,8
F	3,0	4,0
G	2,8	7,4
H	5,5	6,3

Lineárny rozsah

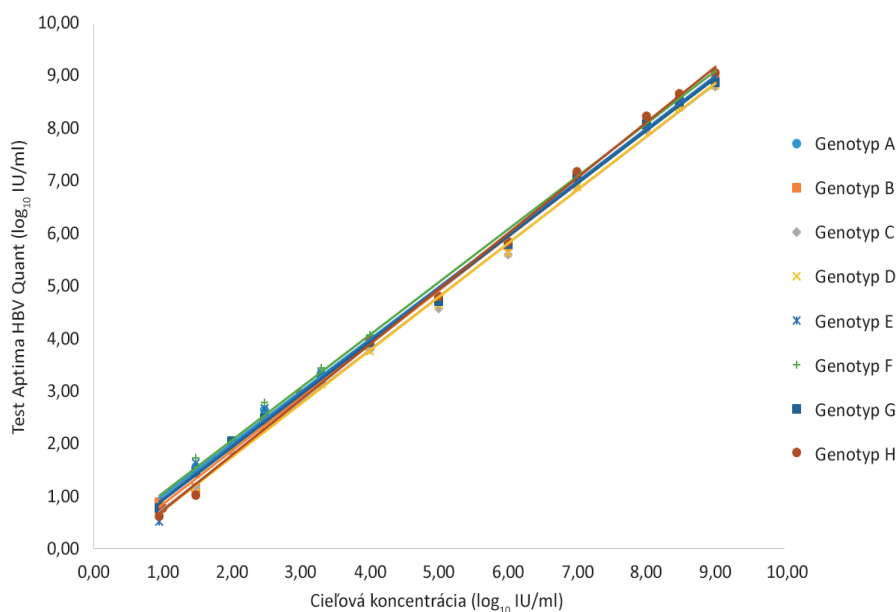
Lineárny rozsah bol stanovený testovaním panelov vírusu HBV genotypu A ($0,78 \log_{10}$ IU/ml až $7,30 \log_{10}$ IU/ml) a plazmidovej DNA ($5,30 \log_{10}$ IU/ml až $9,18 \log_{10}$ IU/ml) zriedených v HBV negatívnej ľudskej plazme a sére podľa CLSI EP06-A.¹² Test Aptima HBV Quant preukázal linearitu v celom testovanom rozsahu s hornou hranicou kvantifikácie (ULoQ) $9 \log_{10}$ IU/ml, ako je uvedené na Obrázok 6.



Obrázok 6. Linearita v plazme a sére

Linearita rôznych genotypov HBV

Linearita genotypov HBV sa stanovila testovaním jednotlivých klinických vzoriek pozitívnych na genotypy A, E, F, G a H a 1. referenčných panelov WHO PEI (PEI 5086/08) na genotypy B, C a D. Vírus sa použil na spodný rozsah testu ($4 \log_{10}$ IU/ml a menej pre genotypy A – G, $3 \log_{10}$ IU/ml a menej pre genotyp H). Plazmidová DNA sa použila pre horný rozsah s presahom $2 \log_{10}$. V prípade všetkých genotypov sa testovali riedenia v negatívnej ľudskej plazme. Linearita bola preukázaná v testovanom rozsahu pre všetky testované genotypy podľa Obrázok 7.



Obrázok 7. Lineárny rozsah a linearita (plazma)

Spodný limit kvantifikácie podľa 3. medzinárodného štandardu WHO

Spodný limit kvantifikácie je definovaný ako najnižšia koncentrácia, pri ktorej je HBV DNA spoľahlivo kvantifikovaná v rámci celkovej chyby podľa normy CLSI EP17-A2.¹¹ Celková chyba sa odhadla pomocou týchto dvoch metód:

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

Celková chyba testu Aptima HBV Quant bola nastavená na úroveň $1 \log_{10}$ IU/ml (tzn. pri LLoQ je rozdiel medzi dvomi meraniami vyšší než $1 \log_{10}$ IU/ml štatisticky významný) s cieľom zaistiť správnosť a presnosť meraní.

LLoQ bol stanovený testovaním panelov 3. medzinárodného štandardu WHO pre DNA vírusu hepatitídy B (NIBSC 10/264, genotyp A) s riedením v HBV negatívnej ľudskej plazme a sére. Testovalo sa štyridsaťpäť (45) replikátov každého riedenia s každou z troch šarží reagencií, minimálne 135 replikátov na riedenie. Výsledky troch šarží reagencií sú uvedené v Tabuľka 4 pre plazmu a Tabuľka 5 pre sérum. Výsledky najnižšej pozorovanej koncentrácie, ktorá splnila cieľ správnosti ($\text{TE} \leq 1 \log_{10}$ IU/ml a $\text{TE} \leq 1 \log_{10}$ IU/ml) s $> 95\%$ detekciou, a väčšej alebo rovnkej LoD sú v oboch tabuľkách sfarbené sivou a zhrnuté v Tabuľka 6.

Vypočítaný LLoQ pre 3. medzinárodný štandard WHO pre vírus hepatitídy B je 6 IU/ml ($0,79 \log_{10}$ IU/ml) pre plazmu a 8 IU/ml ($0,88 \log_{10}$ IU/ml) pre sérum, čo je založené na najvyššej vypočítanej koncentrácii spomedzi troch šarží reagentie podľa CLSI EP17-A2. LLoQ sa stanovil u rôznych genotypov (pozri *Spodný limit kvantifikácie rôznych genotypov HBV*). Tieto genotypové údaje stanovili celkový LLoQ pre test na úrovni 10 IU/ml.

Tabuľka 4: Stanovenie LLoQ podľa 3. medzinárodného štandardu WHO pre HBV nariedený v plazme

Šarža reagentie	Aptima HBV Quant (IU/ml)	Aptima HBV Quant ($\log_{10}$ IU/ml)	SD ($\log_{10}$ IU/ml)	Systémová chyba ($\log_{10}$ IU/ml)	Vypočítaná hodnota TE ($\log_{10}$ IU/ml)	Vypočítaná hodnota 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 = smerodajná odchýlka.

Členy panelu, ktoré splnili cieľ správnosti ($TE \leq 1$ a $TAE \leq 1$), > LoD a > 95 % detekciu pre šarže reagentie 1, 2 a 3 sú sfarbené sivou.

Tabuľka 5: Stanovenie LLoQ podľa 3. medzinárodného štandardu WHO pre HBV nariedený v sére

Šarža reagentie	Aptima HBV Quant (IU/ml)	Aptima HBV Quant ($\log_{10}$ IU/ml)	SD ($\log_{10}$ IU/ml)	Systémová chyba ($\log_{10}$ IU/ml)	Vypočítaná hodnota TE ($\log_{10}$ IU/ml)	Vypočítaná hodnota 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 = smerodajná odchýlka.

Členy panelu, ktoré splnili cieľ správnosti ($TE \leq 1$ a $TAE \leq 1$), > LoD a > 95% detekciu pre šarže reagentie 1, 2 a 3 sú sfarbené sivou.

Tabuľka 6: Súhrn vypočítaného LLoQ podľa 3. medzinárodného štandardu WHO pre HBV

Šarža reagentie	LLoQ plazmy		LLoQ séra	
	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

Spodný limit kvantifikácie rôznych genotypov HBV

LLOQ bol stanovený testovaním riedení HBV pozitívnych klinických vzoriek genotypov A, B, C, D, E, F, G a H v HBV negatívnej ľudskej plazme a sére. Priradenie koncentrácie ku klinickým vzorkám bolo stanovené pomocou komparátorového testu. Testovalo sa celkovo 36 replikátov každého člena panelu s každou z dvoch šarží reagensí, minimálne 72 replikátov na člen panelu. Výsledky pre najnižšiu pozorovanú koncentráciu spĺňajúcu cieľovú presnosť ($TE \leq 1 \log_{10} \text{ IU/ml}$ a $TAE \leq 1 \log_{10} \text{ IU/ml}$) s detekciou $> 95 \%$ pre každú šaržu činidla sú uvedené v Tabuľka 7 pre plazmu a Tabuľka 8 pre sérum. Najvyššiu pozorovanú koncentráciu u šarží reagensí pre jednotlivé genotypy zhŕňa Tabuľka 9. Genotyp D v sére mal najvyššiu hodnotu LLOQ pri 9 IU/ml ($0,96 \log_{10} \text{ IU/ml}$). Toto podporilo celkový LLOQ pre test na úrovni 10 IU/ml.

Tabuľka 7: Stanovenie LLOQ v prípade rôznych genotypov HBV v plazme

HBV genotyp	Šarža reagensie	Aptima HBV Quant ^a (IU/ml)	Aptima HBV Quant ^a ($\log_{10} \text{ IU/ml}$)	SD ($\log_{10} \text{ IU/ml}$)	Systémová chyba ($\log_{10} \text{ IU/ml}$)	Vypočítaná hodnota TE ($\log_{10} \text{ IU/ml}$)	Vypočítaná hodnota TAE ($\log_{10} \text{ IU/ml}$)
A	1	6	0,74	0,24	0,10	0,67	0,58
	2	7	0,85	0,20	0,00	0,57	0,40
B	1	4	0,65	0,24	0,20	0,67	0,67
	2	6	0,75	0,25	0,10	0,70	0,59
C	1	4	0,61	0,21	0,35	0,60	0,77
	2	6	0,75	0,30	0,20	0,84	0,80
D	1	7	0,87	0,28	0,31	0,81	0,88
	2	8	0,91	0,30	0,26	0,86	0,87
E	1	8	0,88	0,32	0,29	0,89	0,92
	2	7	0,82	0,21	0,36	0,60	0,78
F	1	6	0,76	0,27	0,08	0,76	0,62
	2	7	0,86	0,30	0,01	0,84	0,60
G	1	4	0,59	0,21	0,25	0,60	0,68
	2	4	0,65	0,23	0,19	0,64	0,64
H	1	6	0,78	0,28	0,39	0,80	0,96
	2	7	0,83	0,27	0,34	0,78	0,89

SD = smerodajná odchýlka.

^a Vykonali sa dodatočné úrovne, údaje však nie sú uvedené v tabuľke.

Tabuľka 8: Stanovenie LLoQ v prípade rôznych genotypov HBV v sére

HBV genotyp	Šarža reagentie	Aptima HBV Quant ^a (IU/ml)	Aptima HBV Quant ^a (Log ₁₀ IU/ml)	SD (Log ₁₀ IU/ml)	Systémová chyba (Log ₁₀ IU/ml)	Vypočítaná hodnota TE (Log ₁₀ IU/ml)	Vypočítaná hodnota 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 = smerodajná odchýlka.

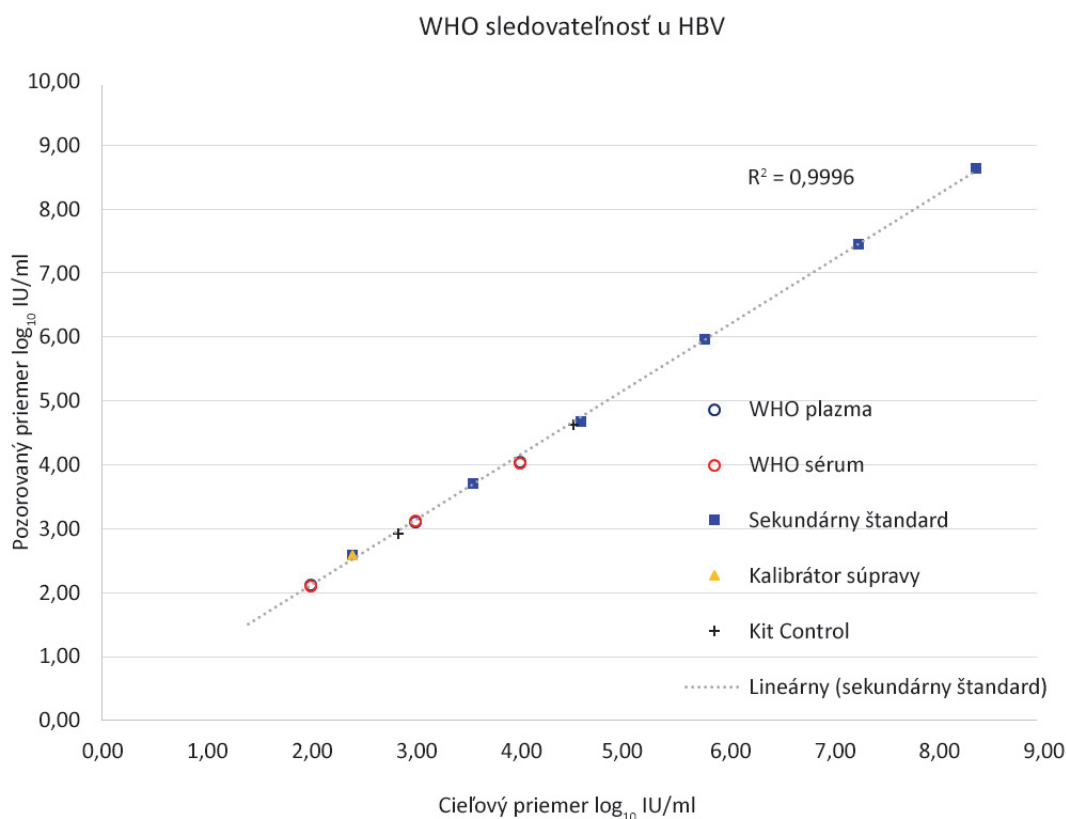
^a Vykonal sa dodatočné úrovně, údaje však nie sú uvedené v tabuľke.

Tabuľka 9: Súhrn LLoQ rôznych genotypov v plazme a sére

Genotyp	LLoQ plazmy		LLoQ séra	
	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

Sledovateľnosť k 3. medzinárodnému štandardu WHO

Na stanovenie sledovateľnosti k štandardu WHO sa počas vývoja a výroby produktu používala séria sekundárnych štandardov so známymi koncentráciami. Koncentrácie testované pre štandard HBV WHO boli medzi 2,0 a 4,0 log₁₀ IU/ml, koncentrácie sekundárnych štandardov sa pohybovali od 2,4 do 8,4 log₁₀ IU/ml. Kontroly a kalibrátory testu Aptima HBV Quant sa testovali spolu so sekundárnymi štandardmi a štandardom WHO. Všetky panely mali podobné výsledky a boli rozložené lineárne pozdĺž lineárneho rozsahu testu, ako zobrazuje Obrázok 8.



Obrázok 8. Sledovateľnosť medzi koncentráciami 3. štandardu HBV WHO a pozorovanou koncentráciou v teste Aptima HBV Quant

Presnosť

Panel presnosti Aptima HBV Quant sa vytvoril zriedením vírusu HBV genotypu A a plazmidovej DNA do klinickej plazmy negatívnej na HBV a klinického séra negatívneho na HBV (štyri najvyššie členy panelu v každej matrici boli plazmidová DNA). Jedenásť členov panelu v každej matrici dosahovalo rozsah testu (cieľové koncentrácie 1,30 log₁₀ IU/ml až 8,90 log₁₀ IU/ml) a testovalo sa jedným operátorom v troch replikátoch na chod pomocou troch šarží reagensí na systéme Panther v priebehu troch dní (dva chody za deň).

Tabuľka 10 zobrazuje presnosť výsledkov testu (v log₁₀ IU/ml) medzi dňami, medzi šaržami, medzi cyklami, v rámci cyklov a celkovo. Celková variabilita bola primárne spôsobená meraním v rámci chodu (tzn. náhodná chyba).

Tabuľka 10: Presnosť testu Aptima HBV Quant

Matrica	Vzorka	N	Priemerná koncentrácia	Priemerná koncentrácia	Medzi šaržami	Medzi šaržami	Medzi dňami	Medzi dňami	Medzi chodmi	Medzi chodmi	V rámci chodov	V rámci chodov	Spolu	Spolu
			(IU/ml)	(log ₁₀ IU/ml)	SD	Log normálny CV (%)	SD	Log normálny CV (%)	SD	Log normálny CV (%)	SD	Log normálny CV (%)	SD	Log normálny CV (%)
Plazma	Vírus	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
	Plazmidová 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
	Vírus	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
	Plazmidová 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
	Vírus	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
	Plazmidová DNA	54	103.400.000	8,01	0,04	9,4	0,02	3,7	0,01	2,1	0,05	12,0	0,07	15,9
Sérum	Vírus	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
	Plazmidová 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
	Vírus	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
	Plazmidová 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
	Vírus	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
	Plazmidová 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
Sérum	Vírus	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 = smerodajná odchýlka.

^a Detegované replikáty s kvantifikovateľným výsledkom, celkovo detegované replikáty = 54,^b Jeden replikát mal neplatný výsledok.Log normálny CV(%) = $\sqrt{10^{(SD^2 * \ln(10))} - 1} * 100$

Potenciálne interferujúce látky

Bola hodnotená náchylnosť testu Aptima HBV Quant na interferenciu spôsobenú zvýšenými hladinami endogénnych látok alebo liečiv bežne predpisovaných pacientom infikovaným HBV. Testovali sa vzorky plazmy negatívne na HBV a vzorky s pridaným vírusom HBV do koncentrácií približne 30 IU/ml ($1,48 \log_{10}$ IU/ml) a 20 000 IU/ml ($4,30 \log_{10}$ IU/ml).

Na výkone testu sa neprejavila žiadna interferencia prítomnosti albumínu (90 mg/ml), hemoglobínu (5 mg/ml), triglyceridov (30 mg/ml) ani konjugovaného hemoglobínu (0,2 mg/ml).

Klinické vzorky plazmy od pacientov so zvýšenými hladinami definovaných látok alebo od pacientov s ochoreniami (desať vzoriek na každú látku) uvedenými v Tabuľka 11 boli testované pomocou testu Aptima HBV Quant. Nebola pozorovaná žiadna interferencia s výkonom testu.

Tabuľka 11: Testované typy klinických vzoriek

Typy klinických vzoriek	
1	Antinukleárne protilátky (ANA)
2	Reumatoidný faktor (RF)
3	Alkoholická cirhóza (AC)
4	Alkoholická hepatitída
5	Nealkoholická hepatitída
6	Autoimunitná hepatitída
7	Zvýšená hladina alanínaminotransferázy (ALT)
8	Hepatocelulárny karcinóm (HCC)
9	Roztrúsená skleróza (MS)
10	Systémový lupus erythematosus (SLE)
11	Hyperglobulinémia
12	Reumatoidná artritída (RA)
13	Protilátka anti-Jo1 (JO-1)
14	Mnohopočetný myelóm (MM)
15	Hemolyzovaná (zvýšený hemoglobín)
16	Ikterická (zvýšený bilirubín)
17	Lipemická (zvýšený lipid)
18	Zvýšená hladina bielkovín

Nebola pozorovaná žiadna interferencia s výkonom testu v prítomnosti exogénnych látok uvedených v Tabuľka 12 pri koncentráciách na úrovni minimálne trojnásobku $C_{\max}$ (ľudská plazma).

Tabuľka 12: Exogénne látky

Pool exogénnych látok	Testované exogénne látky
1	Sachinavir, ritonavir, amprenavir, indinavir, lopinavir, nelfinavir mesylát
2	Klaritromycín, valganciklovir hydrochlorid, efavirenz, nevirapín
3	Paroxetín HCl, enfuvirtid, zidovudín, didanozín, abakavir sulfát
4	Ribavirín, entekavir, adefovir dipivoxil, tenofovir dizoproxilfumarát, lamivudín, ganciklovir, acyklovir
5	Stavudín, ciprofloxacín, fluoxetín, azitromycín, valaciklovir, sertralin, zalcitabín
6	Interferón alfa-2a, interferón alfa-2b, pegylovaný interferón alfa-2b

Analytická špecificita

Potenciálna krížová reaktivita s patogénmi uvedenými v Tabuľka 13 bola hodnotená u HBV negatívnej ľudskej plazmy v prítomnosti alebo absencii 30 IU/ml ($1,5 \log_{10}$ IU/ml) a 20 000 ($4,3 \log_{10}$ IU/ml) HBV DNA. Nebola pozorovaná žiadna krížová reaktivita. V prítomnosti patogénov nebola pozorovaná žiadna interferencia.

Tabuľka 13: Patogény testované na analytickú špecificitu

Mikroorganizmus/patogén	Koncentrácia		Mikroorganizmus/patogén	Koncentrácia	
Adenovírus 5	100 000	TCID ₅₀ /ml ^a	<i>Candida albicans</i>	1 000 000	CFU/ml ^e
BK ľudský polyomavírus	1 000	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
Vírus dengue 1	10 000	TCID 50/ml	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1 000 000	CFU/ml
Vírus dengue 2	10 000	TCID 50/ml	<i>Propionibacterium acnes</i>	1 000 000	CFU/ml
Vírus dengue 3	10 000	TCID 50/ml	<i>Staphylococcus aureus</i>	1 000 000	CFU/ml
Vírus dengue 4	100 000	TCID 50/ml	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1 000 000	CFU/ml
Vírus Epstein a Barovej	100 000	kópií/ml	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1 000 000	CFU/ml
Chrípka H1N1	100 000	TCID 50/ml	<i>Trichomonas vaginalis</i>	1 000 000	CFU/ml
Vírus hepatitídy A	100 000	TCID 50/ml	^a TCID ₅₀ /ml = jednotky infekčnej dávky pre tkanivovú kultúru na ml		
Vírus hepatitídy C	100 000	IU/ml ^b	^b IU/ml = medzinárodné jednotky na ml		
Vírus hepatitídy G	100 000	kópií/ml	^c vp/ml = viriónov na ml		
Ľudský herpes vírus 6B	100 000	kópií/ml	^d LD ₅₀ /ml = letálna dávka na ml		
Ľudský herpes vírus 8	100 000	kópií/ml	^e CFU/ml = počet jednotiek tvoriacich kolónie na ml		
HIV-1	100 000	IU/ml	^f IFU/ml = počet jednotiek tvoriacich inklúzie na ml		
HIV-2	10 000	TCID 50/ml			
Ľudský papilomavírus	100 000	kópií/ml			
Herpes simplex vírus 1 (HSV-1)	100 000	TCID 50/ml			
Vírus herpes simplex 2 (HSV-2)	100 000	TCID 50/ml			
Ľudský T-bunkový lymfotropný vírus 1 (HTLV-1)	100 000	vp/ml ^c			
Ľudský T-bunkový lymfotropný vírus 2 (HTLV-2)	100 000	vp/ml			
Vírus japonskej encefalitídy	Nevzťahuje sa	Nevzťahuje sa			
Vírus encefalitídy Murray Valley	2 000	LD ₅₀ /ml ^d			
Parvovírus B19	100 000	IU/ml			
Vírus ružienky	10 000	TCID 50/ml			
Vírus encefalitídy St. Louis	100 000	TCID 50/ml			
Vírus Vaccinia	1 000	TCID 50/ml			
Západonílsky vírus	100 000	TCID 50/ml			
Vírus žltej zimnice	100 000	TCID 50/ml			

Ekvivalencia matrice

Ekvivalencia matrice sa hodnotila u stoosemnástich súborov vzoriek párovaných skúmaviek na odber krvi (sérová skúmavka, ACD, K2 EDTA, K3 EDTA, PPT, SST). Z týchto súborov bolo 44 súborov prirodzene infikovaných pozitívnych na HBV a 74 súborov negatívnych na HBV s pridaným vírusom HBV. Korelácia jednotlivých typov skúmaviek na odber krvi meraná so sérovou odbernou skúmavkou ako komparátorom je uvedená v Tabuľka 14.

Tabuľka 14: Štúdia ekvivalencie matrice

Odberová skúmavka	Demingova regresia	95 % IS sklonu		95 % IS priesečníka		R ²	Priemerný rozdiel (Log ₁₀)
		Spodný limit	Horný limit	Spodný limit	Horný limit		
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

IS = interval spoľahlivosti.

Riedenie vzorky pomocou riediaceho prípravku na vzorky Aptima (1 : 3)

Na zhodnotenie správnosti detekcie HBV DNA vo vzorkách riedených riediacim prípravkom na vzorky Aptima sa vzorky, ktoré dosahovali lineárny rozsah, riedili v pomere 1 : 3 riediacim prípravkom na vzorky Aptima (napríklad 240 µl vzorky spolu s 480 µl riediaceho prípravku na vzorky Aptima). Každá vzorka sa trikrát testovala čistá a nariedená (1 : 3). Testovanie sa vykonalo pomocou jednej šarže reagencií testu na dvoch systémoch Panther a s dvomi šaržami riediaceho prípravku na vzorky Aptima. Rozdiely medzi priemernou hlásenou koncentráciou v prirodzenej matrici (výsledok nariedenej vzorky korigovaný faktorom riedenia) a priemernou koncentráciou v riediacom prípravku na vzorky Aptima uvádza Tabuľka 15 pre plazmu a Tabuľka 16 pre sérum. Koncentrácie vzoriek boli v nariedených vzorkách správne zachytené.

Tabuľka 15: Súhrn porovnania vzorky plazmy s riediacou matricou v pomere 1 : 3

Matrica plazmy Priemerná hlásená koncentrácia (Log ₁₀ IU/ml) n = 9	Riediaci prípravok Priemerná hlásená koncentrácia (Log ₁₀ IU/ml) n = 18	Rozdiel Riediaci prípravok odčítaný od matrice plazmy (Log ₁₀ IU/ml)
1,20 ^a	1,11 ^b	-0,09
1,56 ^a	1,36 ^b	-0,20
2,15	2,04	-0,11
3,10	2,97	-0,13
3,92	3,89	-0,03
4,82	4,79	-0,03
5,70	5,70	0,00
7,07	6,98	-0,09
7,74	7,60	-0,14
8,74	8,62	-0,12
9,29	9,19	-0,10
9,39	9,29	-0,10

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

Tabuľka 16: Súhrn porovnania vzorky séra s riediacou matricou v pomere 1 : 3

Matrica séra Priemerná hlásená koncentrácia (Log ₁₀ IU/ml) n = 9	Riediaci prípravok Priemerná hlásená koncentrácia (Log ₁₀ IU/ml) n = 18	Rozdiel Riediaci prípravok odčítaný od matrice séra (Log ₁₀ IU/ml)
1,21 ^a	1,11 ^b	-0,10
1,54 ^a	1,36 ^b	-0,18
2,21	2,03	-0,18
3,06	2,98	-0,08
3,90	3,83	-0,07
4,77	4,76	-0,01
5,77	5,74	-0,03
7,03	7,00	-0,03
7,85	7,71	-0,14
8,87	8,76	-0,11
9,37	9,30	-0,07
9,46	9,36	-0,10

^a n = 21^b n = 42

Riedenie vzorky pomocou riediaceho prípravku na vzorky Aptima (1 : 100)

Na zhodnotenie správnosti detekcie HBV DNA vo vzorkách séra alebo plazmy riedených riediacim prípravkom na vzorky Aptima sa v piatich replikátoch testovalo osem individuálnych vzoriek plazmy a osem individuálnych vzoriek séra s pridaným vírusom HBV s cieľovou koncentráciou medzi 6 až 8 log₁₀ IU/ml spolu s ôsmimi individuálnymi vzorkami plazmy a ôsmimi individuálnymi vzorkami séra s pridanou plazmidovou DNA vírusu HBV s cieľovou koncentráciou 9,16 log₁₀ IU/ml sa testovalo v 5 replikátoch. Tesne pred testovaním sa vykonalo riedenie 1 : 100 s jedným dielom vzorky a 99 dielmi riediaceho prípravku na vzorky Aptima. Testovanie sa vykonalo pomocou jednej šarže reagencií testu na dvoch systémoch Panther a s dvomi šarzami riediaceho prípravku na vzorky Aptima. Vypočítal sa rozdiel medzi

priemernou hlásenou koncentráciou v prirodzenej matrici (výsledok nariadenej vzorky korigovaný faktorom riedenia) a priemernou koncentráciou v riediacom prípravku na vzorky Aptima, ako uvádza Tabuľka 17 pre plazmu a Tabuľka 18 pre sérum.

Tabuľka 17: Súhrn porovnania vzorky plazmy s riediacou matricou v pomere 1 : 100

Matrica plazmy Priemerná hlásená koncentrácia (Log ₁₀ IU/ml) n = 5	Riediacci prípravok Priemerná hlásená koncentrácia (Log ₁₀ IU/ml) n = 10	Rozdiel Riediacci prípravok odčítaný od matrice plazmy (Log ₁₀ IU/ml)
7,86	7,85	-0,01
7,84	7,83	-0,01
7,78	7,75	-0,03
7,80	7,80	0,00
6,58	6,53	-0,05
6,58	6,52	-0,06
6,58	6,53	-0,05
6,58	6,53	-0,05
9,24 ^a	9,05 ^a	-0,19
9,21 ^a	9,05 ^a	-0,16
9,25 ^a	9,03 ^a	-0,22
9,27 ^a	9,04 ^a	-0,23
9,13 ^a	8,82 ^a	-0,31
9,12 ^a	8,81 ^a	-0,31
9,09 ^a	8,84 ^a	-0,25
9,05 ^a	8,84 ^a	-0,21

^a Pridaná plazmidová DNA

Tabuľka 18: Súhrn porovnania vzorky séra s riediacou matricou v pomere 1 : 100

Matrica séra Priemerná hlásená koncentrácia (Log ₁₀ IU/ml) n = 5	Riediacci prípravok Priemerná hlásená koncentrácia (Log ₁₀ IU/ml) n = 10	Rozdiel Riediacci prípravok odčítaný od matrice séra (Log ₁₀ IU/ml)
7,70	7,85	0,15
7,84	7,85	0,01
7,79	7,82	0,03
7,75	7,79	0,04
6,77	6,77	0,00
6,75	6,80	0,05
6,75	6,71	-0,04
6,70	6,73	0,03
9,27 ^a	9,08 ^a	-0,19
9,24 ^a	9,06 ^a	-0,18
9,29 ^a	9,08 ^a	-0,21
9,31 ^a	9,11 ^a	-0,20
9,14 ^a	8,91 ^a	-0,23
9,18 ^a	8,92 ^a	-0,26
9,19 ^a	8,90 ^a	-0,29
9,08 ^a	8,84 ^a	-0,24

^a Pridaná plazmidová DNA

Potvrdenie LLoQ u vzoriek riedených riediacim prípravkom na vzorky Aptima

LLoQ testu Aptima HBV Quant sa potvrdil klinickými vzorkami s HBV genotypu A zriedenými v riediacom prípravku na vzorky Aptima. Vzorky sa pripravili v ľudskej plazme a sére negatívnych na HBV v koncentráciách 21, 30 a 45 IU/ml. Každý panel sa tesne pred testovaním zriedil v pomere 1 : 3 s riediacim prípravkom na vzorky Aptima do konečných koncentrácií približne 7, 10 a 15 IU/ml. Každý člen panelu sa testoval v celkovo 36 replikátoch s jednou šaržou reagencií v priebehu troch dní. Potvrdil sa LLoQ ≤ 10 IU/ml pre plazmu a sérum HBV zriedené v riediacom prípravku na vzorky Aptima, ako uvádza Tabuľka 19.

Tabuľka 19: Potvrdenie LLoQ – vzorky v riediacom prípravku na vzorky Aptima

Matrica	% detegovaných	Aptima HBV Quant (IU/ml)	Aptima HBV Quant (Log ₁₀ IU/ml)	SD (Log ₁₀ IU/ml)	Systémová chyba (Log ₁₀ IU/ml)	Vypočítaná hodnota TE (Log ₁₀ IU/ml)	Vypočítaná hodnota TAE (Log ₁₀ IU/ml)
Plazma	100 %	3	0,50	0,19	0,10	0,54	0,48
Sérum	100 %	2	0,38	0,12	0,46	0,33	0,70

Presnosť riedených vzoriek

Panel presnosti Aptima HBV Quant sa vytvoril zriedením plazmy pozitívnej na HBV a plazmidovej DNA HBV v klinickej plazme a sére negatívnych na HBV. Pozitívne panely sa zriedili v riediacom prípravku na vzorky Aptima. Tieto panely sa testovali v piatich replikátoch na chod jedným operátorom pomocou troch šarží riediaceho prípravku na vzorky Aptima na jednom systéme Panther v priebehu troch testovacích dní (dva chody za deň).

Tabuľka 20 znázorňuje presnosť výsledkov testu (v SD log₁₀ IU/ml) pre tri šarže riediaceho prípravku na vzorky Aptima. Celková variabilita bola $\leq 0,15$ SD u všetkých členov panelu a šarží riediaceho prípravku.

Tabuľka 20: Presnosť panelov riedených v riediacom prípravku na vzorky Aptima

Matrica	Cieľová koncentrácia log ₁₀ IU/ml	Riedenie	Šarža 1 riediaceho prípravku na vzorky (n = 10)		Šarža 2 riediaceho prípravku na vzorky (n = 10)		Šarža 3 riediaceho prípravku na vzorky (n = 10)		Šarže spolu (n = 30)	
			Priemerný log ₁₀ IU/ml	SD	Priemerný log ₁₀ IU/ml	SD	Priemerný log ₁₀ IU/ml	SD	Priemerný log ₁₀ IU/ml	SD
Plazma	3,30	Čistá	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	Čistá	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	Čistá	9,13	0,05	9,10	0,03	9,26 ^a	0,15	9,16 ^a	0,11
		1 : 100	9,18	0,03	9,14	0,04	9,33	0,10	9,21	0,10
Sérum	3,30	Čistá	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	Čistá	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	Čistá	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 = smerodajná odchýlka.

^a 1 replikát boli vylúčené (nad vypočítateľným rozsahom).

^b 2 replikáty boli vylúčené (nad vypočítateľným rozsahom).

Prenos

Bola vykonaná štúdia za použitia doplnených panelov na troch systémoch Panther s cieľom potvrdiť, že systém Panther minimalizuje riziko falošne pozitívnych výsledkov vznikajúcich kontamináciou v dôsledku prenosu. Prenos bol hodnotený pomocou doplnených vzoriek plazmy s pridanou DNA HBV vo vysokom titri ($8 \log_{10}$ IU/ml) vmedzerných medzi HBV negatívne vzorky v šachovnicovom vzorci. Testovanie prebehlo v pätnástich chodoch. Celková miera prenosu bola 0,14 % (1/705).

Reprodukovateľnosť

Reprodukovateľnosť sa hodnotila na systéme Panther na troch externých miestach v USA. Testovanie vykonali na každom pracovisku dvaja operátori. Počas testovania vykonal každý operátor dva chody za deň v priebehu troch dní pomocou troch šarží reagensov. Každý cyklus mal tri opakovania každého člena panelu. Celkovo sa testovalo 108 replikátov každého člena panelu.

Reprodukovateľnosť sa testovala pomocou členov panelu pripravených z plazmy negatívnej na HBV. Pozitívne členy panelu boli pozitívne na HBV genotypov A alebo C. Koncentrácie HBV DNA dosahovali lineárny rozsah testu.

Tabuľka 21 znázorňuje reprodukovateľnosť a presnosť výsledkov testu pre každý pozitívny člen panelu medzi pracoviskami, medzi operátormi/dňami, medzi šaržami, medzi chodmi, v rámci chodov a celkovo.

Variačný koeficient sa vypočítal pomocou tejto rovnice, kde σ^2 je rozptyl vzoriek z údajov po transformácii $\log_{10}$.

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

Pre všetky členy panelu pozitívne na HBV boli hodnoty zhody 100 %.

Tabuľka 21: Reprodukateľnosť úrovni HBV DNA v teste Aptima HBV Quant na systéme Panther u pozitívnych členov panelu

GT	N	Pozorovaný priemer		Percentuálne príspevие k celkovému rozptylu SD (% CV)					Celková odchýlka SD (% CV)
		IU/ml	Log ₁₀ IU/ml	Medzi pracovis- kami	Medzi operátormi/ dňami ^a	Medzi šaržami	Medzi chodmi	V rámci chodov	
A	108	17,6	1,2	0,059 (13,578)	< 0,001 (< 0,001)	0,138 (32,693)	0,090 (20,869)	0,178 (42,883)	0,250 (62,666)
	108	129,4	2,1	0,009 (2,162)	0 (0)	0,074 (17,109)	0,051 (11,869)	0,106 (24,736)	0,139 (32,886)
	107	1056,0	3,0	0,035 (7,994)	0,032 (7,432)	0,014 (3,246)	0,032 (7,356)	0,085 (19,666)	0,103 (24,060)
	108	7663,0	3,9	0 (0)	0,027 (6,262)	0,040 (9,235)	0,044 (10,088)	0,066 (15,194)	0,092 (21,540)
	108	188172,1	5,3	0,027 (6,281)	0,042 (9,707)	0,042 (9,787)	0,030 (6,829)	0,072 (16,689)	0,102 (23,772)
	108	9389094,1	7,0	0,038 (8,846)	0 (0)	0,031 (7,237)	0,064 (14,791)	0,068 (15,756)	0,106 (24,692)
	107	86664677,2	7,9	0,038 (8,692)	0,029 (6,753)	0,020 (4,584)	0,037 (8,635)	0,049 (11,375)	0,081 (18,725)
	107	753726183,2	8,9	0,024 (5,476)	0,052 (11,997)	0,015 (3,499)	0,045 (10,304)	0,053 (12,187)	0,091 (21,163)
	107	17,0	1,2	0,041 (9,521)	0,041 (9,392)	0,074 (17,147)	0,092 (21,438)	0,189 (45,704)	0,230 (57,010)
C	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 = lognormálny koeficient variácie, GT = genotyp, SD = smerodajná odchýlka

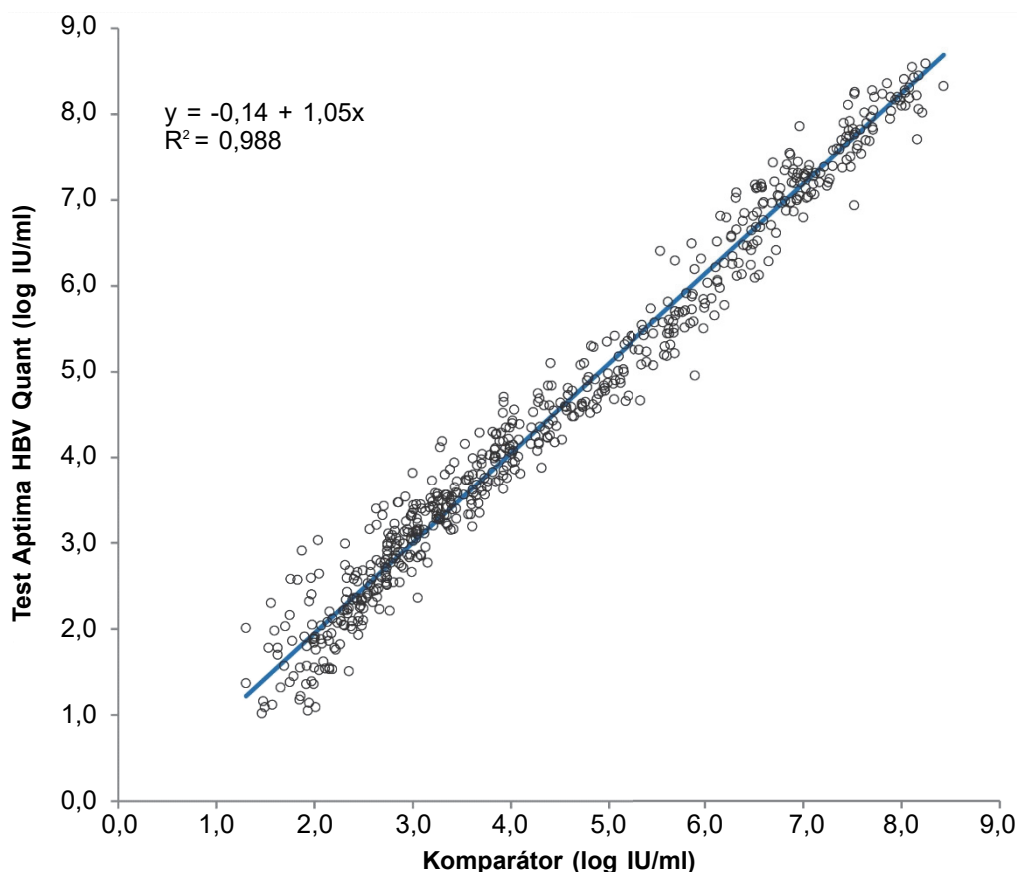
Poznámka: Variabilita niektorých faktorov môže byť číselne negatívna. Môže sa to stať, ak je variabilita spôsobená týmito faktormi veľmi malá. V týchto prípadoch sú SD a CV zobrazené ako 0,

^a Hodnoty Medzi operátormi môžu byť ovplyvnené hodnotami Medzi dňami, preto sa odhady pre hodnoty Medzi operátormi a Medzi dňami zlučujú vo forme Medzi operátormi/dňami.

Klinický výkon

Korelácia metód

Výkonnosť testu Aptima HBV Quant bola hodnotená proti porovnávaciemu testu s označením CE a licenciou Health Canada na základe testovania neriedených klinických vzoriek od pacientov infikovaných HBV. Celkom sa v lineárnej regresii použilo 614 klinických vzoriek v lineárnom rozsahu spoločnom pre oba testy – pozri Obrázok 9.



Obrázok 9. Korelácia medzi testom Aptima HBV Quant a komparátorovým testom

Klinická využiteľnosť

Vykonala sa štúdia na zhodnotenie schopnosti testu Aptima HBV Quant predpovedať virologické, biochemické a sérologické koncové ukazovatele klinickej využiteľnosti 48 týždňov po začatí liečby. Vzorky sa odoberali prospektívne od účastníkov s chronickou infekciou HBV, ktorí začali užívať monoterapiu entekavirom alebo tenofovirom v rámci ich štandardnej liečby.

Zo zaradených 331 účastníkov nebolo 86 možné hodnotiť kvôli odstúpeniu, prerušeniu, skorému ukončeniu liečby, chýbajúcim výsledkom z 48. týždňa alebo chýbajúcim či nízkym východiskovým vírusovým záťažiam HBV DNA. Zvyšných 245 účastníkov bolo hodnotiteľných pre aspoň jeden z koncových ukazovateľov klinickej užitočnosti a zahŕňalo 126 účastníkov s HBeAg(+) a 119 účastníkov s HBeAg(-). Tabuľka 22 zobrazuje demografické a východiskové klinické charakteristiky hodnotiteľných účastníkov. Demografické rozloženie účastníkov tejto štúdie zodpovedalo pacientom s chronickou hepatítidou HBV v USA. Údaje účastníkov HBeAg(+) a HBeAg(-) sa analyzovali zvlášť.

Tabuľka 22: Demografické údaje a východiskové klinické vlastnosti účastníkov, ktorých bolo možné hodnotiť

Vlastnosti		Spolu
Spolu, N	N	245
Entekavir	n (%)	94 (38,4)
Tenofovir	n (%)	151 (61,6)
Pohlavie, n (%)	Muž	154 (62,9)
	Žena	91 (37,1)
Vek (roky)	Priemer $\pm$ SD	43,5 $\pm$ 13,63
	Medián	44,0
	Rozsah	18 – 83
Veková kategória (roky), n (%)	18 – 29	40 (16,3)
	30 – 49, n (%)	120 (49,0)
	50 – 70, n (%)	80 (32,7)
	> 70, n (%)	5 (2,0)
Etnická príslušnosť, n (%)	Hispanšská alebo latinskoamerická	7 (2,9)
	Iná ako hispanšská alebo latinskoamerická	236 (96,3)
	Neznáma/odmietli uviesť	2 (0,8)
Rasa ^a , n (%)	Biela	89 (36,3)
	Čierna alebo afroamerická	16 (6,5)
	Ázijská	132 (53,9)
	Americký indián/pôvodný obyvateľ Aljašky	0 (0,0)
	Pôvodný obyvateľ ostrova Hawai/ostrovo v Pacifiku	6 (2,4)
	Iné	1 (0,4)
	Neznáma/odmietli uviesť	1 (0,4)
Genotyp, n (%)	A	28 (11,4)
	B	64 (26,1)
	C	36 (14,7)
	D	47 (19,2)
	E	2 (0,8)
	F	0 (0,0)
	G	0 (0,0)
	H	3 (1,2)
	Neznáme	65 (26,5)
Stav liečby HBV, n (%)	Liečený	27 (11,0)
	Neliečený	218 (89,0)
Predchádzajúca liečba liekmi, n (%)	Tenofovir	5 (18,5)
	Entekavir	4 (14,8)
	Adefovir	2 (7,4)
	Lamivudín	1 (3,7)
	Telbivudín	0 (0,0)
	Interferón	10 (37,0)
	Iné ^b	5 (18,5)
Výsledok predchádzajúcej liečby, n (%)	Zlyhanie	1 (3,7)
	Úspech	0 (0,0)
	Prerušená z iných dôvodov	26 (96,3)
Sérologický stav HBsAg, n (%)	Pozitívny/reaktívny	210 (85,7)
	Nevykonal sa	35 (14,3)

Tabuľka 22: Demografické údaje a východiskové klinické vlastnosti účastníkov, ktorých bolo možné hodnotiť (pokračovanie)

Vlastnosti	Spolu
Stav cirhózy, n (%)	Cirhóza
	26 (10,6)
	Bez cirhózy
Vírusová záťaž HBV (log ₁₀ IU/ml)	201 (82,0)
	Nevykonal sa
	18 (7,3)
ALT (U/l)	Priemer ±SD
	6,3 ±1,93
	Medián
ALT (U/l)	6,4
	Rozsah
	3 – 9
ALT (U/l)	Priemer ±SD
	102,4 ±175,97
ALT (U/l)	Počet nad ULN ^c
	177 (85,9)

^a Účastníci môžu hlásiť viaceré rasy.

^b Rôzne kombinácie uvedených špecifických liekov.

^c Horný limit normálneho rozsahu (ULN) pre alanínaminotransferázu (ALT) bol 30 U/l u mužov a 19 U/l u žien.

Predpovedanie odpovede na antivírusovú liečbu

Klinická využiteľnosť testu Aptima HBV Quant sa hodnotila pre jedincov liečených tenofovirom alebo entekavirom. Nie sú dostupné žiadne informácie o klinickej využiteľnosti testu pri použití iných antivírusových liečob HBV.

Definície:

Výsledky skorej virologickej odpovede

Virologická odpoveď v 12. a 24. týždni = HBV DNA < 10 IU/ml (< LLoQ) podľa stanovenia testom Aptima HBV Quant na systéme Panther

Alternatívna virologická odpoveď v 12. týždni = pokles HBV DNA $\geq 2 \log_{10}$ oproti východiskovej hodnote

Alternatívna virologická odpoveď v 24. týždni = HBV DNA < 2 000 IU/ml (pre HBeAg+) alebo < 50 IU/ml (pre HBeAg-)

Koncové ukazovatele klinickej využiteľnosti

Virologická odpoveď v 48. týždni = HBV DNA < 10 IU/ml (< LLoQ) podľa stanovenia schváleným kvantitatívnym testom na HBV

Alternatívna virologická odpoveď v 48. týždni = HBV DNA < 50 IU/ml podľa stanovenia schváleným kvantitatívnym testom na HBV

Biochemická odpoveď = normalizácia výsledkov testu ALT v 48. týždni (ALT < 30 U/l u mužov a < 19 U/l u žien)

Sérologická odpoveď = strata HBeAg (HBeAg-negatívne výsledky) v 48. týždni

Merania súvislosti a prediktívnej hodnoty

Pozitívna prediktívna hodnota (PPV) = skutočne pozitívni/(skutočne pozitívni + falošne pozitívni) alebo pravdepodobnosť odpovede v 48. týždni (na zhodnotenie koncového ukazovateľa klinickej využiteľnosti) u účastníkov s virologickou odpoveďou v skorom časovom bode.

Negatívna prediktívna hodnota (NPV) = skutočne negatívni/(falošne negatívni + skutočne negatívni) alebo pravdepodobnosť neprítomnosti odpovede v 48. týždni (na zhodnotenie koncového ukazovateľa klinickej využiteľnosti) u účastníkov bez virologickej odpovede v skorom časovom bode.

Pomer šancí (OR) = (skutočne pozitívni × skutočne negatívni)/(falošne pozitívni × falošne negatívni)

Predpovedanie virologickej odpovede v 48. týždni, definovanej ako HBV DNA < 10 IU/ml

V tejto štúdii bola primárna definícia virologickej odpovede HBV DNA < 10 IU/ml a táto definícia sa použila ako na skorú virologickú odpoveď v 12. a 24. týždni, tak na virologickú odpoveď v 48. týždni. Hodnotilo sa spojenie medzi skorými virologickými odpoveďami v 12. a 24. týždni a koncovými ukazovateľmi klinickej využiteľnosti 48. týždňa (virologická odpoveď, biochemická odpoveď, sérologická odpoveď).

Predpovedanie virologickej odpovede v 48. týždni

Spojenia medzi virologickou odpoveďou v 48. týždni a virologickou odpoveďou v 12. a 24. týždni sú zhrnuté v Tabuľka 23.

Skoré virologické odpovede v 12. a 24. týždni ako prediktory virologickej odpovede v 48. týždni, sa líšia podľa týždňa a liečby.

Tabuľka 23: PPV, NPV a pomer šancí pre virologickú odpoveď predpovedanú podľa skorej virologickej odpovede počas liečby: Virologická odpoveď v 48. týždni, definovaná ako < 10 IU/ml

Stav HBeAg	Týždeň skorej virologickej odpovede	Liečba	PPV (%)		NPV (%)		ALEBO
			Odhad (95 % IS)	n/N	Odhad (95 % IS)	n/N	Odhad (95 % IS) ^{a,b}
HBeAg(+)	12	Entekavir	0,0 (0,0, 93,2)	0/1	82,5 (80,0, 88,4)	33/40	1,49 (< 0,01, 30,95)
		Tenofovir	100 (27,3, 100)	2/2	74,4 (72,6, 78,7)	61/82	14,30 (1,11, > 999,99)
		Všetko	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)
		Všetko	70,0 (50,3, 88,1)	14/20	85,4 (81,3, 90,1)	88/103	13,69 (4,74, 44,16)
HBeAg(-)	12	Entekavir	94,1 (87,1, 99,0)	32/34	22,2 (7,6, 36,0)	4/18	4,57 (0,80, 35,85)
		Tenofovir	83,3 (70,5, 93,2)	25/30	46,9 (35,0, 58,9)	15/32	4,41 (1,42, 15,71)
		Všetko	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)
		Všetko	87,6 (82,7, 92,6)	78/89	62,5 (44,8, 78,0)	15/24	11,82 (4,30, 34,94)

IS = 95 % interval spoľahlivosti pravdepodobnosti profilu

^a Sfarbenie sivou označuje štatistickú významnosť pomerov šancí.

^b Na výpočet pomerov šancí a ich intervalov spoľahlivosti sa ku všetkým bunkám pridalo 0,5 vždy, ak mala aspoň jedna bunka hodnotu nula.

Predpovedanie biochemickej odpovede v 48. týždni

Spojenia medzi biochemickou odpoveďou v 48. týždni a virologickou odpoveďou v 12. a 24. týždni sú zhrnuté v Tabuľka 24.

Hodnota skorých virologických odpovedí v 12. a 24. týždni ako prediktor biochemickej odpovede v 48. týždni sa líši podľa týždňa a liečby.

Tabuľka 24: PPV, NPV a pomer šancí pre biochemickú odpoveď predpovedanú podľa skorej virologickej odpovede počas liečby: Virologická odpoveď v 48. týždni, definovaná ako < 10 IU/ml

Stav HBeAg	Týždeň skorej virologickej odpovede	Liečba	PPV (%)		NPV (%)		ALEBO
			Odhad (95 % IS)	n/N	Odhad (95 % IS)	n/N	Odhad (95 % IS) ^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)
		Všetko	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)
		Všetko	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)
		Všetko	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)
		Všetko	44,2 (37,8, 50,8)	23/52	78,6 (55,1, 95,0)	11/14	2,91 (0,80, 13,98)

IS = 95 % interval spoľahlivosti pravdepodobnosti profilu, NC = nie je možné vypočítať

^a Na výpočet pomerov šancí a ich intervalov spoľahlivosti sa ku všetkým bunkám pridalo 0,5 vždy, ak mala aspoň jedna bunka hodnotu nula.

Predpovedanie sérologickej odpovede v 48. týždni

Spojenia medzi sérologickou odpoveďou v 48. týždni a virologickou odpoveďou v 12. a 24. týždni sú zhrnuté v Tabuľka 25.

Hodnota skorých virologických odpovedí v 12. a 24. týždni ako prediktor sérologickej odpovede v 48. týždni sa líši podľa týždňa a liečby.

Tabuľka 25: PPV, NPV a pomer šancí pre sérologickú odpoveď predpovedanú podľa skorej virologickej odpovede počas liečby: Virologická odpoveď v 48. týždni, definovaná ako < 10 IU/ml

Stav HBeAg	Týždeň skorej virologickej odpovede	Liečba	PPV (%)		NPV (%)		ALEBO
			Odhad (95 % IS)	n/N	Odhad (95 % IS)	n/N	Odhad (95 % IS) ^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)
		Všetko	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)
		Všetko	25,0 (8,5, 43,6)	5/20	85,4 (82,5, 89,4)	88/103	1,96 (0,57, 5,94)

IS = 95 % interval spoľahlivosti pravdepodobnosti profilu

^a Na výpočet pomerov šancí a ich intervalov spoľahlivosti sa ku všetkým bunkám pridalo 0,5 vždy, ak mala aspoň jedna bunka hodnotu nula.

Predpovedanie virologickej odpovede v 48. týždni, definovanej ako HBV DNA < 50 IU/ml (alternatívna definícia)

Hodnotili sa tiež alternatívne definície skorých virologických odpovedí (v 12. a 24. týždni) a virologickej odpovede v 48. týždni (pozrite si definície alternatívnej odpovede vyššie).

Spojenia medzi koncovými ukazovateľmi klinickej využiteľnosti a virologickou odpoveďou v 12. a 24. týždni s použitím týchto alternatívnych definícií virologickej odpovede sú zhrnuté v Tabuľka 26 (virologická odpoveď), Tabuľka 27 (biochemická odpoveď) a Tabuľka 28 (sérologická odpoveď).

Tabuľka 26: PPV, NPV a pomer šancí pre virologickú odpoveď predpovedanú podľa skorej virologickej odpovede počas liečby: Virologická odpoveď v 48. týždni, definovaná ako < 50 IU/ml

Stav HBeAg	Týždeň skorej virologickej odpovede	Liečba	PPV (%)		NPV (%)		ALEBO
			Odhad (95 % IS)	n/N	Odhad (95 % IS)	n/N	Odhad (95 % IS) ^{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)
		Všetko	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)
		Všetko	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)
		Všetko	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)
		Všetko	96,9 (93,8, 99,2)	93/96	23,5 (7,0, 39,8)	4/17	9,54 (1,91, 53,22)

IS = 95 % interval spoľahlivosti pravdepodobnosti profilu, NC = nie je možné vypočítať

^a Sfarbenie sivou označuje štatistickú významnosť pomerov šancí.

^b Na výpočet pomerov šancí a ich intervalov spoľahlivosti sa ku všetkým bunkám pridalo 0,5 vždy, ak mala aspoň jedna bunka hodnotu nula. To sa vykonalo za predpokladu, že neboli žiadne odpovede v 48. týždni alebo žiadni účastníci bez odpovede v 48. týždni, čo malo za následok hlásenie pomeru šancí ako NC.

Tabuľka 27: PPV, NPV a pomer šancí pre biochemickú odpoveď predpovedanú podľa skorej virologickej odpovede počas liečby: Virologická odpoveď v 48. týždni, definovaná ako < 50 IU/ml

Stav HBeAg	Týždeň skorej virologickej odpovede	Liečba	PPV		NPV		ALEBO
			Odhad (95 % IS)	n/N	Odhad (95 % IS)	n/N	Odhad (95 % IS) ^{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)
		Všetko	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)
		Všetko	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)
		Všetko	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)
		Všetko	42,6 (36,4, 48,9)	23/54	75,0 (48,8, 93,7)	9/12	2,23 (0,59, 10,87)

IS = 95 % interval spoľahlivosti pravdepodobnosti profilu

^a Sfarbenie sivou označuje štatistickú významnosť pomerov šancí.

^b Na výpočet pomerov šancí a ich intervalov spoľahlivosti sa ku všetkým bunkám pridalo 0,5 vždy, ak mala aspoň jedna bunka hodnotu nula.

Tabuľka 28: PPV, NPV a pomer šancí pre sérologickú odpoveď predpovedanú podľa skorej virologickej odpovede počas liečby: Virologická odpoveď v 48. týždni, definovaná ako < 50 IU/ml

Stav HBeAg	Týždeň skorej virologickej odpovede	Liečba	PPV		NPV		ALEBO
			Odhad (95 % IS)	n/N	Odhad (95 % IS)	n/N	Odhad (95 % IS) ^{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)
		Všetko	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)
		Všetko	24,4 (20,0, 28,4)	19/78	97,8 (90,4, 99,9)	44/45	14,17 (2,77, 259,25)

IS = 95 % interval spoľahlivosti pravdepodobnosti profilu

^a Sfarbenie sivou označuje štatistickú významnosť pomerov šancí.

^b Na výpočet pomerov šancí a ich intervalov spoľahlivosti sa ku všetkým bunkám pridalo 0,5 vždy, ak mala aspoň jedna bunka hodnotu nula.

Záver

Výsledky celkovo preukázali, že test Aptima HBV Quant dokáže kvantifikovať hladiny HBV DNA vo východiskovej úrovni a v priebehu liečby ako pomôcky pri hodnotení vírusovej odpovede na liečbu. Táto štúdia preukázala, že skoré virologické odpovede v 12. a 24. týždni ako prediktory virologickej odpovede v 48. týždni sa líšia podľa týždňa a liečby.

Test Aptima HBV Quant sa môže použiť ako pomôcka na liečbu pacientov chronicky infikovaných HBV podstupujúcich terapiu HBV antivirotikami.

Literatúra

1. **World Health Organization.** Global progress report on HIV, viral hepatitis and sexually transmitted infections, 2021. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240027077>. Prezerané v septembri 2022,
2. **Liaw YF, Chu CM.** Hepatitis B virus infection. *Lancet*. 2009;373(9663):582-592,
3. **European Association for the Study of the Liver.** EASL Clinical Practice Guidelines: Management of chronic hepatitis B virus infection. *Journal of Hepatology* 2012; 57:167-185,
4. **International Agency for Research on Cancer.** Hepatitis B Virus. IARC Monographs 2012; 100B: 93-133,
5. **Price, J.** An Update on Hepatitis B, D, and E Viruses. *Topics in Antiviral Medicine* 2014; 21(5): 157-163,
6. **Terrault NA, Bzowej NH, Chang KM, Hwang JP, Jonas MM, Murad MH; American Association for the Study of Liver Diseases.** AASLD guidelines for treatment of chronic hepatitis B. *Hepatology*. Január 2016;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>.

Kontaktné údaje a história revízií



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



Hologic BV
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgicko

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

Emailovú adresu a telefónne číslo oddelenia technickej podpory a zákazníckych služieb danej krajiny nájdete na adrese www.hologic.com/support.

Závažné udalosti, ktoré sa vyskytli v Európskej únii v súvislosti s pomôckou, sa musia hlásiť výrobcovi a príslušnému orgánu členského štátu, v ktorom používateľ a/alebo pacient sídli.

Hologic, Aptima, Panther, Panther Fusion a príslušné logá sú ochranné známky a/alebo registrované ochranné známky spoločnosti Hologic, Inc. a/alebo jej pobočiek v USA a/alebo v iných krajinách. Akékoľvek ďalšie ochranné známky, ktoré môžu byť vyobrazené na tomto príbalovom letáku, sú majetkom príslušných vlastníkov.

Akékoľvek ďalšie ochranné známky, ktoré môžu byť vyobrazené na tomto príbalovom letáku, sú majetkom príslušných vlastníkov.

Tento produkt môže byť chránený jedným alebo viacerými patentmi USA uvedenými na stránkach www.hologic.com/patents.

© 2017 – 2025 Hologic, Inc. Všetky práva vyhradené.

AW-28215-3201 Rev. 003

2025-10

História revízií	Dátum	Opis
AW-28215-3201 Rev. 001	Júl 2025	Počiatočné vydanie novej verzie návodu na použitie (IFU) AW-28215 Rev. 001 pre test Aptima HBV v súlade s predpismi IVDR, ktorá nahradí AW-13182.
AW-28215-3201 Rev. 002	August 2025	Aktualizácie ochranných známk s cieľom splniť požiadavky BSI.
AW-28215-3201 Rev. 003	Október 2025	- Pridaná možnosť trepačky skúmaviek - Akzualizované SDS