

Aptima® HBV Quant Assay

Kullanım Talimatları
In vitro diagnostik kullanım için
Sadece ABD'den ihracat için

Genel Bilgiler	2
Kullanım Amacı	2
Testin Özeti ve Açıklaması	2
Prosedür Esasları	3
Güvenlilik ve Performans Özeti	3
Uyarılar ve Önlemler	4
Reaktif Saklama ve Taşıma Gereklilikleri	8
Örnek Toplama ve Saklama	9
Panther Sistemindeki Yerleşik Numuneler	12
Örneklerin Taşınması	12
Panther Sistemi	13
Sağlanan Reaktifler ve Malzemeler	13
Gerekli Ancak Ayrı Olarak Temin Edilebilecek Malzemeler	14
İsteğe Bağlı Malzemeler	15
Panther Sistemi Test Prosedürü	16
Prosedür Notları	19
Kalite Kontrolü	21
Test Kalibrasyonu	21
Negatif ve Pozitif Kontroller	21
Dâhilî Kalibratör/Dâhilî Kontrol	21
Sonuçların Yorumlanması	22
Sınırlamalar	23
Analitik Performans	24
3. DSÖ Uluslararası Standardı Kullanılarak Tespit Limiti	24
HBV Genotiplerinde Tespit Sınırı	24
Doğrusal Aralık	25
HBV Genotipleri Arasında Doğrusallık	26
3. DSÖ Uluslararası Standardını Kullanarak Kantitasyon Alt Limiti	26
HBV Genotipleri Arasında Kantitasyon Alt Limiti	28
3. DSÖ Uluslararası Standardına göre izlenebilirlik	30
Hassasiyet	30
Potansiyel Enterferans Maddeleri	32
Analitik Özgüllük	34
Matris Eş Değerliği	35
Aptima Örnek Seyreltici (1:3) Kullanılarak Numune Seyreltme	35
Aptima Örnek Seyreltici Kullanılarak Numune Seyreltme (1:100)	36
Aptima Örnek Seyrelticide Seyreltilmiş Örneklerde LLoQ'nun Doğrulanması	38
Seyreltilmiş Numunelerin Hassasiyeti	38
Taşınma	39
Tekrarlanabilirlik	39
Klinik Performans	41
Yöntem Korelasyonu	41
Klinik Fayda	41
Kaynakça	50
İletişim Bilgileri ve Revizyon Geçmişi	51

Genel Bilgiler

Kullanım Amacı

Aptima® HBV Quant testi, tam otomatik Panther™ sisteminde insan plazması ve serumundaki hepatit B virüsü (HBV) DNA'sının kantitasyonu için bir *in vitro* nükleik asit amplifikasyon testidir.

Plazma, etilendiamintetraasetik asit (EDTA), antikoagülan sitrat dekstroz (ACD) çözeltisi ve plazma hazırlama tüplerinde (PPT'ler) hazırlanabilir. Serum, serum tüplerinde ve serum ayırıcı tüplerde (SST'ler) hazırlanabilir. Örnekler, numune işleme, amplifikasyon ve kantitasyon için tam otomatik Panther sistemi kullanılarak test edilir. HBV genotipleri A, B, C, D, E, F, G ve H içeren örnekler, testte kantitasyon için doğrulanmıştır.

Aptima HBV Quant testi, HBV antiviral ilaç tedavisi gören kronik HBV enfeksiyonlu hastaların yönetiminde yardımcı olarak kullanılmak üzere tasarlanmıştır. Test, tedaviye viral yanıtın değerlendirilmesine yardımcı olmak için başlangıçta ve tedavi sırasında HBV DNA seviyelerini ölçmek için kullanılabilir. Aptima HBV Quant testinden elde edilen sonuçlar, ilgili tüm klinik ve laboratuvar bulguları bağlamında yorumlanmalıdır.

Aptima HBV Quant testi, kan veya kan ürünlerinde HBV DNA varlığı yönünden bir tarama testi olarak veya HBV enfeksiyonunun varlığını doğrulamak için bir tanı testi olarak kullanılmak üzere tasarlanmamıştır.

Testin Özeti ve Açıklaması

Hepatite neden olduğu bilinen birkaç virüsten biri olan hepatit B virüsü, yaşam boyu HBV enfeksiyonu, karaciğer sirozu, karaciğer kanseri, karaciğer yetmezliği ve potansiyel olarak ölümle ilişkilendirilmiştir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO), HBV'yi dünyanın en yaygın bulaşıcı hastalıklarından biri olarak listelemektedir. HBV enfeksiyonunun yaygınlığı ve bulaşma yöntemi dünya çapında büyük farklılıklar göstermektedir. 2019 yılında dünya çapında yaklaşık 296 milyon insanın kronik HBV enfeksiyonuyla yaşadığı tahmin edilmektedir.¹ HBV enfeksiyonu; karaciğer dekompanseasyonu, siroz ve hepatoselüler karsinom (HCC) riskinin artmasına neden olur ve dünya çapında her yıl 0,5 ila 1,2 milyon ölüme yol açmakta ve karaciğer nakli vakalarının %5-10'unu oluşturmaktadır.^{2,3} Tanıdan sonra uygun tedavi, müdahale ve izleme olmadan, 5 yıllık kümülatif siroz insidansı %8-20 arasında değişmektedir. Siroz geliştikten sonra, yıllık hepatoselüler karsinom riski %2-5'tir.⁴

HBV; polimeraz, yüzey, ön çekirdek/çekirdek ve X proteinlerini eksprese eden dört kısmen örtüşen açık okuma çerçevesini (ORF) kodlayan yaklaşık 3200 baz çiftinden oluşan dairesel, kısmen çift sarmallı bir DNA genomu içerir. Polimeraz ORF, diğer üç ORF ile örtüşür ve önemli bir viral replikasyon proteini olan polimerazı kodlar. Yüzey ORF'si; viral morfogenez, hepatositlere viral giriş için gerekli olan ve konağın bağışıklık yanıtını provoke eden üç proteini eksprese eder.⁵ 8 HBV genotipi (A-H) vardır ve bunlar tipik olarak farklı coğrafi konumlarda bulunur.

Kronik hepatit B enfeksiyonunun dinamik yapısı nedeniyle HBV DNA ve alanin aminotransferaz (ALT) düzeylerinin sürekli izlenmesi önemlidir.⁶ Antiviral tedavi gören HBV enfeksiyonlu bireylerin çoğunda amaç, HBV DNA'sının baskılanmasıdır. Geniş doğrusal aralığa sahip kantitatif nükleik asit testleri, tedavi süresince HBV DNA viral yükünü izlemek için etkili araçlardır.

Prosedür Esasları

Aptima HBV Quant testi, HBV DNA, genotip A, B, C, D, E, F, G ve H'yi ölçmek için Panther sistemi üzerinde gerçek zamanlı transkripsiyon aracılı amplifikasyon (TMA) teknolojisini kullanan bir *in vitro* nükleik asit amplifikasyon testidir. Aptima HBV Quant testi, polimeraz ve yüzey genlerinde (potansiyel mutasyonlara karşı artan tolerans için) yüksek oranda korunmuş iki bölgeyi hedefler. Test, 3. DSÖ Uluslararası Hepatit B Virüsü Standardına göre standart hâle getirilmiştir (NIBSC kodu: 10/264).

Aptima HBV Quant testi, hepsi Panther sisteminde tek bir tüpte gerçekleşen; hedef yakalama, TMA ile hedef amplifikasyonu ve floresan etiketli probalar (fenerler) ile amplifikasyon ürünlerinin (amplikon) tespiti olmak üzere üç ana adımı içerir.

Hedef yakalama esnasında viral DNA, örneklerden izole edilir. Örnek; viral zarfı çözündürmek, proteinleri denatüre etmek ve viral genomik DNA'yı serbest bırakmak için bir deterjanla işlem görür. Test örneğinde varsa, HBV DNA'nın yüksek oranda korunmuş bölgelerine hibridize oligonükleotidler yakalanır. Hibridize edilen hedef daha sonra manyetik alan içerisinde örnekten ayrılan manyetik mikro parçacıklar üzerinde yakalanır. Yıkama adımları, yabancı bileşenleri reaksiyon tüpünden uzaklaştırır.

Hedef amplifikasyonu, Moloney fare lösemi virüsü (MMLV) ters transkriptaz ve T7 RNA polimeraz olmak üzere iki enzimi kullanan bir transkripsiyon aracılı nükleik asit amplifikasyon yöntemi olan TMA aracılığıyla gerçekleşir. Ters transkriptaz, hedef dizinin bir DNA kopyasını (T7 RNA polimerazı için bir promotor dizisi bulunur) oluşturmak için kullanılır. T7 RNA polimeraz, DNA kopya şablonundan birden fazla RNA amplikon kopyası üretir. Aptima HBV Quant testi, HBV genomunun iki bölgesini (polimeraz geni ve yüzey geni) çoğaltmak için TMA yöntemini kullanır. Bu bölgelerin amplifikasyonu, HBV genotipleri A, B, C, D, E, F, G ve H'yi çoğaltmak için tasarlanmış spesifik primerler kullanılarak elde edilir. Yüksek oranda korunmuş bölgeleri hedefleyen primer tasarımı çift hedef bölge yaklaşımı, HBV DNA'sının doğru kantitasyonunu sağlar.

Tespit, hedefin amplifikasyonu esnasında mevcut bulunan, özellikle amplikona gerçek zamanlı olarak hibridize olan tek sarmallı nükleik asit fenerleri kullanılarak gerçekleştirilir. Her fenerde bir florofor ve bir söndürücü bulunur. Fener amplikonla hibridize edilmediğinde söndürücü florofora yakın mesafede olup floresansı baskılar. Fener amplikona bağlandığında, söndürücü florofordan uzaklaşır ve bir ışık kaynağı tarafından uyarıldığında belirli bir dalga boyunda bir sinyal yayar. Daha fazla fener amplikonla hibridize oldukça daha yüksek bir floresan sinyali üretilir. Floresan sinyalinin belirli bir eşiğe ulaşması için geçen süre, başlangıç HBV konsantrasyonu ile orantılıdır. Her reaksiyonda numune işleme, amplifikasyon ve tespitteki değişiklikleri kontrol eden bir dâhilî kalibratör/dâhilî kontrol (IC) bulunur. Bir numunenin konsantrasyonu, her reaksiyon için HBV ve IC sinyalleri kullanılarak ve bunları kalibrasyon bilgileriyle karşılaştırarak Panther sistem yazılımı tarafından belirlenir.

Güvenlilik ve Performans Özeti

SSP (Güvenlilik ve Performans Özeti), cihaz tanımlayıcılarına (Temel UDI-DI) bağlı olduğu Avrupa tıbbi cihazlar veri tabanında (Eudamed) mevcuttur. Aptima HBV Quant testine ait SSP'yi bulmak için Temel Benzersiz Cihaz Tanımlayıcısına (BUDI) bakın: 54200455DIAGAPTHBVA.

Uyarılar ve Önlemler

- A. *In vitro* diagnostik kullanım için.
- B. Profesyonel kullanım için.
- C. Geçersiz sonuç riskini azaltmak için bu testi gerçekleştirmeden önce kullanım talimatının tamamını ve *Panther/Panther Fusion™ Sistemi Kullanıcı Kılavuzunu* dikkatlice okuyun.
- D. Hedef Geliştirici Reaktif (TER) aşındırıcıdır. Bu bölümün sonundaki Güvenlik Veri Sayfası bilgilerine bakınız.

Laboratuvarla İlgili

- E. **DİKKAT:** Bu testin kontrollerinde insan plazması bulunmaktadır. Plazma, ABD Gıda ve İlaç Dairesi'nin lisanslı prosedürlerine göre test edildiğinde, Hepatit B yüzey antijeni (HBsAg), HCV antikorları, HIV-1 ve HIV-2 antikorları ve HIV antijeni açısından reaktif değildir. Ek olarak, plazma, lisanslı nükleik asit testleri ile test edildiğinde HBV DNA, HCV RNA ve HIV-1 RNA için reaktif değildir. İnsan kanından elde edilen tüm materyaller potansiyel olarak bulaşıcı kabul edilmeli ve Evrensel Önlemlerle işlenmelidir.^{7,8,9}
- F. Bu prosedürleri yalnızca Aptima HBV Quant testinin kullanımı ve potansiyel olarak bulaşıcı materyallerle işlemler konusunda yeterince eğitime sahip personel gerçekleştirmelidir. Dökülmesi durumunda, uygun çalışma merkezi prosedürlerini izleyerek hemen dezenfekte edin.
- G. Yalnızca sağlanan veya belirtilen tek kullanımlık laboratuvar malzemelerini kullanın.
- H. Rutin laboratuvar önlemlerini kullanın. Ağız yoluyla pipet kullanmayın. Belirlenen çalışma alanlarında herhangi bir şey yiyip içmeyin veya sigara içmeyin. Örnekleri ve kit reaktiflerini kullanırken tek kullanımlık, pudrasız eldivenler, koruyucu gözlük ve laboratuvar önlükleri kullanın. Örnekleri ve kit reaktiflerini kullandıktan sonra ellerinizi iyice yıkayın.
- I. Çalışma yüzeyleri, pipetler ve diğer ekipmanlar %2,5 ila %3,5 (0,35 M ila 0,5 M) sodyum hipoklorür çözeltisiyle düzenli olarak dekontamine edilmelidir.
- J. Örnekler ve reaktiflerle temas eden tüm materyalleri yerel, eyalet düzeyindeki ve federal yönetmeliklere göre bertaraf edin.^{7,8,9,10} Tüm çalışma yüzeylerini iyice temizleyin ve dezenfekte edin.
- K. Kontrollerde koruyucu olarak sodyum azit bulunmaktadır. Reaktif aktarımı için metal boru kullanmayın. Sodyum azit bileşiklerin bulunduğu çözeltiler sıhhi tesisat sistemine atılacaksa seyreltilmeli ve bol miktarda akan suyla yıkanmalıdır. Bu önlemler, metal borularda tortu birikmesiyle oluşabilen patlayıcı koşulları önlemek için önerilmektedir.
- L. Moleküler laboratuvarlara yönelik iyi standart uygulamalar arasında çevresel izleme de yer alır. Bir laboratuvar ortamını izlemek için aşağıdaki prosedür önerilir:
 - 1. Pamuklu bir çubuk alın ve Aptima Örnek Alikot Tüpü (SAT) ile eşleştirin.
 - 2. Her SAT'yi uygun şekilde etiketleyin.
 - 3. Her SAT'yi 1 ml Aptima Örnek Seyreltici ile doldurun.
 - 4. Yüzey numunelerini toplamak için bir sürüntü çubuğunu nükleaz içermeyen deiyonize suyla hafifçe nemlendirin.
 - 5. İlgili yüzeyi yukarıdan aşağıya doğru dikey hareketlerle silin. Bölgeyi temizlerken çubuğu yaklaşık yarım tur döndürün.

6. Sürüntü numunesini hemen tüpe yerleştirin ve sürüntüye bulaşabilecek maddeleri çıkarmak için sürüntüyü seyreltici içinde yavaşça döndürün. Taşıma tüpünün yan tarafındaki çubuğu bastırarak mümkün olduğunca fazla sıvıyı çıkarın. Pamuklu çubuğu atıp tüpün kapağını kapatın.
7. Kalan sürüntü numuneleri için adımları tekrarlayın.
8. Moleküler testli test çubuğu.

Örnekle İlgili

- M. Örnekler enfeksiyöz olabilir. Bu testi gerçekleştirirken Evrensel Önlemleri^{7,8,9} kullanın. Yerel yönetmeliklere uygun işleme ve bertaraf yöntemleri belirlenmelidir.¹⁰ Bu prosedür yalnızca Aptima HBV Quant testinin kullanımı konusunda yeterli eğitim almış ve bulaşıcı materyallerin işlenmesi konusunda eğitim almış personel tarafından gerçekleştirilmelidir.
- N. Örneğin bütünlüğünü korumak için örnek gönderimi sırasında uygun saklama koşullarını koruyun. Örneğin önerilenler dışında kalan gönderim koşullarındaki stabilitesi değerlendirilmemiştir.
- O. Numune işleme adımları sırasında çapraz kontaminasyondan kaçının. Örnekleri gevşetirken veya kapaklarını açarken aerosollerin yayılmasıyla oluşabilecek kontaminasyonu önlemek için özellikle dikkatli olun. Örneklerde son derece yüksek düzeylerde organizma bulunabilir. Örnek kaplarının birbirine temas etmediğinden emin olun ve kullanılmış materyalleri açık kapların üzerinden geçirmeden atın. Örnekle temas hâlinde eldivenleri değiştirin.

Testle İlgili

- P. Reaktif kitini, kalibratörü veya kontrolleri son kullanma tarihinden sonra kullanmayın.
- Q. Farklı ana lot numaralarına sahip kitlerdeki test reaktiflerini birbiriyle değiştirmeyin, karıştırmayın veya birleştirmeyin. Test sıvıları farklı lot numaralarından olabilir. Kontroller ve kalibratör farklı lot numaralarından olabilir.
- R. Reaktiflerin mikrobiyal ve nükleaz kontaminasyonundan kaçınılmalıdır.
- S. Tüm test reaktiflerini kapaklarını kapatıp belirtilen sıcaklıklarda saklayın. Uygun şekilde saklamayan test reaktiflerinin kullanılmasını testin performansını etkileyebilir. Daha fazla bilgi için bkz. *Reaktif Saklama ve Taşıma Gereklilikleri ve Panther Sistemi Test Prosedürü*.
- T. Özel talimat olmadan hiçbir test reaktifini veya sıvısını birleştirmeyin. Reaktiflere veya sıvılara ekleme yapmayın. Panther sistemi, reaktif düzeylerini doğrular.
- U. TER'nin cilt, gözler ve mukozayla temasından kaçının. Bu reaktifle temasları hâlinde suyla yıkayın. Bu reaktifin dökülmesi durumunda suyla seyreltin ve uygun saha prosedürlerini izleyin.
- V. Bu kitin bazı reaktifleri tehlike bilgileriyle etiketlenmiştir.

Not: Tehlike iletişimi, AB Güvenlik Veri Sayfaları (SDS) sınıflandırmalarını yansıtmaktadır. Bölgenize özel tehlike iletişimi bilgileri için www.hologicsds.com adresindeki Güvenlik Veri Sayfası Kitaplığında bulunan bölgeye özel SDS'ye bakın. Semboller hakkında daha fazla bilgi için <https://www.hologic.com/package-inserts> adresindeki sembol açıklamalarına bakın.

Kuzey Amerika Tehlike Bilgileri	
	HBV VL Kit Kontrolleri <i>İnsan Serumu / İnsan Plazması %95-100</i> <i>Sodyum azid <%1</i>
 	Hedef Geliştirici Reaktif <i>Lithium Hydroxide, Monohydrate %5-10</i> — — TEHLİKE H302 - Yutulması hâlinde zararlıdır. H314 - Ciddi cilt yanıklarına ve göz hasarına yol açar. P264 - Elleçlemeden sonra yüzü, elleri ve maruz kalan cildi iyice yıkayın. P270 - Bu ürünü kullanırken hiçbir şey yemeyin, içmeyin veya sigara içmeyin. P330 - Ağızınızı çalkalayın. P501 - İçeriği/kabı onaylı bir atık bertaraf etme tesisinde bertaraf edin. P260 - Tozları Tozunu/dumanını/gazını/sisini/buharını/spreyini solumayın. P280 - Koruyucu eldiven/koruyucu kıyafet/göz koruyucu/yüz koruyucu kullanın. P301 + P330 + P331 - YUTULDUĞUNDA: Ağız çalkalayın. İstifra etmeye ÇALIŞMAYIN. P303 + P361 + P353 - CİLT (veya saç) ÜZERİNDE İSE: Bütün kirlenmiş giysileri hemen çıkarın. Cildi su ile durulayın [veya duş alın]. P304 + P340 - SOLUNDUĞUNDA: Zarar gören kişiyi temiz havaya çıkartın ve kolay biçimde nefes alması için rahat bir pozisyonda tutun. P305 + P351 + P338 - GÖZLERDE İSE: Birkaç dakika su ile dikkatlice durulayın. Kontakt lens varsa ve kolaysa çıkartın. Durulamaya devam edin. P321 - Özel müdahale gerekli (bu etiket üzerindeki ilave ilk yardım talimatlarına bakınız). P363 - Kirlenmiş giysilerinizi yeniden kullanmadan önce yıkayın. P405 - Kilit altında saklayın. P301 + P317 - YUTULMASI HALİNDE: Tıbbi yardım alın. P316 - Hemen acil tıbbi yardım alın.
AB Tehlike Bilgileri	
—	Amplifikasyon Reaktif <i>Magnezyum Klorür %60-65</i> — H412 - Sucul ortamda uzun süre kalıcı, zararlı etki. P273 - Çevreye verilmesinden kaçının. P501 - İçeriği/kabı onaylı bir atık bertaraf etme tesisinde bertaraf edin.
—	Enzim Reaktif <i>HEPES %1-5</i> <i>Triton X -100 %1-5</i> — H412 - Sucul ortamda uzun süre kalıcı, zararlı etki. P273 - Çevreye verilmesinden kaçının. P501 - İçeriği/kabı onaylı bir atık bertaraf etme tesisinde bertaraf edin.
—	Enzim Rekonstitüsyon Çözeltisi <i>Gliserol %20-25</i> <i>Triton X -100 %5-10</i> <i>HEPES %1-5</i> — H412 - Sucul ortamda uzun süre kalıcı, zararlı etki. P273 - Çevreye verilmesinden kaçının. P501 - İçeriği/kabı onaylı bir atık bertaraf etme tesisinde bertaraf edin.

—	Promotör Reaktif <i>Magnezyum Klorür %60-65</i> H412 - Sucul ortamda uzun süre kalıcı, zararlı etki. P273 - Çevreye verilmesinden kaçının. P501 - İçeriği/kabı onaylı bir atık bertaraf etme tesisinde bertaraf edin.
—	Hedef Yakalama Reaktif <i>HEPES %15-20</i> <i>Lauryl Sulfate Lithium Salt %5-10</i> <i>Süksinik Asit %1-5</i> <i>Lithium Hydroxide, Monohydrate %1-5</i> H412 - Sucul ortamda uzun süre kalıcı, zararlı etki. P273 - Çevreye verilmesinden kaçının. P501 - İçeriği/kabı onaylı bir atık bertaraf etme tesisinde bertaraf edin.
—	HBV VL Kit Kalibratörleri <i>HEPES %15-20</i> <i>Lauryl Sulfate Lithium Salt %5-10</i> <i>Süksinik Asit %1-5</i> <i>Lithium Hydroxide, Monohydrate %1-5</i> H412 - Sucul ortamda uzun süre kalıcı, zararlı etki. P273 - Çevreye verilmesinden kaçının. P501 - İçeriği/kabı onaylı bir atık bertaraf etme tesisinde bertaraf edin.
  	HBV VL Kit Kontrolleri <i>İnsan Serumu / İnsan Plazması %95-100</i> <i>Sodyum azid <%1</i> TEHLİKE H300 - Yutulması halinde öldürücüdür. H410 - Sucul ortamda uzun süre kalıcı, çok toksik etki. P264 - Elleçlemeden sonra yüzü, elleri ve maruz kalan cildi iyice yıkayın. P273 - Çevreye verilmesinden kaçının. P301 + P310 - YUTULDUĞUNDA: ULUSAL ZEHİR DANIŞMA MERKEZİNİN 114 NOLU TELEFONUNU veya doktoru/hekimi arayın. P321 - Özel müdahale gerekli (bu etiket üzerindeki ilave ilk yardım talimatlarına bakınız). P330 - Ağızınızı çalkalayın. P391 - Döküntüleri toplayın.
 	Hedef Geliştirici Reaktif <i>Lithium Hydroxide, Monohydrate %5-10</i> TEHLİKE H302 - Yutulması hâlinde zararlıdır. H314 - Ciddi cilt yanıklarına ve göz hasarına yol açar. P264 - Elleçlemeden sonra yüzü, elleri ve maruz kalan cildi iyice yıkayın. P270 - Bu ürünü kullanırken hiçbir şey yemeyin, içmeyin veya sigara içmeyin. P330 - Ağızınızı çalkalayın. P501 - İçeriği/kabı onaylı bir atık bertaraf etme tesisinde bertaraf edin. P260 - Tozunu/dumanını/gazını/sisini/buharını/spreyini solumayın. P280 - Koruyucu eldiven/koruyucu kıyafet/göz koruyucu/yüz koruyucu kullanın. P301 + P330 + P331 - YUTULDUĞUNDA: Ağız çalkalayın. İstifra etmeye ÇALIŞMAYIN. P303 + P361 + P353 - CİLT (veya saç) ÜZERİNDE İSE: Bütün kirlenmiş giysileri hemen çıkarın. Cildi su ile durulayın [veya duş alın]. P304 + P340 - SOLUNDUĞUNDA: Zarar gören kişiyi temiz havaya çıkartın ve kolay biçimde nefes alması için rahat bir pozisyonda tutun. P305 + P351 + P338 - GÖZLERDE İSE: Birkaç dakika su ile dikkatlice durulayın. Kontakt lens varsa ve kolaysa çıkartın. Durulamaya devam edin. P310 - Hemen ULUSAL ZEHİR DANIŞMA MERKEZİNİN 114 NOLU TELEFONUNU veya doktoru/hekimi arayın. P321 - Özel müdahale gerekli (bu etiket üzerindeki ilave ilk yardım talimatlarına bakınız). P363 - Kirlenmiş giysilerinizi yeniden kullanmadan önce yıkayın. P405 - Kilit altında saklayın.

Reaktif Saklama ve Taşıma Gereklilikleri

- A. Aşağıdaki tabloda reaktifler, kontroller ve kalibratör için saklama koşulları ve stabilite gösterilmiştir.

Reaktif	Açılmamış Hâlde Saklama	Açık Kit (Rekonstitüye Edilmiş)	
		Saklama	Stabilite
qHBV Amplifikasyon Reaktifi	2 °C ila 8 °C		
qHBV Amplifikasyon Rekonstitüsyon Çözeltisi	2 °C ila 8 °C	2 °C ila 8 °C	30 gün ^a
qHBV Enzim Reaktifi	2 °C ila 8 °C		
qHBV Enzim Rekonstitüsyon Çözeltisi	2 °C ila 8 °C	2 °C ila 8 °C	30 gün ^a
qHBV Promotör Reaktifi	2 °C ila 8 °C		
qHBV Promotör Rekonstitüsyon Çözeltisi	2 °C ila 8 °C	2 °C ila 8 °C	30 gün ^a
qHBV Hedef Yakalama Reaktifi	2 °C ila 8 °C	2 °C ila 8 °C	30 gün ^a
qHBV PCAL (Pozitif Kalibratör)	-15 °C ila -35 °C	15 °C ila 30 °C	Tek kullanımlık flakon 24 saat içinde kullanın
qHBV NC KONTROL – (Negatif Kontrol)	-15 °C ila -35 °C	15 °C ila 30 °C	Tek kullanımlık flakon 24 saat içinde kullanın
qHBV LPC KONTROL + (Düşük Pozitif Kontrol)	-15 °C ila -35 °C	15 °C ila 30 °C	Tek kullanımlık flakon 24 saat içinde kullanın
qHBV HPC KONTROL + (Yüksek Pozitif Kontrol)	-15 °C ila -35 °C	15 °C ila 30 °C	Tek kullanımlık flakon 24 saat içinde kullanın
qHBV Hedef Geliştirici Reaktif	15 °C ila 30 °C	15 °C ila 30 °C	30 gün ^a

^a Reaktifler Panther sisteminden çıkarıldığında derhâl uygun saklama sıcaklıklarına geri getirilmelidir.

- B. Kullanılmayan rekonstitüye reaktifleri, hedef yakalama reaktifini (TCR) ve hedef geliştirici reaktif (TER) 30 gün sonra veya Ana Lot son kullanma tarihinden sonra (hangisi önce geliyorsa) atın.
- C. Panther sisteminde saklanan reaktifler 72 saatlik stabiliteye sahiptir. Reaktifler Panther sistemine en fazla 8 kez yüklenebilir. Panther sistemi reaktiflerin her yüklenişini günlüğe alır.
- D. Kalibratör çözüldükten sonra çözelti berrak olmalıdır; başka bir deyişle bulanık olmamalı ya da tortu içermemelidir. Çökeltilerin çözüldüğünden emin olun. Jelleşme, çökelti veya bulanıklık varsa kalibratörü kullanmayın.
- E. Promotör reaktif ve rekonstitüye promotör reaktif ışığa duyarlıdır. Bu reaktifleri saklama ve kullanıma hazırlama sırasında ışıktan koruyun.
- F. qHBV Hedef Geliştirici Reaktif, kullanımdan önce 15 °C ila 30 °C'de olmalıdır.

Örnek Toplama ve Saklama

Not: Tüm örnekleri, içeriğinde potansiyel olarak bulaşıcı ajanlar varmış gibi işleyin. Evrensel Önlemleri uygulayın.

Not: Numune işleme adımları sırasında çapraz bulaşmayı önlemeye dikkat edin. Örneğin, kullanılmış malzemeyi açık tüplerin üzerinden geçirmeden atın.

Not: Saklama için sadece plastik ikincil tüpler önerilmektedir.

Aşağıdaki cam veya plastik tüplerde toplanan tam kan örnekleri şu şekillerde kullanılabilir:

- Etilendiamintetraasetik asit (EDTA) veya asit sitrat dekstroz (ACD) antikoagülanların bulunduğu tüpler
- Plazma hazırlama tüpleri
- Serum tüpleri
- Serum ayırıcı tüpler

Serum için, daha fazla işleme sokmadan önce pıhtı oluşmasına izin verin.

A. Örnek Toplama

Tam kan 2 °C ile 30 °C arasında 24 saate kadar saklanabilir ve plazma, işlenmeden önce birincil tüpte santrifüj yoluyla ayrılmalıdır. Kullanılan tüpün üreticisinin talimatlarını izleyerek plazmayı veya serumu kırmızı kan hücrelerinden ayırın. Plazma veya serum, Panther sistemi üzerinde bir birincil tüpte test edilebilir veya Aptima® Örnek Alikot Tüpü gibi ikincil bir tüpe aktarılabilir. 500 µl reaksiyon hacmini elde etmek için birincil toplama tüplerinde plazma veya serumun minimum hacmi en çok 1200 µl, ikincil tüplerde ise minimum hacim 700 µl'dir. Aşağıdaki tabloda her birincil ve ikincil tüp tipi için ölü hacim gereklilikleri belirtilmiştir.

Tüp (Boyut ve Tip)	Panther'de Ölü Hacim
Aptima Örnek Alikot Tüpü (SAT)	0,2 ml
12x75 mm	0,5 ml
13x100 mm	0,5 ml
13x100 mm, Jelli	0,3 ml
16x100 mm, Jelli	0,7 ml

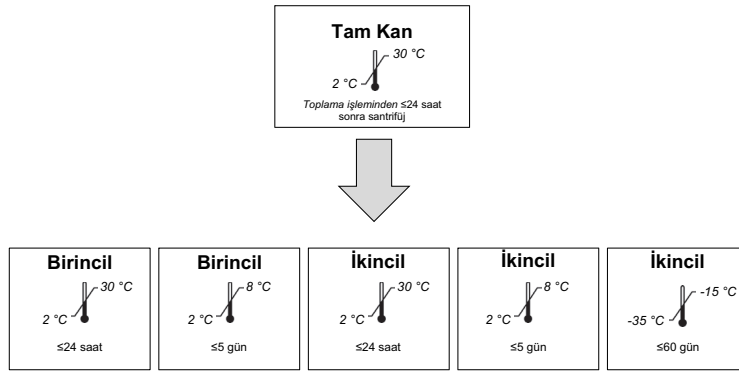
Hemen test yapılmayacaksa plazma ve serumlar burada belirtilen şartlara uygun olarak saklanabilir. SAT veya ikincil bir tüpe aktarılacaksa plazma veya serum -20 °C'de dondurulabilir. 3 dondurma-çözme döngüsünden fazla olmamalıdır. EDTA, ACD veya serum birincil toplama tüplerindeki örnekleri dondurmayın.

B. Örnek Saklama Koşulları

1. EDTA ve ACD Plazma Örnekleri

Tam kan 2 °C ile 30 °C arasında saklanabilir; örnek toplanmasını izleyen 24 saat içinde santrifüj uygulanmalıdır. Plazma daha sonra aşağıda belirtilen koşullardan biri sağlanarak saklanabilir:

- 24 saate kadar 2 °C ile 30 °C'de birincil toplama tüpünde veya ikincil tüpte,
- Birincil toplama tüpünde veya ikincil tüpte 2 °C ile 8 °C arası sıcaklıkta 5 güne kadar veya
- İkincil tüpte -20 °C'de 60 güne kadar.

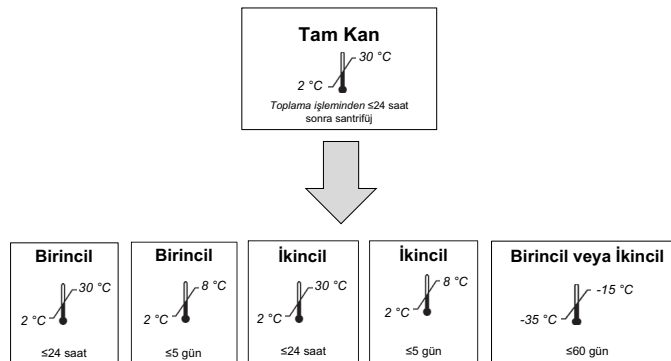


Şekil 1. EDTA/ACD Tüpleri için Saklama Koşulları

2. PPT Örnekleri

Tam kan 2 °C ile 30 °C arasında saklanabilir; örnek toplanmasını izleyen 24 saat içinde santrifüj uygulanmalıdır. Plazma daha sonra aşağıda belirtilen koşullardan biri sağlanarak saklanabilir:

- PPT veya ikincil tüpte 2 °C ile 30 °C'de 24 saate kadar,
- PPT veya ikincil tüpte 2 °C ile 8 °C'de 5 güne kadar veya
- PPT veya ikincil tüpte -20 °C'de 60 güne kadar.

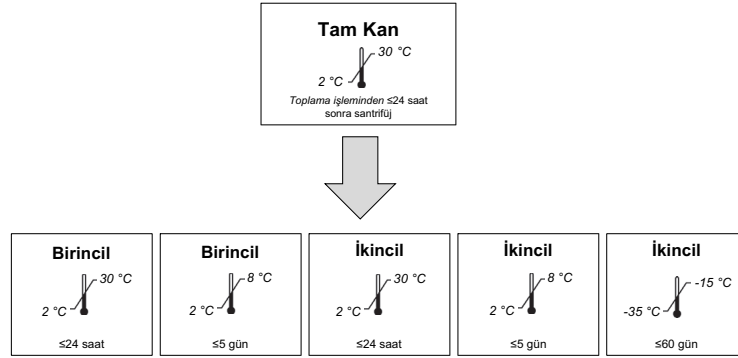


Şekil 2. PPT'ler için Saklama Koşulları

3. Serum Tüpü Örnekleri

Tam kan 2 °C ile 30 °C arasında saklanabilir; örnek toplanmasını izleyen 24 saat içinde santrifüj uygulanmalıdır. Serum daha sonra aşağıdaki koşullardan biri sağlanarak saklanabilir:

- Serum tüpünde veya ikincil tüpte 2 °C ile 30 °C'de 24 saate kadar,
- Serum tüpünde veya ikincil tüpte 2 °C ile 8 °C'de 5 güne kadar veya
- İkincil tüpte -20 °C'de 60 güne kadar.

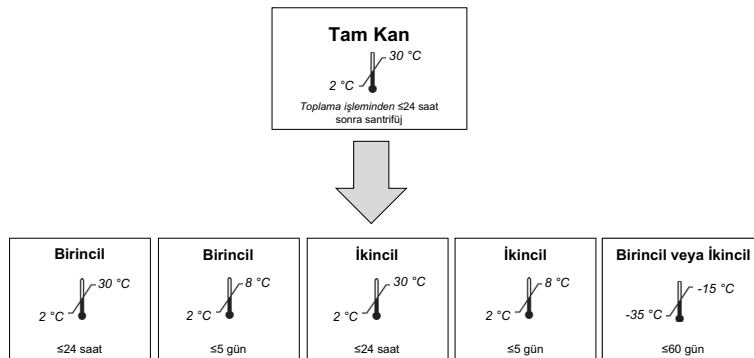


Şekil 3. Serum Tüpleri için Saklama Koşulları

4. SST Örnekleri

Tam kan 2 °C ile 30 °C arasında saklanabilir; örnek toplanmasını izleyen 24 saat içinde santrifüj uygulanmalıdır. Serum daha sonra aşağıdaki koşullardan biri sağlanarak saklanabilir:

- SST veya ikincil tüpte 2 °C ile 30 °C'de 24 saate kadar,
- SST veya ikincil tüpte 2 °C ile 8 °C'de 5 güne kadar veya
- SST veya ikincil tüpte -20 °C'de 60 güne kadar.



Şekil 4. SST'ler için Saklama Koşulları

C. Uzun Süreli Dondurulmuş Saklama

Plazma veya serum numuneleri, SAT'lerde -70 °C'de 60 güne kadar saklanabilir.

D. Plazma ve Serum Örneklerinin Seyreltilmesi

Plazma ve serum örnekleri, Panther sistemi üzerinde test etmek için SAT veya ikincil bir tüpte seyretililebilir. Daha fazla bilgi için aşağıdaki *Panther Sistemi Test Prosedürü* bölümünde, E.5 adımına bakın.

Not: Örnek seyretilmişse seyretildikten hemen sonra test edilmelidir. Seyretilmiş örneği dondurmayın.

Panther Sistemindeki Yerleşik Numuneler

Numuneler Panther sisteminde 8 saate kadar kapaksız şekilde bırakılabilir. Numuneler, Panther sistemi tarafından pipetlenmeden önce yerleşik toplam süre 8 saati geçmediği sürece Panther sisteminden çıkarılıp test edilebilir.

Örneklerin Taşınması

Numune saklama koşullarının *Örnek Toplama ve Saklama* bölümünde açıklandığı şekilde olmasını sağlayın.

Not: Örnekler yürürlükteki ulusal, uluslararası ve bölgesel nakliye yönetmeliklerine uygun olarak sevk edilmelidir.

Panther Sistemi

Aptima HBV Quant testi için reaktifler Panther sistemi için aşağıda listelenmiştir. Reaktif adının yanında reaktif tanımlama sembolleri de listelenmiştir.

Sağlanan Reaktifler ve Malzemeler

Aptima HBV Quant Test Kiti, 100 test (Kat. No. PRD-03424)

(1 test kutusu, 1 kalibratör kiti, 1 kontrol kiti ve 1 Hedef Geliştirici Reaktif kutusu)

Ek kalibratörler ve kontroller ayrı olarak sipariş edilebilir. Aşağıdaki bireysel katalog numaralarına bakın.

Aptima HBV Quant Test Kutusu

(teslim aldıktan sonra 2 °C ila 8 °C'de saklayın)

Sembol	Bileşen	Miktar
A	qHBV Amplifikasyon Reaktifi <i>Tamponlu çözeltide kurutulmuş bulaşıcı olmayan nükleik asitler.</i>	1 flakon
E	qHBV Enzim Reaktifi <i>HEPES tamponlu çözeltide kurutulmuş ters transkriptaz ve RNA polimeraz.</i>	1 flakon
PRO	qHBV Promotör Reaktifi <i>Tamponlu çözeltide kurutulmuş bulaşıcı olmayan nükleik asitler.</i>	1 flakon
AR	qHBV Amplifikasyon Rekonstitüsyon Çözeltisi <i>Gliserol ve koruyucu maddeler içeren sulu çözelti.</i>	1 x 7,2 ml
ER	qHBV Enzim Rekonstitüsyon Çözeltisi <i>Bir sürfaktan ve gliserol içeren HEPES tamponlu çözelti.</i>	1 x 5,8 ml
PROR	qHBV Promotör Rekonstitüsyon Çözeltisi <i>Gliserol ve koruyucu maddeler içeren sulu çözelti.</i>	1 x 4,5 ml
TCR	qHBV Hedef Yakalama Reaktifi <i>Tamponlu tuz solüsyonu içinde katı fazda bulunan nükleik asitler, bulaşıcı olmayan nükleik asitler ve Dâhilî Kalibratör.</i>	1 x 72,0 ml
	Rekonstitüsyon Manşonları	3
	Ana Lot Barkod Sayfası	1 sayfa

Aptima HBV Quant Kalibratör Kiti (Kat. No. PRD-03425)

(teslim aldıktan sonra -15 °C ila -35 °C'de saklayın)

Sembol	Bileşen	Miktar
PCAL	qHBV Pozitif Kalibratör <i>Tamponlu çözeltide plazmid DNA</i>	5 x 2,5 ml
	Kalibratör Barkod Etiketi	—

Aptima HBV Quant Kontrol Kiti (Kat. No. PRD-03426)
 (teslim aldıktan sonra -15 °C ila -35 °C'de saklayın)

Sembol	Bileşen	Miktar
NC	qHBV Negatif Kontrol <i>Koruyucu olarak gentamisin ve %0,2 sodyum azit içeren HBV negatif defibrine insan plazması.</i>	5 x 0,8 ml
LPC	qHBV Düşük Pozitif Kontrol <i>Koruyucu olarak gentamisin ve %0,2 sodyum azit içeren defibrine insan plazmasında inaktive HBV pozitif plazma.</i>	5 x 0,8 ml
HPC	qHBV Yüksek Pozitif Kontrol <i>Koruyucu olarak gentamisin ve %0,2 sodyum azit içeren defibrine insan plazmasında inaktive HBV pozitif plazma.</i>	5 x 0,8 ml
	Kontrol Barkod Etiketi	—

Aptima HBV Quant Hedef Geliştirici Reaktif Kutusu
 (teslim aldıktan sonra 15 °C ila 30 °C'de saklayın)

Sembol	Bileşen	Miktar
TER	qHBV Hedef Geliştirici Reaktif <i>Konsantre lityum hidroksit solüsyonu.</i>	1 x 46,0 ml

Gerekli Ancak Ayrı Olarak Temin Edilebilecek Malzemeler

Not: Aksi belirtilmedikçe Hologic'ten temin edilebilen malzemelerin katalog numaraları listelenmiştir.

Malzeme	Kat. No.
Panther™ Sistemi	303095
Panther Fusion™ Sistemi	PRD-04172
Panther™ Sistemi Sürekli Sıvı ve Atık (Panther Plus)	PRD-06067
Aptima® HBV Quant Kalibratör Kiti	PRD-03425
Aptima® HBV Quant Kontrol Kiti	PRD-03426
Gerçek Zamanlı Testler için Panther Çalıştırma Kiti (sadece gerçek zamanlı testler için)	PRD-03455 (5000 test)
Aptima® Test Sıvıları Kiti (Evrensel Sıvı Kiti olarak da bilinir) <i>Aptima® Yıkama Çözeltisi, Aptima® Deaktivasyon Sıvısı Tamponu ve Aptima® Yağ Reaktifleri içerir</i>	303014 (1000 test)
<i>Çoklu tüp üniteleri (MTU'lar)</i>	104772-02
<i>Panther™ Atık Torbası Kiti</i>	902731
<i>Panther™ Atık Kutusu Kapağı</i>	504405
Veya Panther™ Sistem Çalıştırma Kiti <i>(gerçek zamanlı TMA testleriyle paralel olarak gerçek zamanlı olmayan TMA testleri çalıştırıldığında)</i> <i>MTU'lar, atık torbaları, atık kutusu kapakları, otomatik tespit ve test sıvıları içerir</i>	303096 (5000 test)

Malzeme**Kat. No.**

Uçlar, 1000 µl iletkin, sıvı algılama

901121 (10612513 Tecan)

903031 (10612513 Tecan)

Tüm ürünler her bölgede mevcut değildir. Bölgeye özgü bilgiler için temsilcinizle iletişime geçin.

MME-04134 (30180117 Tecan)

MME-04128

Çamaşır suyu, %5 ila %8,25 (0,7 M ila 1,16 M) sodyum hipoklorür çözeltisi

—

Tek kullanımlık, pudrasız eldivenler

—

Yedek, delinmez kapaklar

103036A

Reaktif yedek kapaklar

Amplifikasyon, Enzim ve Promotör reaktifi rekonstitüsyon şişeleri

CL0041 (100 kapak)

TCR şişesi

CL0040 (100 kapak)

TER şişesi

501604 (100 kapak)

Plastik destekli laboratuvar tezgâh örtüleri

—

Tüy bırakmayan mendiller

—

Pipetör

—

Uçlar

—

Birincil toplama tüpü seçenekleri:

13 mm x 100 mm

—

13 mm x 75 mm

—

16 mm x 100 mm

—

Santrifüj

—

Vorteks mikser

—

İsteğe Bağlı Malzemeler**Malzeme****Kat. No.**

İkincil tüp seçenekleri:

12 mm x 75 mm

—

13 mm x 100 mm

—

16 mm x 100 mm

—

Aptima® Örnek Alikot Tüpleri (SAT) (100'lü paket)

FAB-18184

Taşıma Tüpü Kapağı (100'lü paket)

504415

SAT için kapak

Aptima® Örnek Seyreltici

PRD-03003

Aptima® Örnek Seyreltici Kiti

PRD-03478

örnek seyreltici, 100 SAT ve 100 kapak içerir

Taşıma pipetleri

—

Pamuklu çubuklar

—

Tüp sallayıcı

PRD-03488

Panther Sistemi Test Prosedürü

Not: Ek prosedür bilgileri için bkz. *Panther/Panther Füzyon Sistemi Kullanıcı Kılavuzu*.

A. Çalışma Alanının Hazırlanması

1. Reaktiflerin hazırlanacağı çalışma yüzeylerini temizleyin. Çalışma yüzeylerini %2,5 ila %3,5 (0,35 M ila 0,5 M) sodyum hipoklorit çözeltisiyle silin. Sodyum hipoklorit çözeltisinin yüzeylerle en az 1 dakika temas etmesini sağlayın, ardından deiyonize (DI) su ile durulayın. Sodyum hipoklorit çözeltisinin kurumasına izin vermeyin. Tezgâh yüzeyini temiz, plastik destekli, emici laboratuvar tezgâhı örtüleriyle örtün.
2. Numunelerin hazırlanacağı ayrı bir çalışma yüzeyini temizleyin. Yukarıda açıklanan prosedürü kullanın (Adım A.1).
3. Pipetörleri temizleyin. Yukarıda açıklanan temizleme prosedürünü kullanın (Adım A.1).

B. Kalibratörün ve Kontrollerin Hazırlanması

İşleme başlamadan önce kalibratörün ve kontrollerin aşağıdaki gibi 15 °C ila 30 °C sıcaklığa ulaşmasını sağlayın:

1. Kalibratörü ve kontrolleri saklama yerinden (-15 °C ila -35 °C arası) çıkarıp 15 °C ile 30 °C arası sıcaklığa yerleştirin. Çözme işlemi boyunca, her tüpü iyice karışması için yavaşça ters çevirin. Kullanmadan önce tüp içeriğinin tamamen çözöldüğünden emin olun.

Seçenek. Kalibratör ve kontrol tüpleri iyice karışmaları için tüp sallayıcıya yerleştirilebilir. Kullanmadan önce tüp içeriğinin tamamen çözöldüğünden emin olun.

Not: Kalibratörü ve kontrolleri ters çevirirken aşırı köpük oluşmasını önleyin. Köpük, Panther sisteminin seviye algılama özelliğini tehlikeye sokmaktadır.

2. Tüpün içeriği çözöldüğünde, tüpün dışını temiz, kuru, tek kullanımlık bir bezle kurulayın.
3. Kontaminasyonu önlemek için tüpleri bu aşamada açmayın.

C. Reaktif Rekonstitüsyonu/Yeni Kit Hazırlama

Not: Panther sisteminde herhangi bir çalışmaya başlamadan önce reaktiflerin rekonstitüye edilmesi gerekir.

1. TCR'yi hazırlamak için aşağıdakileri yapın:

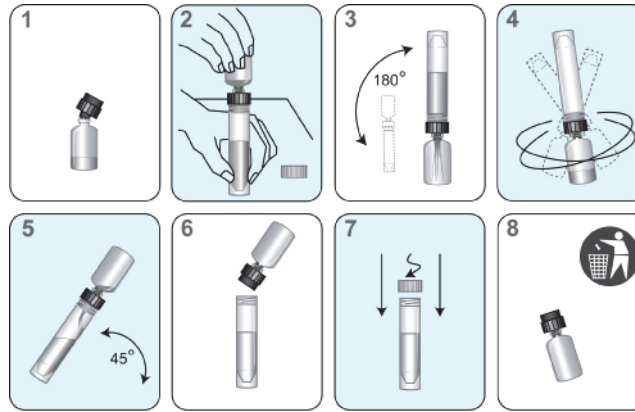
- a. TCR'yi sakladığınız yerden (2 °C ila 8 °C) çıkarın. Ana Lot Barkod Sayfasındaki lot numarasıyla eşleştirdiğinizden emin olmak için TCR şişesindeki lot numarasını kontrol edin.
- b. TCR şişesini hemen 10 kez kuvvetli bir şekilde çalkalayın. TCR şişesinin en az 45 dakika boyunca 15 °C ila 30 °C'de ılımasını sağlayın. Bu süre zarfında TCR şişesini en az 10 dakikada bir çalkalayıp ters çevirin.

Seçenek. TCR şişesi, aşağıdaki talimatlar izlenerek bir tüp sallayıcıda hazırlanabilir: TCR'yi saklandığı yerden (2 °C ila 8 °C) çıkarıp hemen 10 kez kuvvetli bir şekilde çalkalayın. TCR şişesini bir tüp sallayıcıya yerleştirip en az 45 dakika 15 °C ila 30 °C'de ılımaya bırakın.

- c. Kullanmadan önce tüm tortunun çözeltide olduğundan ve manyetik parçacıkların süspansiyonda tutulduğundan emin olun.
2. Amplifikasyon, Enzim ve Promotör Reaktiflerini rekonstitüye etmek için aşağıdakileri gerçekleştirin:
 - a. Liyofilize reaktifleri ve ilgili rekonstitüsyon çözeltilerini sakladığınız yerden (2 °C ila 8 °C) çıkarın. Her rekonstitüsyon çözeltisini liyofilize reaktifleriyle eşleştirin.
 - b. Rekonstitüsyon çözeltisinin ve liyofilize reaktifin etiket renklerinin aynı olduğundan emin olun. Uygun reaktiflerin eşleştirildiğinden emin olmak için Ana Lot Barkod Sayfasındaki lot numaralarını kontrol edin.

- i. Metalik contayı ve kauçuk tıpayı çıkararak liyofilize edilmiş reaktif flakonunu açın.
- ii. Rekonstitüsyon manşonunun çentikli ucunu (siyah) flakon üzerine sıkıca yerleştirin (Şekil 5, Adım 1).
- iii. Eşleşen rekonstitüsyon çözeltisi şişesini açıp kapağı temiz, kaplanmış bir çalışma yüzeyine koyun.
- iv. Rekonstitüsyon çözeltisi şişesini sabit bir yüzeye (yani tezgâha) koyun. Daha sonra liyofilize reaktif flakonunu, rekonstitüsyon çözeltisi şişesinin üzerinde tersine çevirip manşonu rekonstitüsyon çözeltisi şişesine sıkıca takın (Şekil 5, Adım 2).
- v. Birleştirilmiş şişeleri (çözelti şişesine takılı flakon) yavaşça tersine çevirip çözeltinin cam flakona boşalmasını sağlayın (Şekil 5, Adım 3).
- vi. Birleştirilmiş şişeleri elinize alıp en az 10 saniye süreyle bu şişeleri çalkalayın (Şekil 5, Adım 4).
- vii. Liyofilize reaktifin çözeltiye karışması için en az 30 dakika bekleyin.
- viii. Liyofilize reaktif çözeltiyle karıştıktan sonra, birleştirilmiş şişeleri en az 10 saniye çalkalayın, ardından çözeltiyi cam şişe içinde ileri geri hafifçe sallayarak iyice karışmasını sağlayın.
- c. Birleştirilmiş şişeleri tekrar yavaşça eğerek tüm çözeltinin rekonstitüsyon çözeltisi şişesine geri akmasını sağlayın (Şekil 5, Adım 5).
- d. Rekonstitüsyon manşonunu ve cam flakonı dikkatlice çıkarın (Şekil 5, Adım 6).
- e. Şişenin kapağını geri takın. Etikete operatörün baş harfleri ile rekonstitüsyon tarihini kaydedin (Şekil 5, Adım 7).
- f. Rekonstitüsyon manşonunu ve cam flakonı atın (Şekil 5, Adım 8).

Uyarı: Reaktifleri rekonstitüye ederken aşırı köpük oluşumundan kaçının. Köpük, Panther sisteminin seviye algılama özelliğini tehlikeye sokmaktadır.



Şekil 5. Reaktif Rekonstitüsyon Süreci

3. qHBV Hedef Geliştirici Reaktifi sakladığınız yerden çıkarın (15 °C ila 30 °C). Etiket üzerine operatörün baş harfleri ile açılış tarihini kaydedin. Ana Lot Barkod Sayfasındaki lot numarasıyla eşleştikten emin olmak için TER şişesindeki lot numarasını kontrol edin.
- D. Daha Önce Hazırlanmış Reaktifler İçin Reaktif Hazırlama**
1. Daha önceden hazırlanmış reaktifleri sakladığınız yerden (2 °C ila 8 °C) çıkarın. Daha önceden hazırlanmış Amplifikasyon, Enzim ve Promotör reaktifleri ve TCR, testin başlamasından önce 15 °C ila 30 °C'ye ulaşmalıdır.
 2. TER'yi sakladığınız yerden (15 °C ila 30 °C) çıkarın.

3. Önceden hazırlanmış TCR için, sisteme yüklemekten önce yukarıdaki C.1 adımı gerçekleştirin.
4. Sisteme yüklemekten önce Amplifikasyon, Enzim ve Promotör reaktifleri tamamen karıştırmak için döndürün ve ters çevirin. Reaktifleri ters çevirirken aşırı köpük oluşumundan kaçının.

Seçenek: Daha önce hazırlanmış reaktifler, aşağıdaki talimatlar izlenerek bir tüp sallayıcıda hazırlanabilir: Reaktifleri sakladığınız yerden (2 °C ila 8 °C) çıkarın. Reaktifleri tüp sallayıcıya yerleştirip en az 30 dakika 15 °C ila 30 °C'de ılımaya bırakın.

5. Boş olmayan reaktif şişeleri üzerine ekleme yapmayın. Panther sistemi, ekleme yapılan şişeleri tanıyacak ve reddedecektir.

E. Numune İşleme

1. Birincil tüplerdeki işlenmiş örneklerin veya ikincil tüplerdeki seyreltilmemiş plazma örneklerinin şuna uygun olarak saklandığından emin olun: *Örnek Toplama*.
2. Dondurulmuş örneklerin tamamen çözülmediğinden emin olun. Çözülmüş örnekleri iyice karışmaları için 3 ila 5 saniye boyunca vorteksleyin.
3. İşleme başlamadan önce örneklerin 15 °C ila 30 °C sıcaklığa ulaşmasını sağlayın. Ek hazırlık bilgileri için *Panther Sistemindeki Yerleşik Numuneler* bölümüne bakın.
4. Her birincil toplama tüpünde en fazla 1200 µl örnek bulunduğundan veya her SAT'de en az 700 µl örnek bulunduğundan emin olun. Her birincil ve ikincil tüp tipi için ölü hacim gereksinimlerini belirlemek için *Örnek Toplama* konumunda verilen tabloya bakın. Örneğin seyreltmesi gerekiyorsa ek bilgi için aşağıdaki E.5 adımına bakın.
5. Plazma veya serum örneğini, SAT'de 1:3 oranında veya ikincil tüpte 1:100 oranında seyreltin.

Bir örnek, Panther sisteminde test için ikincil bir tüpte seyreltilebilir.

Not: Bir örnek seyreltilirse seyreltmeden hemen sonra test edilmelidir.

a. Düşük hacimli örneklerin seyreltilmesi

Örneklerin hacmi, Aptima Örnek Seyreltici kullanılarak gerekli minimum hacme (700 µl) artırılabilir. En az 240 µl içeren örnekler, aşağıdaki şekilde iki parçalı örnek seyreltici (1:3) ile seyreltilebilir:

- i. SAT'ye 240 µl örnek koyun.
- ii. 480 µl Aptima Örnek Seyreltici ekleyin.
- iii. Tüpün kapağını kapatın.
- iv. Karıştırmak için 5 kez yavaşça ters çevirin.

1:3 oranında seyreltilmiş örnekler, Panther sistemindeki 1:3 seçeneği kullanılarak test edilebilir (daha fazla bilgi için bkz. *Panther/Panther Fusion Sistemi Kullanıcı Kılavuzu*). Yazılım, seyreltme faktörünü uygulayarak saf sonucu otomatik olarak bildirecektir. Bu örnekler seyreltilmiş örnek olarak işaretlenecektir.

b. Yüksek titreli örneklerin seyreltilmesi

Bir örneğin sonucu kantitasyon üst limitinin (ULoQ) üzerindeyse 99 kısım Aptima Örnek Seyreltici (1:100) ile aşağıdaki gibi seyreltilebilir:

- i. SAT'ye veya ikincil tüpe 30 µl örnek koyun.
- ii. 2970 µl Aptima Örnek Seyreltici ekleyin.
- iii. Tüpün kapağını kapatın.
- iv. Karıştırmak için 5 kez yavaşça ters çevirin.

1:100 oranında seyreltilmiş örnekler, Panther sistemindeki 1:100 seçeneği kullanılarak test edilebilir (daha fazla bilgi için bkz. *Panther/Panther Fusion Sistemi*

Kullanıcı Kılavuzu). Yazılım, seyreltme faktörünü uygulayarak saf sonucu otomatik olarak bildirecektir. Bu örnekler seyreltilmiş örnek olarak işaretlenecektir.

Not: ULoQ'dan daha büyük saf konsantrasyonlara sahip seyreltilmiş örnekler için sonuçlar bilimsel notasyon kullanılarak raporlanacaktır.

6. Numuneleri Numune Rafına yüklemeyen hemen önce her numuneyi 10 dakika boyunca 1000 ila 3000 g'da santrifüjleyin. Kapakları çıkarmayın. Tüpteki kabarcıklar Panther sisteminin seviye algılamasını tehlikeye atabilir. Rafın yüklenmesi ve kapakların çıkarılması hakkında bilgi için aşağıdaki *Sistemi Hazırlama* bölümünde, F.2 adımına bakın.

F. Sistemi Hazırlama

1. Sistemi *Panther/Panther Fusion Sistemi Kullanıcı Kılavuzu* ve *Prosedür Notları* içinde belirtilen talimatlara göre kurun. Uygun boyutlu reaktif raflarının ve TCR adaptörlerinin kullanıldığından emin olun.
2. Numuneleri Numune Rafına yükleyin. Her numune tüpü (örnek ve gerektiğinde kalibratör ve kontroller) için aşağıdaki adımları gerçekleştirin:
 - a. Bir numune tüpünün kapağını gevşetin ancak henüz çıkarmayın.
Not: Aerosollerin yayılmasıyla oluşabilecek kontaminasyonu önlemek için özellikle dikkatli olun. Numunelerdeki kapakları hafifçe gevşetin.
 - b. Numune tüpünü Numune Rafına yükleyin.
 - c. Kalan her numune için 2.a ve 2.b adımlarını tekrarlayın.
 - d. Numuneler Numune Rafına yüklendikten sonra bir Numune Rafında yer alan her numune tüpünün kapağını çıkarıp atın. Kontaminasyonu önlemek için, kapağı başka hiçbir Numune Rafının veya numune tüpünün üzerinden geçirmeyin.
 - e. Gerekirse kabarcıkları veya köpüğü gidermek için yeni, tek kullanımlık bir aktarma pipeti kullanın.
 - f. Son kapak çıkarıldığında Numune Rafını Numune Bölmesine yükleyin.
Not: Aynı anda başka testler ve numune tipleri üzerinde çalışılıyorsa Numune Rafını Numune Bölmesine yüklemeyen önce Numune Tutucuyu sabitleyin.
 - g. Bir sonraki Numune Rafı için 2.a ila 2.f adımlarını tekrarlayın.

Prosedür Notları

A. Kalibratör ve Kontroller

1. qHBV pozitif kalibratör, qHBV düşük pozitif kontrol, qHBV yüksek pozitif kontrol ve qHBV negatif kontrol tüpleri, Numune Rafındaki herhangi bir konuma ve Panther sistemindeki herhangi bir Numune Bölmesi Hattına yüklenebilir. Örnek pipetleme işlemi aşağıdaki iki koşuldan biri karşılandığında başlayacaktır:
 - a. Kalibratör ve kontroller hâlihazırda sistem tarafından işlenmelidir.
 - b. Kalibratör ve kontroller için geçerli sonuçlar sisteme kaydedilmelidir.
2. Kalibratör ve kontrol tüpleri pipetlendikten ve Aptima HBV Quant test reaktifi kiti için işlendikten sonra, örnekler **aşağıdaki durumlar haricinde** 24 saate kadar ilgili sulandırılmış kit ile test edilebilir:
 - a. Kalibratör veya kontrol sonuçları geçersizdir.
 - b. İlgili test reaktifi kiti sistemden çıkarılmıştır.
 - c. İlgili test reaktifi kiti stabilite limitlerini aşmıştır.

3. Kalibratör ve her kontrol tüpü bir kez kullanılabilir. Tüpü birden fazla kez kullanmaya çalışmak işlem hatalarına yol açabilir.

B. Eldiven Pudrası

Her reaktif sisteminde olduğu gibi, bazı eldivenlerdeki fazla pudra, açılan tüplerin kontaminasyonuna neden olabilir. Pudrasız eldivenler önerilir.

Kalite Kontrolü

Test gerçekleştirildiği sırada teknik ve operatöre veya cihaza ilişkin zorluklar gözlemlenip belgelenirse çalışma veya örnek sonucu operatör tarafından geçersiz sayılabilir. Bu durumda örneklerin tekrar test edilmesi gerekir.

Test Kalibrasyonu

Geçerli sonuçlar elde etmek için bir test kalibrasyonunun tamamlanması gerekir. Panther sistemine her reaktif kiti yüklendiğinde tek bir pozitif kalibratör üç kez çalıştırılır. Kalibrasyon bir kez yapıldıktan sonra 24 saate kadar geçerliliğini korur. Panther sisteminin yazılımı kalibrasyon gerektiğinde operatörü uyarır. Operatör, her reaktif kitiyle birlikte verilen Ana Lot Barkod Sayfasında bulunan kalibrasyon katsayısını tarar.

İşlem sırasında kalibratörün kabul kriterleri Panther sistemindeki yazılım tarafından otomatik olarak doğrulanır. Kalibratör kopyalarından ikiden azı geçerliyse yazılım çalışmayı otomatik olarak geçersiz kılar. Geçersiz kılınan bir çalışmada numuneler, yeni hazırlanmış bir kalibratör ve yeni hazırlanmış kontroller kullanılarak tekrar test edilmelidir.

Negatif ve Pozitif Kontroller

Geçerli sonuçlar elde etmek için bir dizi test kontrolünün test edilmesi gerekir. Panther sistemine her reaktif kiti yüklemesinde negatif kontrolün, düşük pozitif kontrolün ve yüksek pozitif kontrolün birer kopyası test edilmelidir. Kontroller bir kez yapıldıktan sonra 24 saate kadar geçerliliğini korur. Panther sisteminin yazılımı kontrol gerektiğinde operatörü uyarır.

İşlem sırasında kontrollerin kabul kriterleri Panther sistemindeki yazılım tarafından otomatik olarak doğrulanır. Geçerli sonuçlar elde etmek için, negatif kontrol "Tespit Edilmedi" sonucu vermelidir ve pozitif kontroller önceden tanımlanmış parametreler dâhilinde sonuç vermelidir (LPC Nominal Hedef: $2,7 \log_{10}$ IU/ml, HPC Nominal Hedef: $4,6 \log_{10}$ IU/ml). Kontrollerden herhangi biri geçersiz bir sonuca sahipse yazılım otomatik olarak çalışmayı geçersiz kılar. Geçersiz kılınan bir çalışmada numuneler, yeni hazırlanmış bir kalibratör ve yeni hazırlanmış kontroller kullanılarak tekrar test edilmelidir.

Dâhilî Kalibratör/Dâhilî Kontrol

Her numunede dâhilî kalibratör/dâhilî kontrol (IC) bulunur. İşlem sırasında IC kabul kriterleri otomatik olarak Panther sistemi yazılımı tarafından doğrulanır. IC sonucu geçersizse numune sonucu da geçersiz sayılır. Geçersiz IC sonucuna sahip her numunenin geçerli bir sonuç elde etmek için tekrar test edilmesi gerekir.

Panther sistemi yazılımı, prosedürler bu kullanım talimatı ve *Panther/Panther Fusion Sistemi Kullanıcı Kılavuzunda* verilen talimatlara uygun olarak gerçekleştirildiğinde hatasız şekilde işlem doğrulama için tasarlanmıştır.

Sonuçların Yorumlanması

Panther sistemi, sonuçları bir kalibrasyon eğrisiyle karşılaştırarak örnekler ve kontroller için HBV DNA konsantrasyonunu otomatik olarak belirler. HBV DNA konsantrasyonları IU/ml ve $\log_{10}$ IU/ml olarak raporlanır. Sonuçların yorumu Tablo 1 içinde verilmiştir. Seyreltme seçeneği kullanılıyorsa Panther sistemi seyreltilmiş konsantrasyonu seyreltme faktörü ile çarparak saf numune için HBV konsantrasyonunu otomatik olarak hesaplar ve seyreltilmiş numuneler seyreltilmiş olarak işaretlenir.

Not: Seyreltilmiş örnekler için, “Saptanmadı” veya “<10 saptandı” olarak listelenen sonuçlar, LoD (tespit limiti) veya LLoQ (kantitasyon alt limiti) üzerinde ancak onlara yakın bir konsantrasyona sahip bir örneği seyrelterek üretilebilir. Kantitatif bir sonuç elde edilemediği takdirde yeni bir saf örnek alınarak bunun test edilmesi önerilir.

Tablo 1: Sonuç Yorumlaması

Bildirilen Aptima HBV Quant Test Sonucu		Yorum
IU/ml	$\log_{10}$ IU/ml ^a	
Saptanmadı	Saptanmadı	HBV DNA saptanmadı.
<10 saptandı	<1,00	HBV DNA'sı saptandı ancak LLoQ'nun altında bir seviyede
10 ila 1.000.000.000	1,00 ila 9,00	HBV DNA konsantrasyonu 10 ila 1.000.000.000 IU/ml doğrusal aralığındadır.
>1.000.000.000	>9,00	HBV DNA konsantrasyonu ULoQ'nun üzerinde.
Geçersiz ^b	Geçersiz ^b	Sonuç oluşturulurken hata oluştu. Örnek tekrar test edilmelidir.

^a Değer iki ondalık basamağa kısaltılır.

^b Geçersiz sonuçlar mavi renkli yazı tipinde görüntülenir.

ULoQ'dan daha büyük saf konsantrasyonlara sahip seyreltilmiş örnekler için sonuçlar bilimsel notasyon kullanılarak raporlanacaktır.

Aptima HBV Quant test kontrollerinin her biri için kabul kriterleri aşağıda Tablo 2 içinde özetlenmiştir.

Not: Aşağıda listelenen geri kazanım aralığı, belirli lotların atanmış değerine göre değişir. Her Kontrol kutusuyla birlikte verilen Kontrol Barkod Sayfası ekinde listelenen atanmış konsantrasyona bakın.

Tablo 2: Aptima HBV Quant Test Kontrolleri için Geri Kazanım Aralığı Kabul Kriterleri

Bileşen	Geçerli Çalıştırmalarda Geri Kazanım Aralığı
Negatif Kontrol	yok
Düşük Pozitif Kontrol	+/- 0,55 $\log_{10}$ IU/ml
Yüksek Pozitif Kontrol	+/- 0,5 $\log_{10}$ IU/ml

Sınırlamalar

- A. Bu testi yalnızca bu prosedür konusunda eğitim almış personel kullanabilir. Bu kullanma talimatında yer alan talimatlara uyulmaması hatalı sonuçlara yol açabilir.
- B. Güvenilir sonuçlar, yeterli örnek toplanması, taşınması, saklanması ve işlenmesine bağlıdır.

Analitik Performans

3. DSÖ Uluslararası Standardı Kullanılarak Tespit Limiti

Testin tespit limiti (LoD), CLSI EP17-A2'ye göre %95 veya daha yüksek olasılıkla tespit edilen HBV DNA konsantrasyonu olarak tanımlanır.¹¹

LoD, HBV negatif insan EDTA plazması ve serumunda seyreltilmiş 3. DSÖ Uluslararası Hepatit B Virüsü DNA Standardı (NIBSC 10/264, genotip A) panellerinin test edilmesiyle belirlenmiştir. Her seyreltinin en az 36 kopyası, seyrelti başına en az 108 kopya için üç reaktif lotunun her biri ile test edilmiştir. Tahminî %95 tespit limitlerini elde etmek için probit analizi yapılmıştır. LoD değerleri, en yüksek tahminî tespit limitine sahip reaktif lotundan elde edilen sonuçlardır. 3. DSÖ Uluslararası Standardı kullanılarak yapılan Aptima HBV Quant testi için LoD, plazma için 4,8 IU/ml ve serum için 5,9 IU/ml'dir.

HBV Genotiplerinde Tespit Sınırı

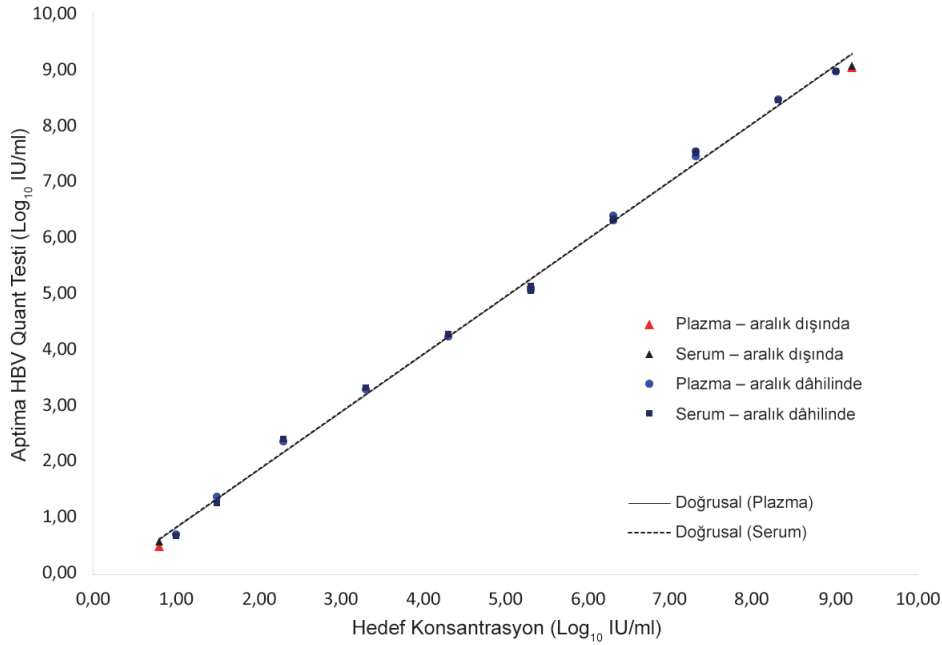
LoD, HBV negatif insan plazması ve serumunda genotip A, B, C, D, E, F, G ve H için HBV pozitif klinik örneklerin seyreltilerinin test edilmesiyle belirlenmiştir. Konsantrasyonlar onaylı bir test kullanılarak belirlenmiştir. Her panel üyesinin en az 24 kopyası, panel üyesi başına en az 48 kopya için iki reaktif lotunun her biri ile test edilmiştir. Tahminî %95 tespit limitlerini elde etmek için probit analizi yapılmıştır. Tablo 3 içinde gösterilen LoD değerleri, en yüksek tahminî tespit limitine sahip reaktif lotundan elde edilen sonuçlardır.

Tablo 3: Klinik Örnekler Kullanılarak HBV Genotiplerinde Tespit Limiti (%95 Tahminî Tespit Limiti)

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

Doğrusal Aralık

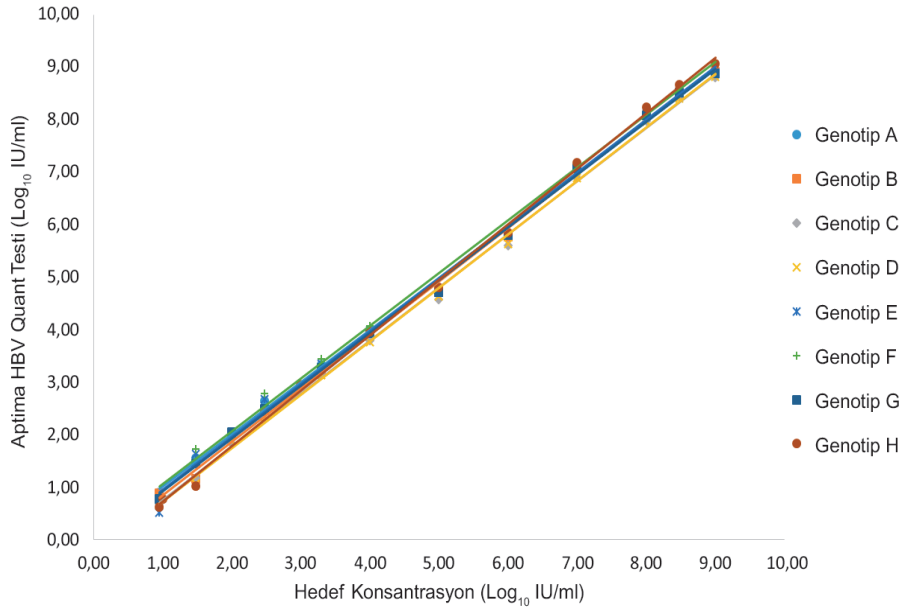
Doğrusal aralık, HBV negatif insan plazma ve serumunda seyreltilmiş HBV genotip A virüsü ($0,78 \log_{10}$ IU/ml ila $7,30 \log_{10}$ IU/ml) ve plazmit DNA'sı ($5,30 \log_{10}$ IU/ml ila $9,18 \log_{10}$ IU/ml) panellerinin CLSI EP06-A'ya göre test edilmesiyle belirlenmiştir.¹² Aptima HBV Quant testi, Şekil 6 içinde gösterildiği gibi, $9 \log_{10}$ IU/ml'lik bir kantitasyon üst limiti (ULoQ) ile test edilen aralıkta doğrusallık göstermiştir.



Şekil 6. Plazma ve Serumda Doğrusallık

HBV Genotipleri Arasında Doğrusallık

HBV genotiplerinin doğrusallığı, genotip A, E, F, G ve H için bireysel klinik pozitif örneklerin ve genotip B, C ve D için PEI 1. DSÖ Referans panellerinin (PEI 5086/08) test edilmesiyle belirlenmiştir. Virüs, testin alt aralığı için kullanılmıştır (genotip A-G için $4 \log_{10}$ IU/ml ve altı, genotip H için $3 \log_{10}$ IU/ml ve altı). Plazmit DNA, $2 \log_{10}$ değerinde bir örtüşmeyle üst aralık için kullanılmıştır. Tüm genotipler için negatif insan plazmasındaki seyreltiler test edilmiştir. Doğrusallık, Şekil 7 içinde gösterildiği gibi test edilen tüm genotipler için test edilen aralıkta gösterilmiştir.



Şekil 7. Doğrusal Aralık ve Doğrusallık (Plazma)

3. DSÖ Uluslararası Standardını Kullanarak Kantitasyon Alt Limiti

CLSI EP17-A2'ye göre kantitasyon alt limiti, HBV DNA'sının toplam hata limitleri içinde güvenilir şekilde kantitatif olarak belirlenebildiği en düşük konsantrasyon olarak tanımlanır.¹¹ Toplam hata limitleri aşağıdaki iki yöntemle tahmin edilmiştir:

$$\text{Toplam Analitik Hata (TAE)} = |\text{yanlılık}| + 2\text{SS} \text{ ve Toplam Hata (TE)} = \text{SQRT}(2) \times 2\text{SS}.$$

Ölçümlerin doğruluğunu ve kesinliğini sağlamak için, Aptima HBV Quant testinin toplam hatası $1 \log_{10}$ IU/ml olarak ayarlanmıştır (yani LLoQ'da, iki ölçüm arasında $1 \log_{10}$ IU/ml'den fazla fark istatistiksel olarak anlamlıdır).

LLoQ, HBV negatif insan plazması ve serumunda seyreltilmiş 3. DSÖ Uluslararası Hepatit B Virüsü DNA Standardı (NIBSC 10/264, genotip A) panellerinin test edilmesiyle belirlenmiştir. Her seyreltinin kırk beş (45) kopyası, seyrelti başına en az 135 kopya için üç reaktif lotunun her biri ile test edilmiştir. Üç reaktif lotunun sonuçları plazma için Tablo 4 içinde ve serum için Tablo 5 içinde gösterilmiştir. >%95 tespit ile doğruluk hedefini karşılayan ve LoD'ye eşit veya daha büyük olan en düşük gözlemlenen konsantrasyona ait sonuçlar ($\text{TE} \leq 1 \log_{10}$ IU/ml ve $\text{TE} \leq 1 \log_{10}$ IU/ml), her iki tabloda da gölgelendirilmiştir ve Tablo 6 içinde özetlenmiştir.

3. DSÖ Uluslararası Hepatit B Virüsü Standardı için hesaplanan LLoQ, plazma için 6 IU/ml ($0,79 \log_{10}$ IU/ml) ve serum için 8 IU/ml ($0,88 \log_{10}$ IU/ml) olup bu değerler, CLSI EP17-A2'ye göre üç reaktif lotunda hesaplanan en yüksek konsantrasyona dayanmaktadır. LLoQ farklı

genotipler için belirlenmiştir (bkz. *HBV Genotipleri Arasında Kantitasyon Alt Limiti*).
Bu genotip verileri, test için genel LLoQ'yu 10 IU/ml olarak belirlemektedir.

Tablo 4: Plazmada Seyreltilmiş 3. DSÖ Uluslararası HBV Standardı Kullanılarak LLoQ'nun Belirlenmesi

Reaktif Lotu	Aptima HBV Quant (IU/ml)	Aptima HBV Quant (Log ₁₀ IU/ml)	SS (Log ₁₀ IU/ml)	Yanılılık (Log ₁₀ IU/ml)	Hesaplanan TE (Log ₁₀ IU/ml)	Hesaplanan 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

SS=standart sapma.

Doğruluk hedefini (TE ≤1 ve TAE ≤1), > LoD'yi ve Reaktif Lotları 1, 2 ve 3 için >%95 tespit limitini karşılayan panel üyeleri gölgelendirilmiştir.

Tablo 5: Serumda Seyreltilmiş 3. DSÖ Uluslararası HBV Standardı Kullanılarak LLoQ'nun Belirlenmesi

Reaktif Lotu	Aptima HBV Quant (IU/ml)	Aptima HBV Quant (Log ₁₀ IU/ml)	SS (Log ₁₀ IU/ml)	Yanılılık (Log ₁₀ IU/ml)	Hesaplanan TE (Log ₁₀ IU/ml)	Hesaplanan 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

SS=standart sapma.

Doğruluk hedefini (TE ≤1 ve TAE ≤1), > LoD'yi ve Reaktif Lotları 1, 2 ve 3 için >%95 tespit limitini karşılayan panel üyeleri gölgelendirilmiştir.

Tablo 6: 3. DSÖ Uluslararası HBV Standardı Kullanılarak Hesaplanan LLoQ'nun Özeti

Reaktif Lotu	Plazma LLoQ		Serum LLoQ	
	IU/ml	Log ₁₀ IU/ml	IU/ml	Log ₁₀ IU/ml
1	5	0,70	4	0,65
2	5	0,69	5	0,72
3	6	0,79	8	0,88

HBV Genotipleri Arasında Kantitasyon Alt Limiti

LLOQ, HBV negatif insan plazması ve serumunda genotip A, B, C, D, E, F, G ve H için HBV pozitif klinik örneklerin seyreltilerinin test edilmesiyle belirlenmiştir. Klinik örnekler için konsantrasyon ataması, bir komparator testi kullanılarak belirlenmiştir. Her panel üyesinin toplam 36 kopyası, panel üyesi başına en az 72 kopya için iki reaktif lotunun her biri ile test edilmiştir. Her reaktif lotu için >%95 tespit limiti ile doğruluk hedefini ($TE \leq 1 \log_{10} \text{ IU/ml}$ ve $TAE \leq 1 \log_{10} \text{ IU/ml}$) karşılayan en düşük gözlemlenen konsantrasyona ait sonuçlar plazma için Tablo 7 içinde ve serum için Tablo 8 içinde gösterilmiştir. Her genotip için reaktif lotları arasında gözlemlenen en yüksek konsantrasyon Tablo 9 içinde özetlenmiştir. Serumdaki genotip D'de LLOQ değeri, 9 IU/ml ($0,96 \log_{10} \text{ IU/ml}$) ile en yüksek değer olmuştur. Bu, test için genel LLOQ'nun 10 IU/ml olduğunu desteklemiştir.

Tablo 7: Plazmada HBV Genotipleri Arasında LLOQ'nun Belirlenmesi

HBV Genotipi	Reaktif Lotu	Aptima HBV Quant ^a (IU/ml)	Aptima HBV Quant ^a ($\log_{10} \text{ IU/ml}$)	SS ($\log_{10} \text{ IU/ml}$)	Yanılılık ($\log_{10} \text{ IU/ml}$)	Hesaplanan TE ($\log_{10} \text{ IU/ml}$)	Hesaplanan 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

SS=standart sapma.

^a Ek seviyeler çalıştırılmış ancak bu veriler tabloda raporlanmamıştır.

Tablo 8: Serumdaki HBV Genotipleri Arasında LLoQ'nun Belirlenmesi

HBV Genotipi	Reaktif Lotu	Aptima HBV Quant ^a (IU/ml)	Aptima HBV Quant ^a (Log ₁₀ IU/ml)	SS (Log ₁₀ IU/ml)	Yanlılık (Log ₁₀ IU/ml)	Hesaplanan TE (Log ₁₀ IU/ml)	Hesaplanan 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

SS=standart sapma.

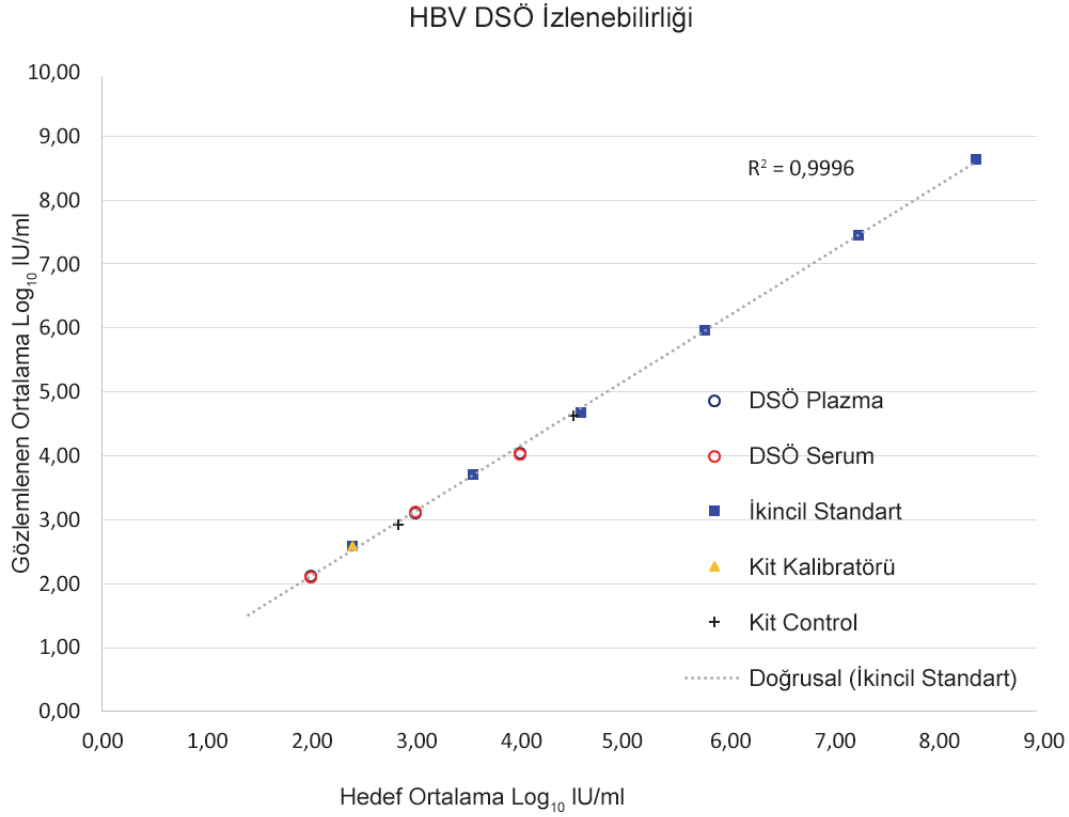
^a Ek seviyeler çalıştırılmış ancak bu veriler tabloda raporlanmamıştır.

Tablo 9: Plazmada ve Serumda Genotipler Geneline LLoQ Özeti

Genotip	Plazma LLoQ		Serum LLoQ	
	IU/ml	Log ₁₀ IU/ml	IU/ml	Log ₁₀ IU/ml
A	7	0,85	6	0,81
B	6	0,75	5	0,72
C	6	0,75	6	0,81
D	8	0,91	9	0,96
E	8	0,88	8	0,89
F	7	0,86	6	0,76
G	4	0,65	8	0,89
H	7	0,83	6	0,81

3. DSÖ Uluslararası Standardına göre izlenebilirlik

DSÖ standardına izlenebilirlik sağlamak için ürün geliştirme ve ürün üretimi boyunca bilinen konsantrasyonlara sahip bir dizi ikincil standart kullanılmıştır. HBV WHO standardı için test edilen konsantrasyonlar 2,0 ile 4,0 $\log_{10}$ IU/ml arasındaydı, ikincil standartların konsantrasyonu ise 2,4 ile 8,4 $\log_{10}$ IU/ml arasında değişiyordu. Aptima HBV Quant test kontrolleri ve kalibratörleri de ikincil standartlar ve DSÖ standardı ile birlikte test edilmiştir. Tüm panellerin sonuçları benzer olmuş ve bunlar, Şekil 8 içinde gösterildiği gibi, testin doğrusal aralığı boyunca doğrusal olarak dağıtılmıştır.



Şekil 8. 3. HBV DSÖ Standardı Hedef Konsantrasyonları ve Aptima HBV Quant Testi ile Gözlemlenen Konsantrasyon Arasındaki İzlenebilirlik

Hassasiyet

Aptima HBV Quant hassasiyet paneli, HBV genotip A virüsü ve HBV plazmit DNA'sının HBV negatif klinik plazma ve HBV negatif klinik serum içinde seyreltilmesiyle oluşturulmuştur (her matristeki en yüksek dört panel üyesi plazmit DNA'sıydı). Her matristeki on bir panel üyesi, test aralığını (1,30 $\log_{10}$ IU/ml ila 8,90 $\log_{10}$ IU/ml hedef konsantrasyonları) kapsamıştır ve bir operatör tarafından, günde iki çalışma olacak şekilde üç gün boyunca bir Panther sisteminde üç reaktif lotu kullanılarak her çalışma için üç kopyayla test edilmiştir.

Tablo 10, günler arasında, lotlar arasında, çalışmalar arasında, çalışmalar içinde ve genel olarak test sonuçlarının hassasiyetini ($\log_{10}$ IU/ml cinsinden) göstermektedir. Toplam değişkenlik esas olarak çalışma içi ölçümden (yani rastgele hatadan) kaynaklanmıştır.

Tablo 10: Aptima HBV Quant Testinin Hassasiyeti

Matris	Numune	N	Ortalama Konsant-rasyon	Ortalama Konsant-rasyon	Lotlar Arası	Lotlar Arası	Günler Arası	Günler Arası	Çalışmalar Arası	Çalışmalar Arası	Çalışma İçi	Çalışma İçi	Toplam	Toplam
			(IU/ml)	(log ₁₀ IU/ml)	SS	Log Normal CV (%)	SS	Log Normal CV (%)	SS	Log Normal CV (%)	SS	Log Normal CV (%)	SS	Log Normal CV (%)
Plazma	Virüs	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
	Plazmit DNA'sı	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
	Virüs	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
	Plazmit DNA'sı	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
	Virüs	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
	Plazmit DNA'sı	54	103.400.000	8,01	0,04	9,4	0,02	3,7	0,01	2,1	0,05	12,0	0,07	15,9
		54	612.200.000	8,78	0,03	7,6	0,01	1,9	0,01	1,5	0,04	9,0	0,05	12,0
Serum	Virüs	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
	Plazmit DNA'sı	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
	Virüs	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
	Plazmit DNA'sı	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
	Virüs	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
	Plazmit DNA'sı	53 ^b	122.800.000	8,08	0,04	9,9	0,01	2,2	0,01	1,8	0,04	10,4	0,06	14,6
		54	678.700.000	8,83	0,02	3,6	0,01	2,2	0,01	1,8	0,05	11,7	0,05	12,5

SS=standart sapma.

^a Ölçülebilir bir sonuç tespit edilen kopyalar, toplam tespit edilen kopyalar = 54.^b Bir kopyanın sonucu geçersizdi.Log Normal CV(%) = $\sqrt{10^{(SD^2 * \ln(10)) - 1}}} * 100$

Potansiyel Enterferans Maddeleri

Aptima HBV Quant testinin, yüksek seviyelerde endojen maddeler veya HBV ile enfekte olmuş bireylere yaygın olarak reçete edilen ilaçlar tarafından enterferansa duyarlılığı değerlendirilmiştir. HBV negatif plazma numuneleri ve yaklaşık 30 IU/ml ($1,48 \log_{10}$ IU/ml) ve 20.000 IU/ml ($4,30 \log_{10}$ IU/ml) konsantrasyonlara kadar HBV ilave edilmiş numuneler test edilmiştir.

Albümin (90 mg/ml), hemoglobin (5 mg/ml), trigliseritler (30 mg/ml) veya konjuge olmayan bilirubin (0,2 mg/ml) varlığında testin performansında herhangi bir enterferans gözlenmemiştir.

Tanımlanmış madde seviyeleri yüksek olan hastalardan veya Tablo 11 içinde listelenen hastalıkları olan hastalardan alınan klinik plazma örnekleri (her madde için on örnek) Aptima HBV Quant testi ile test edilmiştir. Testin performansına yönelik herhangi bir enterferans gözlenmemiştir.

Tablo 11: Test Edilen Klinik Örnek Tipleri

Klinik Örnek Tipleri	
1	Antinükleer antikor (ANA)
2	Romatoid faktör (RF)
3	Alkolik siroz (AC)
4	Alkole bağlı hepatit
5	Alkole bağlı olmayan hepatit
6	Otoimmün hepatit
7	Yükselmiş alanin aminotransferaz (ALT)
8	Hepatoselüler karsinom (HCC)
9	Multipl skleroz (MS)
10	Sistemik lupus eritematozus (SLE)
11	Hiperglobulinemi
12	Romatoid artrit (RA)
13	Anti-Jo1 antikoru (JO-1)
14	Multipl miyelom (MM)
15	Hemolize (yükselmiş hemoglobin)
16	İkterik (yükselmiş bilirubin)
17	Lipemik (yükselmiş lipid)
18	Yüksek protein

Tablo 12 içinde listelenen ekzojen maddelerin varlığında, C_{maks} (insan plazması) değerinin en az üç katı konsantrasyonlarda testin performansında herhangi bir enterferans gözlenmemiştir.

Tablo 12: Ekzojen Maddeler

Ekzojen Madde Havuzu	Test Edilen Ekzojen Maddeler
1	Sakuinavir, ritonavir, amprenavir, indinavir, lopinavir, nelfinavir mesilat
2	Klaritromisin, valgansiklovir hidroklorür, efavirenz, nevirapin
3	Paroksetin HCl, enfuvirtid, zidovudin, didanozin, abakavir sülfat
4	Ribavirin, entekavir, adefovir dipivoksil, tenofovir disoproksil fumarat, lamivudin, gansiklovir, asiklovir
5	Stavudin, siprofloksasin, fluoksetin, azitromisin, valasiklovir, sertralin, zalsitabin
6	İnterferon alfa -2a, interferon alfa -2b, pegile interferon alfa -2b

Analitik Özgüllük

Tablo 13 içinde listelenen patojenlere karşı potansiyel çapraz reaktivite, 30 IU/ml ($1,5 \log_{10}$ IU/ml) ve 20.000 ($4,3 \log_{10}$ IU/ml) HBV DNA'sı varlığında veya yokluğunda HBV negatif insan plazmasında değerlendirilmiştir. Çapraz reaktivite gözlemlenmemiştir. Patojenlerin varlığında herhangi bir enterferans gözlemlenmemiştir.

Tablo 13: Analitik Özgüllük Açısından Test Edilen Patojenler

Mikroorganizma/Patojen	Konsantrasyon	Mikroorganizma/Patojen	Konsantrasyon
Adenovirüs 5	100.000 TCID50/ml ^a	<i>Candida albicans</i>	1.000.000 CFU/ml ^e
BK insan polyomavirüsü	1.000 TCID50/ml	<i>Chlamydia trachomatis</i>	1.000.000 IFU/ml ^f
Sitomegalovirüs	100.000 TCID50/ml	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	1.000.000 CFU/ml
Dang virüsü 1	10.000 TCID50/ml	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1.000.000 CFU/ml
Dang virüsü 2	10.000 TCID50/ml	<i>Propionibacterium acnes</i>	1.000.000 CFU/ml
Dang virüsü 3	10.000 TCID50/ml	<i>Staphylococcus aureus</i>	1.000.000 CFU/ml
Dang virüsü 4	100.000 TCID50/ml	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1.000.000 CFU/ml
Epstein-Barr virüsü	100.000 kopya/ml	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1.000.000 CFU/ml
H1N1 gribi	100.000 TCID50/ml	<i>Trichomonas vaginalis</i>	1.000.000 CFU/ml
Hepatit A virüsü	100.000 TCID50/ml	^a TCID50/ml = ml başına doku kültürü enfeksiyöz doz birimi	
Hepatit C virüsü	100.000 IU/ml ^b	^b IU/ml = ml başına uluslararası birim.	
Hepatit G virüsü	100.000 kopya/ml	^c vp/ml = ml başına viral parçacık.	
İnsan herpes virüsü 6B	100.000 kopya/ml	^d LD50/ml = ml başına ölümcül doz	
İnsan herpes virüsü 8	100.000 kopya/ml	^e CFU/ml = ml başına koloni oluşturan birim	
HIV-1	100.000 IU/ml	^f IFU/ml = ml başına inklüzyon oluşturan birim	
HIV-2	10.000 TCID50/ml		
İnsan papilloma virüsü	100.000 kopya/ml		
Herpes simpleks virüsü 1 (HSV-1)	100.000 TCID50/ml		
Herpes simpleks virüsü 2 (HSV-2)	100.000 TCID50/ml		
İnsan T hücreli lenfotropik virüsü 1 (HTLV-1)	100.000 vp/ml ^c		
İnsan T hücreli lenfotropik virüsü 2 (HTLV-2)	100.000 vp/ml		
Japon ensefalit virüsü	Yok	Yok	
Murray Valley ensefalit virüsü	2.000 LD50/ml ^d		
Parvovirüs B19	100.000 IU/ml		
Kızamıkçık virüsü	10.000 TCID50/ml		
St. Louis ensefalit virüsü	100.000 TCID50/ml		
Vaccinia virüsü	1.000 TCID50/ml		
Batı Nil virüsü	100.000 TCID50/ml		
Sarıhumma virüsü	100.000 TCID50/ml		

Matris Eş Değerliği

Eşleştirilmiş kan toplama tüplerinin (serum tüpü, ACD, K2 EDTA, K3 EDTA, PPT, SST) 118 örnek seti matris eş değeri açısından değerlendirilmiştir. Bunlardan 44 set doğal olarak enfekte olmuş HBV pozitif set, 74 set ise HBV virüsü ilave edilmiş HBV negatif setti. Komparatör olarak serum toplama tüpü kullanılarak her kan toplama tüpü tipi için ölçülen korelasyon Tablo 14 içinde gösterilmiştir.

Tablo 14: Matris Eş Değerliği Çalışması

Kan Toplama Tüpü	Deming Regresyonu	Eğimin %95 GA'sı		Kesişimin %95 GA'sı		R ²	Ortalama Fark (Log ₁₀)
		Alt Limit	Üst Limit	Alt Limit	Üst 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

GA = güven aralığı.

Aptima Örnek Seyreltici (1:3) Kullanılarak Numune Seyreltme

Aptima Örnek Seyreltici ile seyreltilmiş numunelerde HBV DNA'sının tespit doğruluğunu değerlendirmek için doğrusal aralığı kapsayan numuneler Aptima Örnek Seyreltici ile 1:3 oranında seyreltilmiştir (ör. 240 µl örnek, 480 µl Aptima Örnek Seyreltici ile birleştirilmiştir). Her numune üç tekrarlı olarak saf ve seyreltilmiş (1:3 veya 1:100) şekilde test edilmiştir. Testler, iki Aptima Örnek Seyreltici lotu ile iki Panther sisteminde bir lot test reaktifleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Yerel matristeki ortalama bildirilen konsantrasyon (seyreltilmiş numune sonucuna uygulanan seyreltme faktörü) ile Aptima Örnek Seyrelticideki ortalama konsantrasyon arasındaki farklar plazma için Tablo 15 içinde ve serum için Tablo 16 içinde gösterilmiştir. Numune konsantrasyonları, seyreltilmiş numunelerde doğru bir şekilde geri kazanılmıştır.

Tablo 15: Plazma Örneği 1:3 Seyreltme Matrisi Karşılaştırma Özeti

Plazma Matrisi Ortalama Bildirilen Konsantrasyon (Log ₁₀ IU/ml) n = 9	Seyreltici Ortalama Bildirilen Konsantrasyon (Log ₁₀ IU/ml) n = 18	Fark Plazma Matrisinden Seyreltici (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.

Tablo 16: Serum Örneği 1:3 Seyreltme Matrisi Karşılaştırma Özeti

Serum Matrisi Ortalama Bildirilen Konsantrasyon (Log ₁₀ IU/ml) n = 9	Seyreltici Ortalama Bildirilen Konsantrasyon (Log ₁₀ IU/ml) n = 18	Fark Serum Matrisinden Seyreltici (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.

Aptima Örnek Seyreltici Kullanılarak Numune Seyreltme (1:100)

Aptima Örnek Seyreltici ile seyreltilmiş numunelerde, plazmada veya serumda HBV DNA'sının tespit doğruluğunu değerlendirmek için 6 ila 8 log₁₀ IU/ml değerleri hedeflenerek HBV virüsü ilave edilmiş sekiz ayrı plazma örneği ve sekiz ayrı serum örneği ile birlikte 9,16 log₁₀ IU/ml değeri hedeflenerek HBV plazmit DNA'sı ilave edilmiş sekiz ayrı plazma örneği ve sekiz ayrı serum örneği, 5 tekrar hâlinde test edilmiştir. Testten hemen önce bir kısım numune ve 99 kısım Aptima Örnek Seyreltici ile 1:100 oranında seyreltme yapılmıştır. Testler, iki Aptima Örnek Seyreltici lotu ile iki Panther sisteminde bir lot test reaktifi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Yerel matristeki ortalama bildirilen konsantrasyon (seyreltilmiş numune sonucuna uygulanan seyreltme faktörü) ile Aptima Örnek Seyrelticideki ortalama

konsantrasyon arasındaki fark, her numune seti için hesaplanarak plazma için Tablo 17 içinde ve serum için Tablo 18 içinde gösterilmiştir.

Tablo 17: Plazma Örneği 1:100 Seyreltme Matrisi Karşılaştırma Özeti

Plazma Matrisi Ortalama Bildirilen Konsantrasyon (Log ₁₀ IU/ml) n = 5	Seyreltici Ortalama Bildirilen Konsantrasyon (Log ₁₀ IU/ml) n = 10	Fark Plazma Matrisinden Seyreltici (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 Plazmit DNA'sı kullanılarak çoğaltılmıştır.

Tablo 18: Serum Örneği 1:100 Seyreltme Matrisi Karşılaştırma Özeti

Serum Matrisi Ortalama Bildirilen Konsantrasyon (Log ₁₀ IU/ml) n = 5	Seyreltici Ortalama Bildirilen Konsantrasyon (Log ₁₀ IU/ml) n = 10	Fark Serum Matrisinden Seyreltici (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 Plazmit DNA'sı kullanılarak çoğaltılmıştır.

Aptima Örnek Seyrelticide Seyreltilmiş Örneklerde LLoQ'nun Doğrulanması

Aptima HBV Quant testinin LLoQ değeri, HBV genotipi A klinik örneklerinin Aptima Örnek Seyrelticide seyreltilmesiyle doğrulanmıştır. Örnekler HBV negatif insan plazması ve serumunda 21, 30 ve 45 IU/ml dozlarda hazırlanmıştır. Her panel, yaklaşık 7, 10 ve 15 IU/ml'lik son konsantrasyonları elde etmek için testten hemen önce Aptima Örnek Seyrelticide 1:3 oranında seyreltilmiştir. Her panel üyesinin toplam 36 kopyası üç gün boyunca bir reaktif lotuyla test edilmiştir. Aptima Örnek Seyrelticide seyreltilen HBV plazma ve serum için LLoQ ≤ 10 IU/ml değeri, Tablo 19 içinde gösterildiği gibi doğrulanmıştır.

Tablo 19: LLoQ'nun Doğrulanması - Aptima Örnek Seyrelticideki Numuneler

Matris	Tespit Edilen %	Aptima HBV Quant (IU/ml)	Aptima HBV Quant (Log ₁₀ IU/ml)	SS (Log ₁₀ IU/ml)	Yanlılık (Log ₁₀ IU/ml)	Hesaplanan TE (Log ₁₀ IU/ml)	Hesaplanan TAE (Log ₁₀ IU/ml)
Plazma	%100	3	0,50	0,19	0,10	0,54	0,48
Serum	%100	2	0,38	0,12	0,46	0,33	0,70

Seyreltilmiş Numunelerin Hassasiyeti

Aptima HBV Quant hassasiyet paneli, HBV pozitif plazma ve HBV plazmit DNA'sının HBV negatif klinik plazma ve serum içinde seyreltilmesiyle oluşturulmuştur. Pozitif paneller, Aptima Örnek Seyreltici ile seyreltilmiştir. Bunlar, bir operatör tarafından, günde iki çalışma olmak üzere üç test günü boyunca bir Panther sisteminde üç lot Aptima Örnek Seyreltici kullanılarak her çalışmada beş kopya olacak şekilde test edilmiştir.

Tablo 20, üç lot Aptima Örnek Seyreltici için test sonuçlarının hassasiyetini gösterir (SS log₁₀ IU/ml cinsinden). Toplam değişkenlik tüm panel üyeleri ve seyreltici lotları arasında $\leq 0,15$ SS olmuştur.

Tablo 20: Aptima Örnek Seyrelticide Seyreltilmiş Panellerin Hassasiyeti

Matris	Hedef Konsantrasyon Log ₁₀ IU/ml	Seyreltme	Lot 1 Örnek Seyreltici (n=10)		Lot 2 Örnek Seyreltici (n=10)		Lot 3 Örnek Seyreltici (n=10)		Birleşik Lotlar (n=30)	
			Ortalama Log ₁₀ IU/ml	SS	Ortalama Log ₁₀ IU/ml	SS	Ortalama Log ₁₀ IU/ml	SS	Ortalama Log ₁₀ IU/ml	SS
Plazma	3,30	Saf	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	Saf	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	Saf	9,13	0,05	9,10	0,03	9,26 ^a	0,15	9,16 ^a	0,11
		1:100	9,18	0,03	9,14	0,04	9,33	0,10	9,21	0,10
Serum	3,30	Saf	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	Saf	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	Saf	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

SS = standart sapma.

^a 1 kopya hariç tutulmuştur (hesaplanabilir aralığın üstünde).

^b 2 kopya hariç tutulmuştur (hesaplanabilir aralığın üstünde).

Taşınma

Panther sisteminin, taşıma kontaminasyonundan kaynaklanan yalancı pozitif sonuç riskini en aza indirdiğini belirlemek için, üç Panther sistemi üzerinde spayklanmış paneller kullanılarak bir çalışma yapılmıştır. Taşıma, dama tahtası deseninde HBV negatif numuneler arasında serpiştirilmiş yüksek titreli HBV DNA eklenmiş plazma numuneleri (8 log₁₀ IU/ml) kullanılarak değerlendirilmiştir. Test, on beş çalışma üzerinde gerçekleştirilmiştir. Genel taşınma oranı %0,14 (1/705) olmuştur.

Tekrarlanabilirlik

Panther sisteminde Tekrarlanabilirlik, ABD'deki üç haricî tesiste değerlendirilmiştir. Her tesiste iki operatör testler gerçekleştirmiştir. Her operatör, testler süresince üç reaktif lotu kullanarak üç gün boyunca günde iki çalışma gerçekleştirmiştir. Her çalıştırmada her panel üyesinin üç kopyası olmuştur. Toplamda her panel üyesinin 108 kopyası test edilmiştir.

Tekrarlanabilirlik, HBV negatif plazma kullanılarak hazırlanan panel üyeleri kullanılarak test edilmiştir. Pozitif panel üyeleri HBV genotipleri A veya C açısından pozitif olmuştur. HBV DNA konsantrasyonları, testin doğrusal aralığını kapsamıştır.

Tablo 21 içinde her bir pozitif panel üyesine yönelik test sonuçlarının tesisler arasında, operatörler/günler arasında, lotlar arasında, çalışmalar arasında, çalışmalar içinde ve genel olarak tekrarlanabilirliği ve hassasiyeti gösterilmiştir.

Varyasyon katsayısı, aşağıdaki denklem kullanılarak hesaplanmış olup burada σ^2 , verilerin log₁₀ dönüşümünden sonraki örnek varyansdır.

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

HBV pozitif panel üyelerinin tamamında uyum değerleri %100 olarak bulunmuştur.

Tablo 21: Pozitif Panel Üyelerinde Panther Sisteminde Aptima HBV Quant Testi HBV DNA Seviyelerinin Tekrarlanabilirliği

GT	N	Gözlenen Ortalama		Toplam Varyansa Katkı Yüzdesi SS (%CV)					
		IU/ml	Log ₁₀ IU/ml	Tesisler Arasında	Operatörler/Günler Arasında ^a	Lotlar Arasında	Çalışmalar Arasında	Çalışmalar İçinde	Toplam Varyans SS (%CV)
A	108	17,6	1,2	0,059 (13,578)	<0,001 <0,001	0,138 (32,693)	0,090 (20,869)	0,178 (42,883)	0,250 (62,666)
	108	129,4	2,1	0,009 (2,162)	0 (0)	0,074 (17,109)	0,051 (11,869)	0,106 (24,736)	0,139 (32,886)
	107	1056,0	3,0	0,035 (7,994)	0,032 (7,432)	0,014 (3,246)	0,032 (7,356)	0,085 (19,666)	0,103 (24,060)
	108	7663,0	3,9	0 (0)	0,027 (6,262)	0,040 (9,235)	0,044 (10,088)	0,066 (15,194)	0,092 (21,540)
	108	188172,1	5,3	0,027 (6,281)	0,042 (9,707)	0,042 (9,787)	0,030 (6,829)	0,072 (16,689)	0,102 (23,772)
	108	9389094,1	7,0	0,038 (8,846)	0 (0)	0,031 (7,237)	0,064 (14,791)	0,068 (15,756)	0,106 (24,692)
	107	86664677,2	7,9	0,038 (8,692)	0,029 (6,753)	0,020 (4,584)	0,037 (8,635)	0,049 (11,375)	0,081 (18,725)
	107	753726183,2	8,9	0,024 (5,476)	0,052 (11,997)	0,015 (3,499)	0,045 (10,304)	0,053 (12,187)	0,091 (21,163)
	107	17,0	1,2	0,041 (9,521)	0,041 (9,392)	0,074 (17,147)	0,092 (21,438)	0,189 (45,704)	0,230 (57,010)
	108	152,9	2,2	0,035 (8,127)	0 (0)	0,055 (12,706)	0,064 (14,925)	0,131 (30,748)	0,160 (38,013)
C	108	1363,8	3,1	0,042 (9,583)	0,023 (5,316)	0 (0)	0,061 (14,033)	0,055 (12,623)	0,094 (22,002)
	108	9871,9	4,0	0,011 (2,472)	0,014 (3,270)	0,040 (9,337)	0,038 (8,801)	0,059 (13,651)	0,083 (19,291)
	108	217400,5	5,3	0,031 (7,255)	0,047 (10,843)	0,016 (3,791)	0,026 (6,023)	0,063 (14,685)	0,090 (21,044)
	108	12087179,5	7,1	0,046 (10,543)	0 (0)	0,020 (4,652)	0,064 (14,762)	0,073 (16,922)	0,109 (25,501)
	108	57743712,8	7,8	0,044 (10,232)	0,028 (6,472)	0,013 (2,944)	0,043 (10,026)	0,052 (12,010)	0,087 (20,146)
	108	572184754,9	8,7	0,042 (9,711)	0,048 (11,160)	0,028 (6,374)	0,034 (7,740)	0,048 (11,081)	0,091 (21,208)

%CV=log-normal varyasyon katsayısı, GT=genotip, SS=standart sapma.

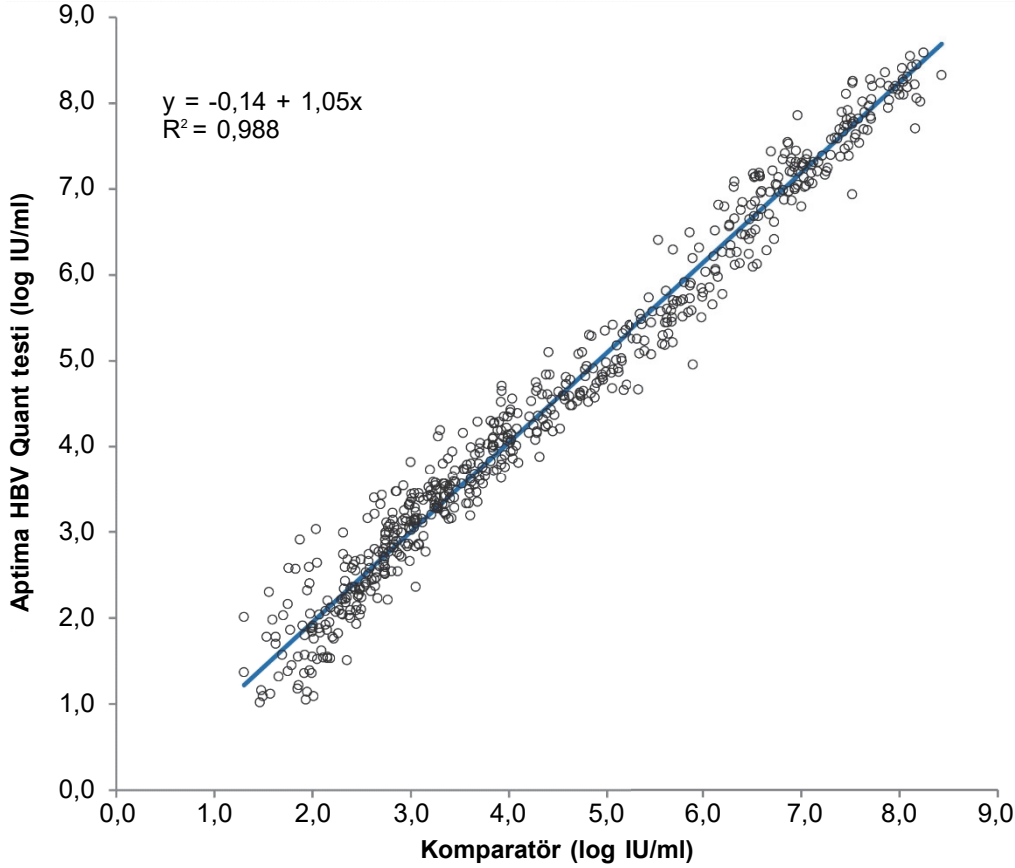
Not: Bazı faktörlerden kaynaklanan değişkenlik sayısal olarak negatif olabilir. Bu faktörlerden kaynaklanan değişkenlik çok küçükse bu durum ortaya çıkabilir. Böyle durumlarda SS ve CV 0 olarak gösterilir.

^a Operatörler Arası, Günler Arası ile karıştırılabilir; bu nedenle Operatörler Arası ve Günler Arası tahminleri Operatörler/Günler Arası içinde birleştirilir.

Klinik Performans

Yöntem Korelasyonu

Aptima HBV Quant testinin performansı, HBV enfekte hastalardan seyreltilmemiş klinik örnekler test edilerek CE işaretli ve Health Canada lisanslı bir komparatör teste karşı değerlendirilmiştir. Her iki test için ortak olan doğrusal aralıktaki toplam 614 klinik örnek, Şekil 9 içinde gösterildiği gibi doğrusal regresyon için kullanılmıştır.



Şekil 9. Aptima HBV Quant Testi ve Komparatör Test Arasındaki Korelasyon

Klinik Fayda

Çalışma, Aptima HBV Quant testinin tedavi başlangıcından 48 hafta sonra virolojik, biyokimyasal ve serolojik klinik fayda sonlanım noktalarını tahmin etme yeteneğini değerlendirmek üzere tasarlanmıştır. Standart bakım tedavilerinin bir parçası olarak entekavir veya tenofovir ile monoterapiye başlayan kronik HBV enfeksiyonlu gönüllülerden örnekler prospektif olarak toplanmıştır.

Kayıtlı 331 gönüllüden 86'sı çalışmadan çekilme, tedavinin kesilmesi, tedavinin erken durdurulması, 48. hafta sonuçlarının eksik olması veya eksik veya düşük başlangıç HBV DNA viral yükleri nedeniyle değerlendirilememiştir. Geriye kalan 245 gönüllü, klinik fayda sonlanım noktalarından en az biri için değerlendirilebilir nitelikte olup bunların 126'sı HBeAg(+) ve 119'u HBeAg(-) gönüllü olmuştur. Tablo 22, değerlendirilebilir gönüllülerin demografik ve başlangıçtaki klinik özelliklerini göstermektedir. Bu çalışmadaki gönüllülerin demografik dağılımı ABD'deki kronik HBV hastalarının dağılımıyla tutarlı olmuştur.¹³ HBeAg(+) ve HBeAg(-) gönüllülerin verileri ayrı ayrı analiz edilmiştir.

Tablo 22: Değerlendirilebilir Gönüllülerin Demografisi ve Başlangıçtaki Klinik Özellikleri

Özellikler	Toplam
Toplam, N	245
Entekavir	n (%)
Tenofovir	n (%)
Cinsiyet, n (%)	Erkek
	Kadın
Yaş (yıl)	Ort ± SS
	Medyan
	Aralık
Yaş kategorisi (yıl), n (%)	18-29
	30-49, n (%)
	50-70, n (%)
	>70, n (%)
Etnik köken, n (%)	Hispanik veya Latin
	Hispanik veya Latin olmayan
	Bilinmiyor/Reddedildi
Irk ^a , n (%)	Beyaz
	Siyahi veya Afrikalı Amerikalı
	Asyalı
	Amerikan Yerlisi/Alaska Yerlisi
	Yerli Hawaiiili/Pasifik Adalı
	Diğer
	Bilinmiyor/Reddedildi
Genotip, n (%)	A
	B
	C
	D
	E
	F
	G
	H
	Bilinmiyor
HBV tedavi durumu, n (%)	Tedavi Görmüş
	Tedavi Görmemiş
Önceki ilaç tedavisi, n (%)	Tenofovir
	Entekavir
	Adefovir
	Lamivudin
	Telbivudin
	İnterferon
	Diğer ^b
Önceki tedavi sonucu, n (%)	Başarısız
	Başarılı
	Başka nedenlerle kesildi
HBsAg serolojik durum, n (%)	Pozitif/reaktif
	Yapılmadı

Tablo 22: Değerlendirilebilir Gönüllülerin Demografisi ve Başlangıçtaki Klinik Özellikleri (devamı)

Özellikler		Toplam
Sirotik durum, n (%)	Sirotik	26 (10,6)
	Sirotik değil	201 (82,0)
	Yapılmadı	18 (7,3)
HBV viral yükü (log ₁₀ IU/ml)	Ort ± SS	6,3 ± 1,93
	Medyan	6,4
	Aralık	3 – 9
ALT (U/l)	Ort ± SS	102,4 ± 175,97
	ULN'nin üstündeki sayı ^c	177 (85,9)

^a Gönüllüler birden fazla ırk bildirebilir.

^b Listelenen spesifik ilaçların çeşitli kombinasyonları.

^c Alanin aminotransferaz (ALT) için normal aralığın üst limiti (ULN) erkeklerde 30 U/l, kadınlarda ise 19 U/l olmuştur.

Antiviral Tedaviye Yanıtın Tahmin Edilmesi

Aptima HBV Quant testinin klinik faydası tenofovir ve entekavir ile tedavi edilen bireylerde değerlendirilmiştir. Diğer HBV antiviral tedavileri kullanıldığında testin klinik faydasına ilişkin bilgi bulunmamaktadır.

Tanımlar:

Erken virolojik yanıt sonuçları

12. Hafta ve 24. Hafta virolojik yanıt = Panther sisteminde Aptima HBV Quant testi ile değerlendirildiği üzere HBV DNA <10 IU/ml (<LLOQ)

12. Hafta alternatif virolojik yanıt = başlangıç seviyesinden HBV DNA $\geq 2 \log_{10}$ değerinde azalma

24. Hafta alternatif virolojik yanıt = HBV DNA <2000 IU/ml (HBeAg+ için) veya <50 IU/ml (HBeAg- için)

Klinik fayda sonlanım noktaları

48. hafta virolojik yanıt = onaylı bir HBV kantitatif testiyle değerlendirildiği üzere HBV DNA <10 IU/ml (<LLOQ)

48. Hafta alternatif virolojik yanıt = Onaylı bir HBV kantitatif testiyle değerlendirildiği üzere HBV DNA <50 IU/ml

Biyokimyasal yanıt = 48. Haftada ALT test sonuçlarının normalleşmesi (ALT erkeklerde <30 U/l ve kadınlarda <19 U/l)

Serolojik yanıt = 48. Haftada HBeAg kaybı (HBeAg negatif sonuçlar)

İlişkilendirme ve tahminî değer ölçümleri

Pozitif Tahminî Değer (PPV) = Gerçek Pozitif / (Gerçek Pozitif + Yanlış Pozitif) veya erken zaman noktasında virolojik yanıt görülen gönüllülerde 48. Haftada yanıt olasılığı (değerlendirilen klinik fayda sonlanım noktası için)

Negatif Tahminî Değer (NPV) = Gerçek Negatif / (Yanlış Negatif + Gerçek Negatif) veya erken zaman noktasında virolojik yanıt görülen gönüllülerde 48. Haftada yanıt vermeme olasılığı (değerlendirilen klinik fayda sonlanım noktası için)

Olasılık Oranı (OR) = (Gerçek Pozitif × Gerçek Negatif) / (Yanlış Pozitif × Yanlış Negatif)

48. Haftada HBV DNA <10 IU/ml Olarak Tanımlanan Virolojik Yanıtın Tahmin Edilmesi

Bu çalışmada virolojik yanıtın birincil tanımı HBV DNA <10 IU/ml olmuştur ve bu tanım hem 12. ve 24. Haftalardaki erken virolojik yanıt hem de 48. Haftadaki virolojik yanıt için kullanılmıştır. 12. ve 24. Haftalardaki erken virolojik yanıtlar ile 48. Haftadaki klinik fayda sonlanım noktaları (virolojik yanıt, biyokimyasal yanıt, serolojik yanıt) arasındaki ilişki değerlendirilmiştir.

48. Haftada Virolojik Yanıtın Tahmin Edilmesi

48. Haftadaki virolojik yanıt ile 12. ve 24. Haftalardaki virolojik yanıt arasındaki ilişkiler Tablo 23 içinde özetlenmiştir.

48. Haftadaki virolojik yanıtın öngörücüleri olarak 12. ve 24. Haftalardaki erken virolojik yanıtlar haftaya ve tedaviye göre değişiklik göstermiştir.

Tablo 23: Tedavi Sırasında Erken Virolojik Yanıtlarla Tahmin Edilen Virolojik Yanıt için PPV, NPV ve Olasılık Oranı: 48. Haftada Virolojik Yanıt <10 IU/ml olarak tanımlanmıştır

HBeAg Durumu	Erken Virolojik Yanıt Haftası	Tedavi	PPV (%)		NPV (%)		OR
			Tahmin (%95 GA)	n/N	Tahmin (%95 GA)	n/N	Tahmin (%95 GA) ^{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)
		Tümü	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)
		Tümü	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)
		Tümü	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)
		Tümü	87,6 (82,7, 92,6)	78/89	62,5 (44,8, 78,0)	15/24	11,82 (4,30, 34,94)

GA=%95 profil-olasılık güven aralığı.

^a Gölgeleme, olasılık oranlarının istatistiksel anlamlılığını göstermektedir.

^b Olasılık oranlarının ve güven aralıklarının hesaplanması için en az bir hücre sıfır olduğunda tüm hücrelere 0,5 eklenmiştir.

48. Haftada Biyokimyasal Yanıtın Tahmin Edilmesi

48. Haftadaki biyokimyasal yanıt ile 12. ve 24. Haftalardaki virolojik yanıt arasındaki ilişkiler Tablo 24 içinde özetlenmiştir.

48. Haftadaki biyokimyasal yanıtın öngörücüsü olarak 12. ve 24. Haftalardaki erken virolojik yanıtların değeri haftaya ve tedaviye göre değişiklik göstermiştir.

Tablo 24: Tedavi Sırasında Erken Virolojik Yanıtla Tahmin Edilen Biyokimyasal Yanıt İçin PPV, NPV ve Olasılık Oranı: 48. Haftada Virolojik Yanıt <10 IU/ml olarak tanımlanmıştır

HBeAg Durumu	Erken Virolojik Yanıt Haftası	Tedavi	PPV (%)		NPV (%)		OR
			Tahmin (%95 GA)	n/N	Tahmin (%95 GA)	n/N	Tahmin (%95 GA) ^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)
		Tümü	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)
		Tümü	60,0 (36,6, 80,9)	9/15	63,6 (58,2, 70,0)	42/66	2,62 (0,84, 8,70)
	12	Entekavir	43,8 (25,1, 61,2)	7/16	50,0 (25,1, 74,9)	6/12	0,78 (0,17, 3,53)
		Tenofovir	52,9 (35,1, 72,2)	9/17	76,2 (61,2, 89,8)	16/21	3,60 (0,93, 15,39)
		Tümü	48,5 (36,0, 60,9)	16/33	66,7 (54,5, 78,6)	22/33	1,88 (0,70, 5,20)
HBeAg(-)	24	Entekavir	45,8 (36,0, 56,0)	11/24	75,0 (25,2, 98,7)	3/4	2,54 (0,28, 55,45)
		Tenofovir	42,9 (32,8, 53,1)	12/28	80,0 (53,0, 97,1)	8/10	3,00 (0,61, 22,34)
		Tümü	44,2 (37,8, 50,8)	23/52	78,6 (55,1, 95,0)	11/14	2,91 (0,80, 13,98)

GA=%95 profil-olasılık güven aralığı, NC=hesaplanamaz.

^a Olasılık oranlarının ve güven aralıklarının hesaplanması için en az bir hücre sıfır olduğunda tüm hücrelere 0,5 eklenmiştir.

48. Haftada Serolojik Yanıtın Tahmin Edilmesi

48. Haftadaki serolojik yanıt ile 12. ve 24. Haftalardaki virolojik yanıt arasındaki ilişkiler Tablo 25 içinde özetlenmiştir.

48. Haftadaki serolojik yanıtın öngörücüsü olarak 12. ve 24. Haftalardaki erken virolojik yanıtların değeri haftaya ve tedaviye göre değişiklik göstermiştir.

Tablo 25: Tedavi Sırasında Erken Virolojik Yanıtla Tahmin Edilen Serolojik Yanıt için PPV, NPV ve Olasılık Oranı: 48. Haftada Virolojik Yanıt <10 IU/ml olarak tanımlanmıştır

HBeAg Durumu	Erken Virolojik Yanıt Haftası	Tedavi	PPV (%)		NPV (%)		OR
			Tahmin (%95 GA)	n/N	Tahmin (%95 GA)	n/N	Tahmin (%95 GA) ^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)
		Tümü	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)
		Tümü	25,0 (8,5, 43,6)	5/20	85,4 (82,5, 89,4)	88/103	1,96 (0,57, 5,94)

GA=%95 profil-olasılık güven aralığı.

^a Olasılık oranlarının ve güven aralıklarının hesaplanması için en az bir hücre sıfır olduğunda tüm hücrelere 0,5 eklenmiştir.

48. Haftada HBV DNA <50 IU/ml Olarak Tanımlanan (Alternatif Tanım) Virolojik Yanıtın Tahmin Edilmesi

Erken (12. ve 24. Haftalar) ve 48. Haftada virolojik yanıtların alternatif tanımları da değerlendirilmiştir (yukarıdaki alternatif yanıt tanımlarına bakınız).

Bu alternatif virolojik yanıt tanımları kullanılarak, klinik fayda sonlanım noktaları ile 12. ve 24. Haftalardaki virolojik yanıt arasındaki ilişkiler Tablo 26 (virolojik yanıt), Tablo 27 (biyokimyasal yanıt) ve Tablo 28 (serolojik yanıt) içinde özetlenmiştir.

Tablo 26: Tedavi Sırasında Erken Virolojik Yanıtla Tahmin Edilen Virolojik Yanıt için PPV, NPV ve Olasılık Oranı: 48. Haftada Virolojik Yanıt <50 IU/ml olarak tanımlanmıştır

HBeAg Durumu	Erken Virolojik Yanıt Haftası	Tedavi	PPV (%)		NPV (%)		OR
			Tahmin (%95 GA)	n/N	Tahmin (%95 GA)	n/N	Tahmin (%95 GA) ^{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)
		Tümü	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)
		Tümü	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)
		Tümü	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)
		Tümü	96,9 (93,8, 99,2)	93/96	23,5 (7,0, 39,8)	4/17	9,54 (1,91, 53,22)

GA=%95 profil-olasılık güven aralığı, NC=hesaplanamaz.

^a Gölgeleme, olasılık oranlarının istatistiksel anlamlılığını göstermektedir.

^b Olasılık oranlarının ve güven aralıklarının hesaplanması için en az bir hücre sıfır olduğunda tüm hücelere 0,5 eklenmiştir ancak 48. Haftada yanıt veya 48. Haftada yanıtızlık olmadığında olasılık oranı NC olarak raporlanmıştır.

Tablo 27: Tedavi Sırasında Erken Virolojik Yanıtlı Tahmin Edilen Biyokimyasal Yanıt İçin PPV, NPV ve Olasılık Oranı: 48. Haftada Virolojik Yanıt <50 IU/ml olarak tanımlanmıştır

HBeAg Durumu	Erken Virolojik Yanıt Haftası	Tedavi	PPV		NPV		OR
			Tahmin (%95 GA)	n/N	Tahmin (%95 GA)	n/N	Tahmin (%95 GA) ^{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)
		Tümü	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)
		Tümü	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)
		Tümü	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)
		Tümü	42,6 (36,4, 48,9)	23/54	75,0 (48,8, 93,7)	9/12	2,23 (0,59, 10,87)

GA=%95 profil-olasılık güven aralığı.

^a Gölgeleme, olasılık oranlarının istatistiksel anlamlılığını göstermektedir.

^b Olasılık oranlarının ve güven aralıklarının hesaplanması için en az bir hücre sıfır olduğunda tüm hücrelere 0,5 eklenmiştir.

Tablo 28: Tedavi Sırasında Erken Virolojik Yanıtlı Tahmin Edilen Serolojik Yanıt için PPV, NPV ve Olasılık Oranı: 48. Haftada Virolojik Yanıt <50 IU/ml olarak tanımlanmıştır

HBeAg Durumu	Erken Virolojik Yanıt Haftası	Tedavi	PPV		NPV		OR
			Tahmin (%95 GA)	n/N	Tahmin (%95 GA)	n/N	Tahmin (%95 GA) ^{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)
		Tümü	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)
		Tümü	24,4 (20,0, 28,4)	19/78	97,8 (90,4, 99,9)	44/45	14,17 (2,77, 259,25)

GA=%95 profil-olasılık güven aralığı.

^a Gölgeleme, olasılık oranlarının istatistiksel anlamlılığını göstermektedir.

^b Olasılık oranlarının ve güven aralıklarının hesaplanması için en az bir hücre sıfır olduğunda tüm hücrelere 0,5 eklenmiştir.

Sonuç

Genel olarak, bulgular Aptima HBV Quant testinin, tedaviye verilen viral yanıtı değerlendirmeye yardımcı olmak amacıyla başlangıçta ve tedavi sırasında HBV DNA seviyelerini ölçebileceğini göstermektedir. Bu çalışma, 48. Haftadaki virolojik yanıtın öngörücüleri olarak 12. ve 24. Haftalardaki erken virolojik yanıtların haftaya ve tedaviye göre değişiklik gösterdiğini ortaya koymuştur.

Aptima HBV Quant testi, HBV antiviral ilaç tedavisi gören kronik HBV enfeksiyonlu hastaların tedavisine yardımcı olarak kullanılabilir.

Kaynakça

1. **Dünya Sağlık Örgütü.** Global progress report on HIV, viral hepatitis and sexually transmitted infections, 2021. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240027077>. Erişim tarihi: Eylül 2022.
2. **Liaw YF, Chu CM.** Hepatitis B virus infection. *Lancet*. 2009;373(9663):582-592.
3. **Avrupa Karaciğer Araştırmaları Derneği.** EASL Clinical Practice Guidelines: Management of chronic hepatitis B virus infection. *Journal of Hepatology* 2012; 57:167-185.
4. **Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı.** 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; Amerikan Karaciğer Hastalıkları Araştırmaları Derneği.** AASLD guidelines for treatment of chronic hepatitis B. *Hepatology*. 2016 Ocak;63(1):261-83.
7. **Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü.** 2005. Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods; Approved Guideline. CLSI Document MM13-A. Wayne, PA.
8. **29 CFR Bölüm 1910.1030.** Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens; current version.
9. **Hastalık Kontrol ve Korunma Merkezleri/Ulusal Sağlık Enstitüleri.** Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL); current version.
10. **Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü.** 2002. Clinical Laboratory Waste Management. CLSI Document GP5-A2. Villanova, PA.
11. **Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (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. **Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (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 ve ark.** 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>.

İletişim Bilgileri ve Revizyon Geçmişi



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



Hologic BV
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belçika

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

Ülkeye özgü Teknik Destek ve Müşteri Hizmetleri e-posta adresi ve telefon numarası için www.hologic.com/support adresini ziyaret edin.

Avrupa Birliği'nde cihazla ilgili olarak meydana gelen ciddi olaylar, üreticiye ve kullanıcının ve/veya hastanın yerleşik olduğu Üye Devletin yetkili makamına bildirilmelidir.

Hologic, Aptima, Panther, Panther Fusion ve ilişkili logolar; Hologic, Inc. ve/veya iştiraklerinin ABD ve/veya diğer ülkelerdeki ticari marka ve/veya tescilli ticari markalarıdır. Bu kullanma talimatında gösterilebilecek diğer tüm ticari markalar ilgili sahiplerinin mülkiyetindedir.

Bu kullanma talimatında gösterilebilecek diğer tüm ticari markalar ilgili sahiplerinin mülkiyetindedir.

Bu ürün, www.hologic.com/patents adresinde tanımlı bir veya daha fazla ABD patenti kapsamı altında olabilir.

© 2017-2025 Hologic, Inc. Tüm hakları saklıdır.
AW-28215-3601 Rev. 003
2025-10

Revizyon Geçmişi	Tarih	Açıklama
AW-28215-3601 Rev. 001	Temmuz 2025	IVDR'ye mevzuat uyumu için yeni Aptima HBV testi Kullanım Talimatları AW-28215 Rev. 001 ilk kez yayınlanmıştır ve AW-13182'nin yerini alacaktır.
AW-28215-3601 Rev. 002	Ağustos 2025	BSI gerekliliklerini karşılamak için ticari marka güncellemeleri.
AW-28215-3601 Rev. 003	Ekim 2025	- Tüp sallayıcı seçeneği eklendi. - SDS güncellendi.