

Aptima® HBV Quant тест

Упутства за употребу
За *in vitro* дијагностичку употребу
Само за извоз из САД

Опште информације	2
Намена	2
Сажетак и објашњење теста	2
Принципи процедуре	3
Сажетак безбедности и перформанси	3
Упозорења и мере предострожности	4
Захтеви у погледу складиштења и руковања реагенсима	9
Узимање и складиштење узорак	9
Узорци на систему Panther	14
Транспорт узорак	14
Систем Panther	15
Реагенси и материјали који се испоручују	15
Потребни материјали који се могу купити засебно	16
Опциони материјали	17
Процедура тестирања на систему Panther	18
Напомене у вези са поступком	21
Контрола квалитета	23
Калибрација теста	23
Негативне и позитивне контроле	23
Интерни калибратор/интерна контрола	23
Тумачење резултата	24
Ограничења	25
Аналитичке перформансе	26
Граница детекције коришћењем 3. међународног стандарда ЗСО	26
Граница детекције код HBV генотипова	26
Линеарни опсег	27
Линеарност међу HBV генотиповима	28
Доња граница квантитације коришћењем 3. међународног стандарда СЗО	28
Доња граница квантитације за све HBV генотипове	30
Следљивост до 3. међународног стандарда СЗО	32
Прецизност	32
Потенцијално ометајуће супстанце	34
Аналитичка специфичност	36
Еквивалентност матрице	37
Разблаживање узорка помоћу Aptima разблаживача узорак (1:3)	37
Разблаживање узорка помоћу Aptima разблаживача узорак (1:100)	38
Потврда LLoQ у узорцима разблаженим у Aptima разблаживачу узорак	40
Прецизност разблажених узорак	40
Преношење	41
Поновљивост	41
Клиничке перформансе	43
Корелација метода	43
Клиничка корист	43
Библиографија	52
Контакт информације и историја ревизија	53

Опште информације

Намена

Aptima® HBV Quant тест је *in vitro* тест амплификације нуклеинске киселине за квантификацију DNK вируса хепатитиса В (HBV) у људској плазми и серуму на потпуно аутоматизованом Panther™ систему.

Плазма се може припремити у етилендиаминтетрасирћетној киселини (EDTA), раствору антикоагуланса цитрата декстроze (ACD) и епруветама за припрему плазме (PPT). Серум се може припремити у епруветама за серум и епруветама за сепарацију серума (SST). Узорци се тестирају коришћењем потпуно аутоматизованог Panther система за обраду узорака, амплификацију и квантификацију. Узорци који садрже HBV генотипове А, В, С, D, Е, F, G и H валидирани су за квантификацију у тесту.

Aptima HBV Quant тест је намењен за употребу као помоћ у лечењу пацијената са хроничним HBV инфекцијама који се подвргавају HBV антивирусној терапији. Тест се може користити за мерење нивоа HBV DNK на почетку и током лечења да би помогао у процени вирусног одговора на лечење. Резултати Aptima HBV Quant теста морају се тумачити у контексту свих релевантних клиничких и лабораторијских налаза.

Aptima HBV Quant тест није намењен за употребу као скрининг тест на присуство HBV DNK у крви или крвним производима или као дијагностички тест за потврду присуства HBV инфекције.

Сажетак и објашњење теста

Вирус хепатитиса В, један од неколико вируса за које се зна да изазивају хепатитис, приписује се доживотној HBV инфекцији, цирози јетре, раку јетре, отказивању јетре и, потенцијално, смрти. Светска здравствена организација (СЗО) наводи HBV као једну од најчешћих заразних болести у свету. Преваленција HBV инфекције и начин преношења увелико варирају широм света. Процењује се да је 2019. године око 296 милиона људи широм света живело са хроничном HBV инфекцијом.¹ HBV инфекција доводи до повећаног ризика од декомпензације јетре, цирозе и хепатоцелуларног карцинома (HCC) са морталитетом од 0,5 до 1,2 милиона смртних случајева и 5-10% случајева трансплантације јетре широм света годишње.^{2,3} Без одговарајућег лечења, интервенције и праћења након дијагнозе, кумулативна инциденца цирозе током 5 година креће се од 8–20%. Када се развије цироза, годишњи ризик од хепатоцелуларног карцинома је 2–5%.⁴

HBV садржи кружни, делимично дволанчани DNK геном од приближно 3200 основних парова, који кодирају четири делимично преклапајућа отворена оквира за читање (ORF) који експримирају полимеразу, површински ORF, предјезгро/језгро и Х протеине. ORF полимеразе се преклапа са остала три ORF-а и кодира кључни протеин за репликацију вируса, полимеразу. Површински ORF експримира три протеина, који су неопходни за вирусну морфогенезу, улазак вируса у хепатоците и изазивање имуног одговора домаћина.⁵ Постоји 8 HBV генотипова (А-Н), и они се обично налазе на различитим географским локацијама.

Због динамичне природе хроничне хепатитис В инфекције, важно је континуирано праћење нивоа HBV DNK и аланин аминотрансферазе (ALT).⁶ За већину особа са HBV инфекцијом које се подвргавају антивирусној терапији, циљ је супресија HBV DNK. Квантитативни тестови нуклеинских киселина са широким линеарним опсегом су ефикасни алати за праћење вирусног оптерећења HBV DNK током терапије.

Принципи процедуре

Aptima HBV Quant тест је *in vitro* тест амплификације нуклеинске киселине који користи технологију амплификације посредоване транскрипцијом у реалном времену (ТМА) на Panther систему за квантификацију HBV DNK, генотипова А, В, С, D, Е, F, G и H. Aptima HBV Quant тест циља два високо конзервирана региона у полимеразу и површинским генима (за повећану толеранцију на потенцијалне мутације). Тест је стандардизован према 3. међународном стандарду ЗСО за вирус хепатитиса В (NIBSC код: 10/264).

Aptima HBV Quant тест укључује три главна корака, који се сви одвијају у једној епрувети на Panther систему: везивање мете, амплификација мете помоћу ТМА и детекција продуката амплификације (ампликона) помоћу флуоресцентно обележених сонди.

Током везивања мете, DNK вируса се изољује из узорка. Узорак се третира детергентом да би се растворила вирусна овојница, денатуришали протеини и ослободила вирусна геномска DNK. Везујући олигонуклеотиди хибридују се са високо конзервираним регионима HBV DNK, ако су присутни, у тест узорку. Хибридувана мета се затим везује за магнетне микрочестице које се одвајају од узорка у магнетном пољу. Кораки прања уклањају стране компоненте из реакционе епрувете.

До амплификације мете долази путем ТМА, који представља транскрипционо усредњену методу амплификације нуклеинске киселине који користи два ензима, реверзну транскриптазу вируса леукемије миша Moloney (MMLV) и полимеразу T7 RNK. Реверзна транскриптаза користи се за генерисање копије DNK (која садржи низ промотера за T7 RNK полимеразу) за циљани низ. T7 RNK полимеразу производи више копија RNK ампликона из шаблона DNK копије. Aptima HBV Quant тест користи ТМА методу за амплификацију два региона HBV генома (полимеразни ген и површински ген). Амплификација ових региона се постиже коришћењем специфичних прајмера дизајнираних да амплификују HBV генотипове А, В, С, D, Е, F, G и H. Приступ двоструког циљног региона са дизајном прајмера који циља на високо очуване регионе обезбеђује тачну квантификацију HBV DNK.

Детекција се постиже коришћењем једноланчаних сонди нуклеинске киселине које су присутне током амплификације мете и које обављају хибридизацију специфично на ампликон у реалном времену. Свака сонда има флуорофор и гасиоца. Када сонда није хибридувана на ампликон, гасилац је близу флуорофора и сузбија флуоресценцију. Када се сонда веже за ампликон, гасилац се помера даље од флуорофора и емитоваће сигнал на одређеној таласној дужини када је побуђен извором светлости. Како се више сонди хибридују на ампликон, генерише се виши флуоресцентни сигнал. Време потребно да флуоресцентни сигнал достигне одређени праг пропорционално је почетној концентрацији HBV. Свака реакција има интерни калибратор/интерну контролу (IC) која контролише варијације у обради узорка, амплификацији и детекцији. Концентрацију узорка одређује софтвер система Panther употребом HBV и IC сигнала за сваку реакцију и упоређивањем с информацијама о калибрацији.

Сажетак безбедности и перформанси

SSP (Сажетак безбедности и перформанси) доступан је у Европској бази података о медицинским производима (Eudamed), где је повезан са идентификаторима уређаја (Основни UDI-DI број уређаја). Да бисте пронашли SSP за Aptima HBV Quant тест, погледајте основни јединствени идентификатор уређаја (BUDI): 54200455DIAGAPTHBVAF.

Упозорења и мере предострожности

- A. За *in vitro* дијагностичку употребу.
- B. За професионалну употребу.
- C. Да бисте смањили ризик од неважећих резултата, пажљиво прочитајте цело упутство у паковању и *Упутство за оператера система Panther / Panther Fusion™* пре извођења овог теста.
- D. Реагенс за побољшавање мете (TER) је корозиван. Погледајте информације о Безбедносном листу на крају овог одељка.

Информације релевантне за лабораторију

- E. ОПРЕЗ: Контроле за овај тест садрже људску плазму. Плазма је нереактивна на површински антиген хепатитиса В (HBsAg), антитела на HCV, антитела на HIV-1 и HIV-2 и HIV антиген када се тестира по процедурама које је лиценцирала Управа за храну и лекове у САД. Поред тога, плазма је нереактивна за HBV DNK, HCV RNK и HIV-1 RNK када се тестира лиценцираним тестовима нуклеинске киселине. Све материјале изведене из људске крви треба сматрати потенцијално заразним и њима треба руковати уз универзалне мере предострожности.^{7,8,9}
- F. Искључиво особље које је адекватно обучено за употребу Aptima HBV Quant теста и за руковање потенцијално инфективним материјалима сме да обавља ову процедуру. Ако дође до изливања, одмах извршите дезинфекцију према одговарајућим процедурама локације.
- G. Користите само испоручени или специфицирани лабораторијски прибор за једнократну употребу.
- H. Примењујте рутинске лабораторијске мере предострожности. Не пипетирајте устима. Немојте јести, пити нити пушити у наменским радним просторима. Носите рукавице за једнократну употребу без пудера, заштитне наочаре и лабораторијске мантиле приликом руковања узорцима и реагенсима из комплета. Темељно оперите руке након руковања узорцима и реагенсима из комплета.
- I. Радне површине, пипете и друга опрема морају се редовно деконтаминирати коришћењем раствора натријум хипохлорита концентрације од 2,5% до 3,5% (0,35 M до 0,5 M).
- J. Одложите све материјале који су дошли у контакт са узорцима и реагенсима у складу са локалним, државним и савезним прописима.^{7,8,9,10} Темељно очистите и дезинфикујте све радне површине.
- K. Контроле садрже натријум-азид као конзерванс. Не користите металне епрувете за пренос реагенса. Ако се раствори који садрже једињења натријум азида одлажу у водоводни систем, треба их разблажити и испрати великом количином текуће воде. Ове мере предострожности се препоручују да би се избегло накупљање наслага у металним епруветама у којима би се могли развити експлозивни услови.
- L. Добре стандардне праксе за молекуларне лабораторије укључују праћење окружења. За праћење окружења у лабораторији, предлаже се следећи поступак:
 - 1. Набавите штапић са памучним врхом и упарите га са Aptima епруветом за аликуот узорка (SAT).
 - 2. Означите сваки SAT на одговарајући начин.
 - 3. Напуните сваки SAT са 1 mL Aptima средства за разблаживање узорка.
 - 4. Да бисте сакупили површинске узорке, лагано навлажите памучни врх дејонизованом водом без нуклеазе.

5. Узмите брис површине која вас занима вертикалним покретима од врха до дна. Окрените брис за отприлике пола окрета док бришете локацију.
6. Одмах ставите узорак бриса у епрувету и нежно окрените брис у разблаживачу да бисте извукли потенцијалне материјале за брис. Притисните штапић са стране епрувете за транспорт да бисте извукли што је могуће више течности. Одбаците брис и затворите епрувету.
7. Поновите кораке за преостале узорке брисева.
8. Тест брис са молекуларним тестом.

Информације релевантне за узорак

- M. Узорци могу бити заразни. Придржавајте се универзалних мера предострожности^{7,8,9} приликом извођења овог теста. Правилне методе руковања и одлагања треба да се успоставе у складу са локалним прописима.¹⁰ Искључиво особље које је адекватно обучено за употребу теста Aptima HBV Quant и обучено за руковање инфективним материјалима сме да обавља ову процедуру.
- N. Одржавајте одговарајуће услове складиштења током транспорта узорка како бисте осигурали интегритет узорка. Стабилност узорка у условима транспорта осим оних препоручених није процењена.
- O. Избегавајте унакрсну контаминацију током корака руковања узорцима. Будите посебно опрезни да бисте избегли контаминацију ширењем аеросола приликом лабављења или скидања поклопца узорка. Узорци могу садржавати изузетно високе нивое организама. Уверите се да посуде са узорцима не додирују једна другу и баците коришћене материјале без преласка преко отворене посуде. Замените рукавице ако дођу у контакт са узорком.

Информације релевантне за тест

- P. Немојте користити комплет реагенса, калибратор или контроле након истека рока трајања.
- Q. Немојте мењати, мешати или комбиновати реагенсе за анализу из комплета са различитим главним бројевима серије. Течности за тестирање могу бити различитих серија. Контроле и калибратор могу бити из различитих серија.
- R. Избегавајте микробну и нуклеазну контаминацију реагенса.
- S. Затворите реагенсе за тест и чувајте их на наведеним температурама. На ефикасност резултата теста може утицати неправилно складиштење комплета реагенса за тест. Више информација потражите у *Захтеви у погледу складиштења и руковања реагенсима и Процедура тестирања на систему Panther*.
- T. Немојте комбиновати никакве реагенсе за тест или течности без посебних упутстава. Не допуњавајте реагенсе или течности. Систем Panther проверава нивое реагенса.
- U. Избегавајте контакт TER материјала са кожом, очима и слузокожом. Испрати водом ако дође до контакта са овим реагенсом. Ако дође до просипања овог реагенса, разблажите га водом и следите одговарајуће процедуре локације.
- V. Неки реагенси у овом комплету су означени информацијама о опасностима.

Напомена: Саопштење о опасностима одражава класификацију ЕУ безбедносних листова (SDS). За информације о саопштењу о опасностима специфичне за ваш регион, погледајте SDS специфичан за регион у библиотеци безбедносних листова на www.hologicsds.com. Више информација о симболима потражите у легенди симбола на адреси <https://www.hologic.com/package-inserts>.

Информације о опасностима за Северну Америку	
	HBV VL комплет контрола <i>Људски серум / Људска плазма 95–100%</i> <i>Натријум-азид <1%</i> — —
	Реагенс за побољшавање мете <i>Lithium Hydroxide, Monohydrate 5–10%</i> — —
 	ОПАСНОСТ H302 – Штетно ако се прогута H314 – Изазива тешке опекотине коже и оштећење ока P264 – Након руковања темељно опрати лице, руке и сву изложену кожу P270 – Немојте јести, пити или пушити када користите овај производ P330 – Исперите уста P501 – Одложите садржај/контејнер у одобрено постројење за одлагање отпада P260 – Не удисати прашину или маглу P280 – Носити заштитне рукавице/заштитну одећу/заштиту за очи/заштиту за лице P301 + P330 + P331 – АКО СЕ ПРОГУТА: исперите уста. НЕ изазивајте повраћање P303 + P361 + P353 – АКО ДОСПЕ НА КОЖУ (или косу): Уклоните одмах сву контаминирану одећу. Исперите кожу водом/туширајте се P304 + P340 – АКО СЕ УДАХНЕ: Изведите особу на свеж ваздух и оставите је у положају удобном за дисање P305 + P351 + P338 – АКО ДОСПЕ У ОЧИ: Пажљиво испирати водом неколико минута. Уклонити контактна сочива, уколико постоје и уколико је то могуће учинити. Наставити са испирањем P321 – Специфичан третман (погледајте додатна упутства за прву помоћ у безбедносном листу) P363 – Оперите контаминирану одећу пре поновне употребе P405 – Чувати закључано P301 + P317 – АКО СЕ ПРОГУТА: Потражити помоћ лекара. P316 – Одмах потражити хитну помоћ лекара.
Информације о опасностима за ЕУ	
— —	Реагенс за амплификацију <i>Magnesium Chloride 60-65%</i> H412 – Штетно за водени свет са дуготрајним последицама. P273 – Избегавајте одлагање у животну средину. P501 – Одложите садржај/контејнер у одобрено постројење за одлагање отпада.
	Ензимски реагенс <i>HEPES 1–5%</i> <i>Triton X-100 1–5%</i> — — H412 – Штетно за водени свет са дуготрајним последицама. P273 – Избегавајте одлагање у животну средину. P501 – Одложите садржај/контејнер у одобрено постројење за одлагање отпада.

—	Раствор за реконституцију ензима <i>Glycerol 20–25%</i> <i>Triton X-100 5–10%</i> <i>HEPES 1–5%</i> — H412 – Штетно за водени свет са дуготрајним последицама. P273 – Избегавајте одлагање у животну средину. P501 – Одложите садржај/контејнер у одобрено постројење за одлагање отпада.
—	Реагенс промотера <i>Magnesium Chloride 60–65%</i> — H412 – Штетно за водени свет са дуготрајним последицама. P273 – Избегавајте одлагање у животну средину. P501 – Одложите садржај/контејнер у одобрено постројење за одлагање отпада.
—	Реагенс за везивање мете <i>HEPES 15–20%</i> <i>Lauryl Sulfate Lithium Salt 5–10%</i> <i>Succinic Acid 1–5%</i> <i>Lithium Hydroxide, Monohydrate 1–5%</i> — H412 – Штетно за водени свет са дуготрајним последицама. P273 – Избегавајте одлагање у животну средину. P501 – Одложите садржај/контејнер у одобрено постројење за одлагање отпада.
—	HBV VL комплет калибратора <i>HEPES 15–20%</i> <i>Lauryl Sulfate Lithium Salt 5–10%</i> <i>Succinic Acid 1–5%</i> <i>Lithium Hydroxide, Monohydrate 1–5%</i> — H412 – Штетно за водени свет са дуготрајним последицама. P273 – Избегавајте одлагање у животну средину. P501 – Одложите садржај/контејнер у одобрено постројење за одлагање отпада.
  	HBV VL комплет контрола <i>Људски серум / Људска плазма 95–100%</i> <i>Натријум-азид <1%</i> — ОПАСНОСТ H300 – Смртоносно ако се прогута. H410 – Веома токсично по живи свет у води са дуготрајним последицама. P264 – Опрати лице, руке и изложену кожу детаљно након руковања. P273 – Избегавајте одлагање у животну средину. P301 + P310 - АКО СЕ ПРОГУТА: Хитно позвати Центар за контролу тровања или се обратити лекару. P321 – Специфичан третман (видети допунска упутства за прву помоћ на овој етикети). P330 – Испрати уста. P391 – Сакупити просути садржај.

Реагенс за побољшавање мете***Lithium Hydroxide, Monohydrate 5–10%*****ОПАСНОСТ**

H302 – Штетно ако се прогута.

H314 – Изазива тешке опекотине коже и оштећење ока.

P264 – Оперите лице, руке и сву изложену кожу темељно након руковања.

P270 – Немојте јести, пити или пушити када користите овај производ.

P330 – Испрати уста.

P501 – Одложите садржај/контејнер у одобрено постројење за одлагање отпада.

P260 – Не удисати прашину/дим/гас/маглу/паре/спреј.

P280 – Носити заштитне рукавице/заштитну одећу/заштиту за очи/заштиту за лице.

P301 + P330 + P331 – АКО СЕ ПРОГУТА: Исперите уста. НЕ изазивајте повраћање.

P303 + P361 + P353 – АКО ДОСПЕ НА КОЖУ (или косу): Уклоните одмах сву контаминирану одећу.

Исперите кожу водом [или се истуширајте].

P304 + P340 – АКО СЕ УДАХНЕ: Изведите особу на свеж ваздух и оставите је у положају удобном за дисање.

P305 + P351 + P338 – АКО ДОСПЕ У ОЧИ: Пажљиво испирати водом неколико минута. Уклонити контактна сочива, уколико постоје и уколико је то могуће учинити. Наставити са испирањем

P310 – Одмах позвати ЦЕНТАР ЗА ТРОВАЊЕ или лекара.

P321 – Специфично лечење (видети додатна упутства за прву помоћ на овој етикети).

P363 – Оперите контаминирану одећу пре поновне употребе.

P405 – Чувати закључано.

Захтеви у погледу складиштења и руковања реагенсима

- A. Следећа табела приказује услове складиштења и стабилност за реагенсе, контроле и калибратор.

Реагенс	Неотворено складиштење	Отворени комплет (обављена реконституција)	
		Складиштење	Стабилност
qHBV Реагенс за амплификацију	2 °C до 8 °C		
qHBV Раствор за амплификацију реконституције	2 °C до 8 °C	2 °C до 8 °C	30 дана ^a
qHBV Ензимски реагенс	2 °C до 8 °C		
qHBV Раствор за реконституцију ензима	2 °C до 8 °C	2 °C до 8 °C	30 дана ^a
qHBV Реагенс промотера	2 °C до 8 °C		
qHBV Раствор за реконституцију промотера	2 °C до 8 °C	2 °C до 8 °C	30 дана ^a
qHBV Реагенс за везивање мете	2 °C до 8 °C	2 °C до 8 °C	30 дана ^a
qHBV PCAL (позитивни калибратор)	-15 °C до -35 °C	15 °C до 30 °C	Бочица за једнократну употребу Употребити у року од 24 сата
qHBV NC CONTROL – (негативна контрола)	-15 °C до -35 °C	15 °C до 30 °C	Бочица за једнократну употребу Употребити у року од 24 сата
qHBV LPC CONTROL + (ниска позитивна контрола)	-15 °C до -35 °C	15 °C до 30 °C	Бочица за једнократну употребу Употребити у року од 24 сата
qHBV HPC CONTROL + (висока позитивна контрола)	-15 °C до -35 °C	15 °C до 30 °C	Бочица за једнократну употребу Употребити у року од 24 сата
qHBV Реагенс за побољшавање мете	15 °C до 30 °C	15 °C до 30 °C	30 дана ^a

^a Када се реагенси уклоне из система Panther, треба их одмах вратити на одговарајућу температуру складиштења.

- B. Одбаците све неискоришћене, реконституисане реагенсе, реагенс за везивање мете (TCR) и реагенс за побољшавање мете (TER) после 30 дана или после датума истека главне серије, шта год наступи прво.
- C. Реагенси који се чувају у систему Panther имају 72 сата стабилности. Реагенси се могу убацити у систем Panther до 8 пута. Систем Panther евидентира сваки пут када се реагенси поставе.
- D. Након одмрзавања калибратора, раствор мора бити бистар, односно не сме бити замућен или имати талог. Постарајте се да талози буду растворени. Немојте користити калибратор ако постоје желирање, талог или замућеност.
- E. Реагенс промотера и реконституисани реагенс промотера су фотосензитивни. Заштитите ове реагенсе од светлости током складиштења и припреме за употребу.
- F. qHBV Реагенс за побољшавање мете мора бити на 15 °C до 30 °C пре употребе.

Узимање и складиштење узорка

Напомена: Рукујте свим узорцима као да садрже потенцијално заразне агенсе. Примењујте универзалне мере предострожности.

Напомена: Водите рачуна да избегнете унакрсну контаминацију током корака руковања узорком. На пример, баците употребљени материјал без преласка преко отворених епрувета.

Напомена: За складиштење се препоручују само пластичне секундарне епрувете.

Могу се користити узорци комплетне крви прикупљени у следећим стакленим или пластичним епруветама:

- Епрувете које садрже антикоагуланасе етилендиаминтетрасирћетне киселине (EDTA) или киселе цитрат декстрозе (ACD)
- Епрувете за припрему плазме
- Епрувете за серум
- Епрувете за сепарацију серума

За серум, пустите да се формира угрушак пре даље обраде.

А. Прикупљање узорака

Комплетна крв се може чувати на температури од 2 °C до 30 °C до 24 сата, а плазма се мора одвојити центрифугирањем у примарној епрувети пре обраде. Одвојите плазму или серум од црвених крвних зрнаца пратећи упутства произвођача за епрувету која се користи. Плазма или серум се могу тестирати на Panther систему у примарној епрувети или пренети у секундарну епрувету као што је Aptima® епрувета за аликвот узорка. Да би се добио реакциони волумен од 500 µL, минимална запремина плазме или серума за примарне епрувете за прикупљање је до 1200 µL, а за секундарне епрувете минимална запремина је 700 µL. Следећа табела идентификује захтеве за мртву запремину за сваки тип примарне и секундарне епрувете.

Епрувета (величина и врста)	Мртва запремина на систему Panther
Aptima епрувета за аликвот узорка (SAT)	0,2 mL
12 x 75 mm	0,5 mL
13 x 100 mm	0,5 mL
13 x 100 mm са гелом	0,3 mL
16 x 100 mm са гелом	0,7 mL

Ако се одмах не тестирају, плазма и серум се могу чувати у складу са спецификацијама у наставку. Ако се пренесу у епрувету за аликвот узорка или секундарну епрувету, плазма или серум могу бити замрзнути на -20 °C. Немојте прекорачити 3 циклуса замрзавања-одмрзавања. Немојте замрзавати узорке у EDTA, ACD или примарним епруветама за прикупљање серума.

В. Услови складиштења узорака

1. EDTA и ACD узорци плазме

Комплетна крв се може чувати на температури од 2 °C до 30 °C и мора се центрифугирати у року од 24 сата од прикупљања узорка. Плазма се тада може чувати под једним од следећих услова:

- У примарној или секундарној епрувети за сакупљање на температури од 2 °C до 30 °C до 24 сата,
- У примарној епрувети за сакупљање или секундарној епрувети на температури од 2 °C до 8 °C до 5 дана, или
- У секундарној епрувети на температури од -20 °C до 60 дана.

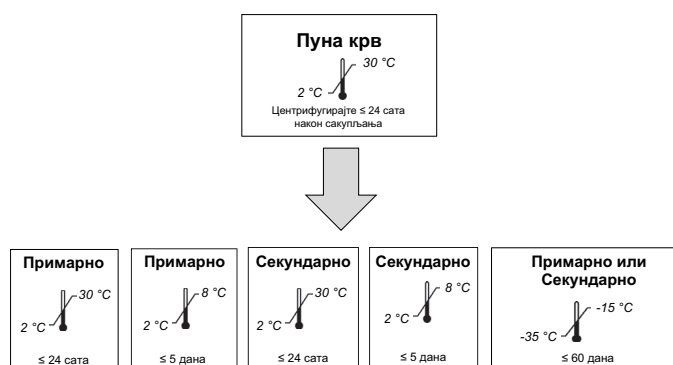


Слика 1. Услови складиштења за EDTA/ACD епрувете

2. PPT узорци

Комплетна крв се може чувати на температури од 2 °C до 30 °C и мора се центрифугирати у року од 24 сата од прикупљања узорка. Плазма се тада може чувати под једним од следећих услова:

- У PPT или секундарној епрувети на температури од 2 °C до 30 °C до 24 сата,
- У PPT или секундарној епрувети на температури од 2 °C до 8 °C до 5 дана или
- У PPT или секундарној цеви на температури од -20 °C до 60 дана.

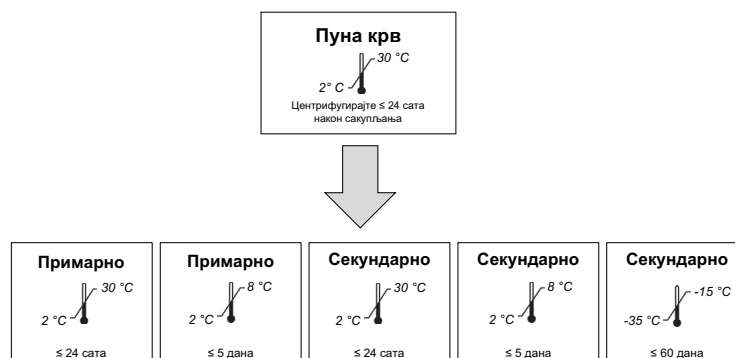


Слика 2. Услови складиштења за PPT-ове

3. Епрувете за узорке серума

Комплетна крв се може чувати на температури од 2 °C до 30 °C и мора се центрифугирати у року од 24 сата од прикупљања узорка. Серум се тада може чувати под једним од следећих услова:

- У епрувети за серум или секундарној епрувети на температури од 2 °C до 30 °C до 24 сата,
- У епрувети за серум или секундарној епрувети на температури од 2 °C до 8 °C до 5 дана, или
- У секундарној епрувети на температури од -20 °C до 60 дана.

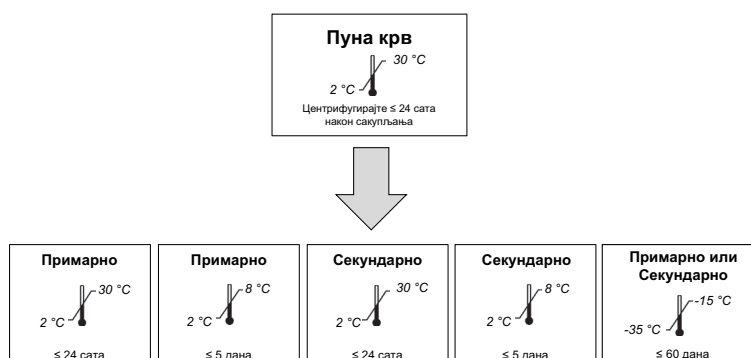


Слика 3. Услови складиштења епрувета са серумом

4. SST узорци

Комплетна крв се може чувати на температури од 2 °C до 30 °C и мора се центрифугирати у року од 24 сата од прикупљања узорка. Серум се тада може чувати под једним од следећих услова:

- У SST или секундарној епрувети на температури од 2 °C до 30 °C до 24 сата,
- У SST или секундарној епрувети на температури од 2 °C до 8 °C до 5 дана или
- У SST или секундарној епрувети на температури од -20°C до 60 дана.



Слика 4. Услови складиштења за SST-ове

C. Дуготрајно замрзнуто складиштење

Узорци плазме или серума могу се чувати на -70 °C у периоду до 60 дана у SAT епрувети.

D. Разблаживање узорака плазме и серума

Узорци плазме и серума могу се разблажити у SAT или секундарној епрувети за тестирање на Panther систему. Погледајте *Процедура тестирања на систему Panther*, корак E.5 у наставку за више информација.

Напомена: Ако је узорак разблажен, треба га тестирати одмах након разблаживања.
Не замрзавајте разблажени узорак.

Узорци на систему Panther

Узорци се могу оставити на Panther систему неотворени до 8 сати. Узорци се могу уклонити из система Panther и тестирати све док укупно време на систему не прелази 8 сати пре пипетирања узорка помоћу Panther система.

Транспорт узорака

Одржавајте услове складиштења узорака као што је описано у одељку *Узимање и складиштење узорака*.

Напомена: Узорци се морају отпремити у складу са важећим националним, међународним и регионалним прописима о транспорту.

Систем Panther

Реагенси за Aptima HBV Quant тест наведени су у наставку за Panther систем.
Идентификациони симболи реагенса такође су наведени поред назива реагенса.

Реагенси и материјали који се испоручују

Aptima HBV Quant комплет за тест, 100 тестова (Кат. бр. PRD-03424)
(1 кутија за анализу, 1 комплет калибратора, 1 комплет за контролу и 1 кутија за реагенса за побољшавање мете)

Додатни калибратори и контроле могу се наручити посебно. Погледајте појединачне каталожке бројеве у наставку.

Кутија за Aptima HBV Quant тест

(по пријему чувати на температури од 2 °C до 8 °C)

Симбол	Компонента	Количина
A	qHBV Реагенс за амплификацију <i>Неинфективне нуклеинске киселине осушене у пуферованом раствору.</i>	1 бочица
E	qHBV Ензимски реагенс <i>Реверзна транскриптаза и RNK полимераза осушене у HEPES пуферованом раствору.</i>	1 бочица
PRO	qHBV Реагенс промотера <i>Неинфективне нуклеинске киселине осушене у пуферованом раствору.</i>	1 бочица
AR	qHBV Раствор за амплификацију реконституције <i>Водени раствор који садржи глицерол и конзервансе.</i>	1 x 7,2 mL
ER	qHBV Раствор за реконституцију ензима <i>HEPES пуферовани раствор који садржи сурфактант и глицерол.</i>	1 x 5,8 mL
PROR	qHBV Раствор за реконституцију промотера <i>Водени раствор који садржи глицерол и конзервансе.</i>	1 x 4,5 mL
TCR	qHBV Реагенс за везивање мете <i>Нуклеинске киселине у пуферованом раствору соли који садржи черсту фазу, неинфективне нуклеинске киселине и унутрашњи калибратор.</i>	1 x 72,0 mL
	Обујмице за реконституцију	3
	Главни лист са бар кодовима серије	1 лист

Aptima HBV Quant комплет калибратора (Кат. бр. PRD-03425)

(по пријему чувати на температури од -15 °C до -35 °C)

Симбол	Компонента	Количина
PCAL	qHBV Позитивни калибратор <i>DNK плазида у пуферованом раствору</i>	5 x 2,5 mL
	Налепница са бар-кодом калибратора	—

Aptima HBV Quant комплет контрола (Кат. бр. PRD-03426)
 (по пријему чувати на температури од -15 °C до -35 °C)

Симбол	Компонента	Количина
NC	qHBV Негативна контрола <i>HBV негативна дефибринисана људска плазма која садржи гентамицин и 0,2% натријум азида као конзервансе.</i>	5 x 0,8 mL
LPC	qHBV Ниска позитивна контрола <i>Деактивирана HBV позитивна плазма у дефибринисаној људској плазми која садржи гентамицин и 0,2% натријум азида као конзервансе.</i>	5 x 0,8 mL
HPC	qHBV Висока позитивна контрола <i>Деактивирана HBV позитивна плазма у дефибринисаној људској плазми која садржи гентамицин и 0,2% натријум азида као конзервансе.</i>	5 x 0,8 mL
	Налепница са бар-кодом контроле	—

Aptima HBV Quant реагенс за побољшавање мете – кутија
 (по пријему чувати на температури од 15 °C до 30 °C)

Симбол	Компонента	Количина
TER	qHBV Реагенс за побољшавање мете <i>Концентровани раствор литијум хидроксида</i>	1 x 46,0 mL

Потребни материјали који се могу купити засебно

Напомена: Материјали које испоручује компанија Hologic имају наведене каталожке бројеве, осим ако није другачије наведено.

Материјал	Кат. бр.
Panther™ систем	303095
Panther Fusion™ систем	PRD-04172
Panther™ систем непрекидна течност и отпад (Panther Plus)	PRD-06067
Aptima® HBV Quant комплет калибратора	PRD-03425
Aptima® HBV Quant комплет контрола	PRD-03426
Panther Run Kit за тестове у реалном времену (само за тестове у реалном времену)	PRD-03455 (5000 тестова)
Aptima® Assay комплет течности (такође познат као универзални комплет течности) <i>садржи Aptima® раствор за прање, Aptima® пуфер за деактивацију течности и Aptima® угљни реагенс</i>	303014 (1000 тестова)
<i>Јединице са више епрувета (MTU-ови)</i>	104772-02
<i>Panther™ комплет кеса за отпад</i>	902731
<i>Panther™ поклопац канте за отпад</i>	504405

Материјал
Кат. бр.

Или, Panther™ систем комплет за покретање (када се раде ТМА тестови који нису у реалном времену паралелно са ТМА тестовима у реалном времену) садржи MTU-ове, кесе за отпад, поклопце канти за отпад, аутоматске детекторе и течности за тестове	303096 (5000 тестова)
Врхови, 1000 µL проводљиви, са сензором течности	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan)
Нису сви производи доступни у свим регионима. Контакттирајте свог представника за информације специфичне за регион.	MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Избељивач 5% до 8,25% (0,7 М до 1,16 М) раствор натријум хипохлорита	—
Рукавице за једнократну употребу без пудера	—
Заменски непропусни поклопци	103036A
Заменски поклопци за реагенс Бочице за реконституицију реагенса за амплификацију, ензим и промотер	CL0041 (100 поклопаца) CL0040 (100 поклопаца) 501604 (100 поклопаца)
TCR боца	
TER боца	
Покривачи лабораторијских клупа са пластичним задњим делом	—
Марамике које не остављају длацице	—
Пипетор	—
Врхови	—
Опције примарне сабирне епрувете:	
13 mm x 100 mm	—
13 mm x 75 mm	—
16 mm x 100 mm	—
Центрифуга	—
Мешалица Vortex	—

Опциони материјали
Материјал
Кат. бр.

Опције за секундарну епрувету:	
12 mm x 75 mm	—
13 mm x 100 mm	—
16 mm x 100 mm	—
Aptima® епрувете за аликвот узорак (SAT) (паковање од 100 комада)	FAB-18184
Поклопац епрувете за транспорт (паковање од 100 комада) поклопац за SAT	504415
Aptima® разблаживач узорак	PRD-03003
Aptima® комплет разблаживача узорак садржи разблаживач узорка, 100 SAT епрувета и 100 поклопаца	PRD-03478
Пипете за пренос	—
Штапићи са памучним врхом за брисове	—
Клацкалица за епрувету	PRD-03488

Процедура тестирања на систему Panther

Напомена: Погледајте Упутство за оператера система Panther / Panther Fusion за додатне процедуралне информације.

A. Припрема радног простора

1. Очистите радне површине на којима ће се припремати реагенси. Обришите радне површине 2,5–3,5% раствором натријум хипохлорита (од 0,35 до 0,5 М). Сачекајте да раствор натријум хипохлорита буде у контакту са површинама најмање 1 минут а затим исперите дејонизованом (DI) водом. Не дозволите да се раствор натријум хипохлорита осуши. Покријте површину клупе чистим упијајућим прекривачима лабораторијских столова са пластичном подлогом.
2. Очистите посебну радну површину на којој ће се припремати узорци. Користите горе описану процедуру (корак А.1).
3. Очистите све пипеторе. Користите горе описану процедуру за чишћење (корак А.1).

B. Припрема калибратора и контрола

Оставите калибратор и контроле да достигну 15 °C до 30 °C пре обраде на следећи начин:

1. Уклоните калибратор и контроле из складишта (од -15 °C до -35 °C) и ставите их на температуру од 15 °C до 30 °C. Током процеса одмрзавања, нежно окрените сваку епрувету да бисте добро промешали садржај. Уверите се да је садржај епрувете потпуно одмрзнут пре употребе.

Опција. Калибратор и контролне епрувете могу да се поставе на клацкалицу за епрувете ради темељног мешања. Уверите се да је садржај епрувете потпуно одмрзнут пре употребе.

Напомена: Избегавајте стварање претеране пене приликом окретања калибратора и контрола. Пена омета мерење нивоа у систему Panther.

2. Када се садржај епрувете одмрзне, осушите спољашњу страну епрувете чистом, сувом марамicom за једнократну употребу.
3. Да бисте спречили контаминацију, не отварајте епрувете у овом тренутку.

C. Реконституција реагенса / припрема новог комплета

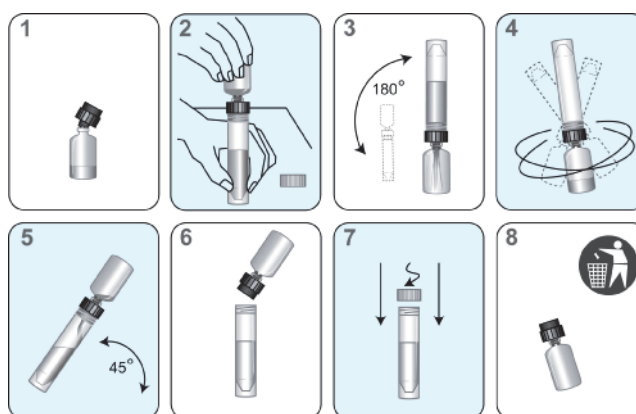
Напомена: Реконституцију реагенса треба извршити пре почетка било каквог рада на систему Panther.

1. Да бисте припремили TCR, извршите следеће кораке:
 - a. Уклоните TCR из складишта (2 °C до 8 °C). Проверите број серије на TCR боци да бисте се уверили да се поклапа са бројем серије на главном листу са бар кодовима серије.
 - b. Одмах снажно протресите TCR боцу 10 пута. Сачекајте да TCR боце остану на температури од 15 °C до 30 °C да би се угрејале барем 45 минута. Током овог периода, завртите и окрените TCR боцу на сваких 10 минута.

Опција. TCR боца се може припремити на клацкалици за епрувету пратећи ова упутства: Уклоните TCR из складишта (2 °C до 8 °C) и одмах снажно протресите 10 пута. Поставите TCR боцу на клацкалицу и оставите TCR на 15 °C до 30 °C да се загреје најмање 45 минута.
 - c. Уверите се да је сав талог у раствору и да су магнетне честице суспендоване пре употребе.
2. Да бисте реконституисали реагенсе за амплификацију, ензим и промотер, урадите следеће:
 - a. Уклоните лиофилизоване реагенсе и одговарајуће растворе за реконституцију из складишта (2 °C до 8 °C). Упарите сваки раствор за реконституцију са његовим лиофилованим реагенсом.

- b. Уверите се да раствор за реконституцију и лиофилизовани реагенс имају одговарајуће боје на етикети. Проверите бројеве серија на главном листу са бар кодовима серије да бисте били сигурни да су упарени одговарајући реагенси.
 - i. Отворите бочицу са лиофилизованим реагенсом уклањањем металне заптивке и гуменог чепа.
 - ii. Чврсто уметните урезани крај обујмице за реконституцију (црни) на бочицу (Слика 5, корак 1).
 - iii. Отворите одговарајућу боцу раствора за реконституцију и поставите поклопац на чисту, покривену радну површину.
 - iv. Поставите боцу са раствором за реконституцију на стабилну површину (нпр. клупу). Затим окрените бочицу са лиофилизованим реагенсом преко бочице са раствором за реконституцију и чврсто причврстите обујмицу на бочицу са раствором за реконституцију (Слика 5, корак 2).
 - v. Полако преокрените састављене бочице (бочица причвршћена за бочицу са раствором) да бисте омогућили да раствор исцури у стаклену бочицу (Слика 5, корак 3).
 - vi. Подигните састављене бочице и вртите их најмање 10 секунди (Слика 5, корак 4).
 - vii. Сачекајте најмање 30 минута да лиофилизовани реагенс пређе у раствор.
 - viii. Након што је лиофилизовани реагенс прешао у раствор, мешајте састављене боце најмање 10 секунди, а затим лагано протресите раствор у стакленој бочици напред-назад да се добро промеша.
- c. Полако поново нагните састављене бочице да бисте омогућили да се сав раствор исцеди назад у бочицу са раствором за реконституцију (Слика 5, корак 5).
- d. Пажљиво уклоните обујмицу за реконституцију и стаклену бочицу (Слика 5, корак 6).
- e. Поново затворите боцу. Забележите иницијале оператера и датум реконституције на етикети (Слика 5, корак 7).
- f. Одбаците обујмицу за реконституцију и стаклену бочицу (Слика 5, корак 8).

Упозорење: Избегавајте стварање превелике пене приликом реконституисања реагенса. Пена омета мерење нивоа у систему Panther.



Слика 5. Процес реконституције реагенса

3. Уклоните qHBV реагенс за побољшавање мете из складишта (15 °C до 30 °C). Забележите иницијале оператера и датум отварања на етикети. Проверите број серије на TER боци да бисте се уверили да се поклапа са бројем серије на главном листу са бар кодовима серије.

D. Припрема реагенса за претходно припремљене реагенси

1. Уклоните претходно припремљене реагенсе из складишта (2 °C до 8 °C). Претходно припремљени реагенси за амплификацију, ензим и промотер реагенс и TCR морају достићи температуру од 15 °C до 30 °C пре почетка теста.
2. Уклоните TER из складишта (15 °C до 30 °C).
3. За претходно припремљен TCR, извршите корак C.1 изнад пре учитавања у систем.
4. Завртите и окрените реагенсе за амплификацију, ензим и промотер реагенс да се добро измењају пре убацивања у систем. Избегавајте стварање превелике пене приликом окретања реагенса.

Опција: Претходно припремљени реагенси могу се припремити на клацкалицы за епрувету пратећи следећа упутства: Уклонити реагенсе из складишта (2 °C до 8 °C). Сместити реагенсе на клацкалицу за епрувете и оставити на 15 °C до 30 °C да се загреју најмање 30 минута.

5. Не препуњавајте боце за реагенсе. Систем Panther препознаје и одбацује препуњене боце.

Е. Руковање узорком

1. Уверите се да су обрађени узорци у примарним епруветама или неразређени узорци у секундарним епруветама правилно ускладиштени у складу са одељком *Прикупљање узорака*.
2. Уверите се да су смрзнути узорци добро одмрзнати. Ставите одмрзнуте узорке у мешалицу од 3 до 5 секунди да би се добро промешали.
3. Дозволите узорцима да достигну температуру од 15 °C до 30 °C пре обраде. Погледајте одељак *Узорци на систему Panther* за додатне уводне информације.
4. Уверите се да свака примарна епрувета за сакупљање садржи до 1200 µL узорка или да сваки SAT садржи најмање 700 µL узорка. Погледајте приложену табелу у одељку *Прикупљање узорака* да бисте идентификовали захтеве мртве запремине за сваку врсту примарне и секундарне епрувете. Ако је потребно разблаживање узорка, погледајте корак Е.5 испод за додатне информације.
5. Разблажите узорак плазме или серума 1:3 у SAT или 1:100 у секундарној епрувети.

Узорак се може разблажити у секундарној епрувети за тестирање на Panther систему.

Напомена: Ако је узорак разблажен, мора се испитати одмах након разблаживања.

а. Разблаживање узорака мале запремине

Запремина узорака се може повећати на минималну потребну запремину (700 µL) користећи Aptima разблаживач узорка. Узорци са најмање 240 µL могу се разблажити са два дела разблаживача узорка (1:3) на следећи начин:

- i. Ставите 240 µL узорка у SAT.
- ii. Додајте 480 µL Aptima средства за разблаживање узорка.
- iii. Затворите епрувету.
- iv. Лагано окрените 5 пута да се промеша.

Узорци разблажени у односу 1:3 могу се тестирати коришћењем опције 1:3 на систему Panther (погледајте *Упутство за оператера система Panther / Panther Fusion* за више информација). Софтвер ће аутоматски пријавити чист резултат применом фактора разблаживања. Ови узорци ће бити означени као разблажени узорци.

б. Разблаживање узорака високог титра

Ако је резултат узорка изнад горње границе квантитације (ULoQ), може се разблажити са 99 делова Aptima разблаживача узорка (1:100) на следећи начин:

- i. Ставите 30 µL узорка у SAT или секундарну епрувету.
- ii. Додајте 2970 µL Aptima средства за разблаживање узорка.
- iii. Затворите епрувету.

iv. Лагано окрените 5 пута да се промеша.

Узорци разблажени у односу 1:100 могу се тестирати коришћењем опције 1:100 на систему Panther (погледајте *Упутство за оператора система Panther / Panther Fusion* за више информација). Софтвер ће аутоматски пријавити чист резултат применом фактора разблаживања. Ови узорци ће бити означени као разблажени узорци.

Напомена: За разблажене узорке са чистим концентрацијама већим од ULoQ, резултати ће бити пријављени коришћењем научне нотације.

6. Непосредно пре стављања узорака у сталак за узорке, центрифугирајте сваки узорак на 1000 до 3000 g током 10 минута. Не скидајте поклопце. Мехурићи у епрувети могу да угрозе детекцију нивоа од стране система Panther. Погледајте одељак *Припрема система*, корак F.2 у наставку, за информације о пуњењу сталка и уклањању поклопаца.

F. Припрема система

1. Подесите систем у складу са упутствима у *Упутству за оператора система Panther / Panther Fusion* и *Напомене у вези са поступком*. Уверите се да се користе сталци за реагенсе и TCR адаптери одговарајуће величине.
2. Убаците узорке у сталак за узорке. Извршите следеће кораке за сваку епрувету за узорке (узорак и, када је потребно, калибратор и контроле):

- a. Олабавите један поклопац епрувете за узорак, али га још увек немојте скидати.

Напомена: Будите посебно опрезни да избегнете контаминацију ширењем аеросоли. Лагано отпустите поклопце на узорцима.

- b. Ставите епрувету за узорке у сталак за узорке.
- c. Поновите кораке 2.a и 2.b за сваки преостали узорак.
- d. Након што су узорци убачени у сталак за узорке, уклоните и баците сваки поклопац епрувете за узорке у једном сталку за узорке. Да бисте избегли контаминацију, не прелазите поклопцем изнад других сталака за епрувете или епрувета за узорке.
- e. Ако је потребно, користите нову пипету за једнократну употребу да бисте уклонили мехуриће или пену.
- f. Када се уклони последњи поклопац, убаците сталак за узорке у одељак за узорке.

Напомена: Ако истовремено изводите друге тестове и типове узорака, причврстите држач за узорке пре него што ставите сталак за узорке у лежиште за узорке.

- g. Поновите кораке 2.a до 2.f за следећи сталак за узорке.

Напомене у вези са поступком

A. Калибратори и контроле

1. qHBV позитивни калибратор, qHBV ниска позитивна контрола, qHBV високо позитивна контрола и qHBV негативне контролне епрувете могу да се уметну у било којој позицији у сталак за узорке и у било којој траци за одлагање узорака на систему Panther. Пипетирање узорка ће почети када се испуни један од следећа два услова:
 - a. Систем тренутно обрађује калибратор и контроле.
 - b. Важећи резултати за калибратор и контроле су регистровани у систему.
2. Када се калибратор и контролне епрувете пипетирају и обрађују за комплет реагенса за Aptima HBV Quant тест, узорци се могу тестирати са повезаним реконституисаним комплетом до 24 сата **осим у следећим случајевима:**
 - a. Резултати калибратора или контроле су неважећи.
 - b. Повезани комплет реагенса за тест је уклоњен из система.
 - c. Повезани комплет реагенса за тест премашује граничне вредности стабилности.

3. Калибратор и свака контролна епрувета могу се користити једном. Покушаји за употребу епрувете више од једном могу да доведу до грешака приликом обраде.

В. Пудер из рукавица

Као и у сваком систему реагенса, вишак пудера на неким рукавицама може изазвати контаминацију отворених епрувета. Препоручују се рукавице без пудера.

Контрола квалитета

Оператер може поништити резултате теста или узорка ако се уоче техничке потешкоће, потешкоће у раду оператера или потешкоће са инструментом током извођења теста и ако су оне документоване. У овом случају, узорци морају да се тестирају поново.

Калибрација теста

Да би се добили валидни резултати, калибрација теста мора бити завршена. Један позитивни калибратор се изводи у три примерка сваки пут када се комплет реагенса убаци у систем Panther. Када се успостави, калибрација важи до 24 сата. Софтвер на систему Panther упозорава оператера када је потребна калибрација. Оператер скенира коефицијент калибрације који се налази на главном листу са бар кодовима серије који се испоручује са сваким комплетом реагенса.

Током обраде, критеријуми за прихватање калибратора се аутоматски верификују софтвером на систему Panther. Ако су мање од два понављања калибратора валидна, софтвер аутоматски поништава рад. Узорци у неважећем циклусу морају бити поново тестирани коришћењем свеже припремљеног калибратора и свеже припремљених контрола.

Негативне и позитивне контроле

Да би се генерисали валидни резултати, скуп контрола теста мора бити тестиран. Једна реплика негативне контроле, ниске позитивне контроле и високе позитивне контроле мора се тестирати сваки пут када се комплет реагенса убаци у Panther систем. Једном успостављене контроле важе 24 сата. Софтвер на систему Panther упозорава оператера када су потребне контроле.

Током обраде, критеријуми за прихватање контрола су аутоматски верификовани софтвером на систему Panther. Да би се генерисали валидни резултати, негативна контрола мора дати резултат „Није откривено“, а позитивне контроле морају дати резултате у оквиру унапред дефинисаних параметара (LPC номинални циљ: $2,7 \log_{10}$ IU/mL, HPC номинални циљ: $4,6 \log_{10}$ IU/mL. Ако било која од контрола има неважећи резултат, софтвер аутоматски поништава покретање. Узорци у неважећем циклусу морају бити поново тестирани коришћењем свеже припремљеног калибратора и свеже припремљених контрола.

Интерни калибратор/интерна контрола

Сваки узорак садржи интерни калибратор/интерну контролу (IC). Током обраде, критеријуми прихватања IC-а су аутоматски верификовани од стране софтвера система Panther. Ако је IC резултат неважећи, резултат узорка је неважећи. Сваки узорак са неважећим IC резултатом мора бити поново тестиран да би се добио валидан резултат.

Софтвер система Panther је осмишљен тако да прецизно верификује процесе када се процедуре изводе у складу са упутствима која се налазе у овом упутству у паковању и *Упутству за оператера система Panther / Panther Fusion*.

Тумачење резултата

Систем Panther аутоматски одређује концентрацију HBV DNK за узорке и контроле упоређивањем резултата са калибрационом кривом. Концентрације HBV DNK су приказане у IU/mL и $\log_{10}$ IU/mL. Тумачење резултата је приказано у Табела 1. Ако се користи опција разблажења, систем Panther аутоматски израчунава концентрацију HBV DNK за чист узорак множењем разређене концентрације фактором разблажења и разблажени узорци ће бити означени као разблажени.

Напомена: За разблажене узорке, резултати наведени као „Није откривено“ или „<10 откривено“ могу се добити разблаживањем узорка са концентрацијом изнад, али близу LoD (граница детекције) или LLoQ (доња граница квантификације). Препоручује се узимање и тестирање још једног неразблаженог узорка ако се не добије квантитативни резултат.

Табела 1: Тумачење резултата

Пријављени резултати Aptima HBV Quant теста		Тумачење
IU/mL	$\log_{10}$ IU/mL ^a	
Није откривено	Није откривено	HBV DNK није откривена.
<10 откривено	<1,00	HBV DNK је откривена, али на нивоу испод LLoQ.
од 10 до 1.000.000.000	од 1,00 до 9,00	Концентрација HBV DNK је у линеарном опсегу од 10 до 1.000.000.000 IU/mL
>1.000.000.000	>9,00	Концентрација HBV DNK је изнад ULoQ
Неважеће ^b	Неважеће ^b	Приликом генерисања резултата назначена је грешка. Узорак треба да се тестира поново.

^a Вредност је скраћена на две децимале.

^b Неважећи резултати су приказани плавим фонтом.

За разблажене узорке са чистим концентрацијама већим од ULoQ, резултати ће бити пријављени коришћењем научне нотације.

Критеријуми прихватања за сваку од контрола Aptima HBV Quant теста су наведени у Табела 2 у наставку.

Напомена: Опсег опоравка који је наведен у наставку се помера на основу додељене вредности сваке одређене серије. Погледајте додељену концентрацију наведену на листи са бар-кодovima контроле која је испоручена уз сваку кутију контроле.

Табела 2: Критеријуми прихватљивости за опсег опоравка за контроле за Aptima HBV Quant тест

Компонента	Опсег опоравка за валидна тестирања
Негативна контрола	н/п
Ниска позитивна контрола	+/- 0,55 $\log_{10}$ IU/mL
Висока позитивна контрола	+/- 0,5 $\log_{10}$ IU/mL

Ограничења

- A. Употреба овог теста је ограничена на особље које је обучено за ову процедуру. Непоштовање упутстава наведених у овом паковању може довести до погрешних резултата.
- B. Поуздани резултати зависе од адекватног прикупљања, транспорта, складиштења и обраде узорка.

Аналитичке перформансе

Граница детекције коришћењем 3. међународног стандарда ЗСО

Граница детекције (LoD) теста је дефинисана као концентрација HBV DNK која се детектује са 95% или већом вероватноћом према CLSI EP17-A2.¹¹

LoD је одређен панелима за тестирање 3. међународног стандарда ЗСО за DNK вируса хепатитиса В (NIBSC 10/264, генотип А) разблаженог у HBV негативној људској EDTA плазми и серуму. Минимално 36 понављања сваког разблажења је тестирано са сваком од три серије реагенса за најмање 108 понављања по разблажењу. Пробит анализа је спроведена да би се генерисале предвиђене границе детекције од 95%. Вредности LoD су резултати из серије реагенса са највишом предвиђеном границом детекције. LoD за Aptima HBV Quant тест коришћењем 3. међународног стандарда ЗСО је 4,8 IU/mL за плазму и 5,9 IU/mL за серум.

Граница детекције код HBV генотипова

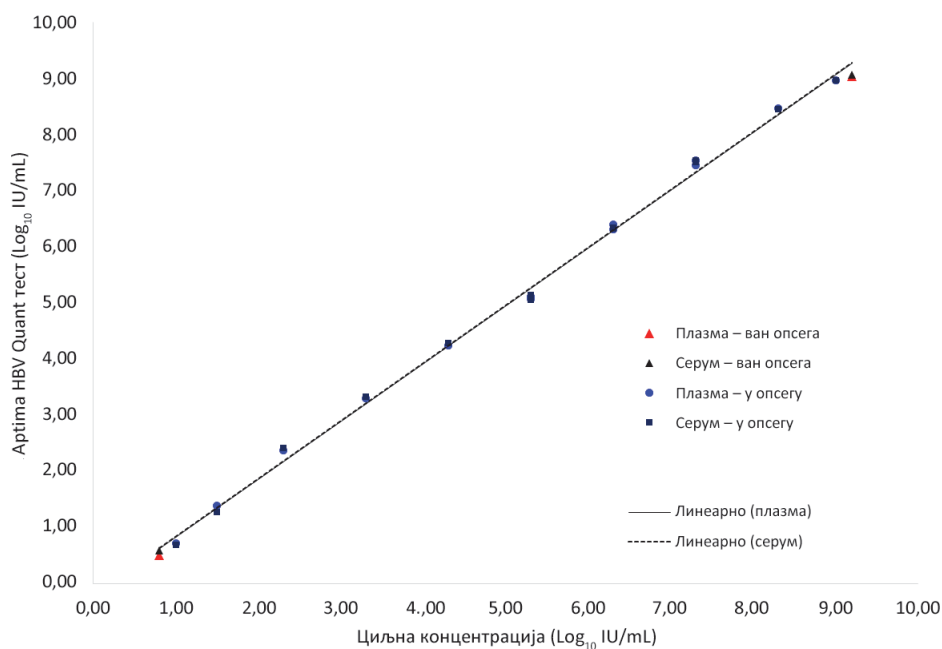
LoD је одређен тестирањем разблажења HBV позитивних клиничких узорак за генотипове А, В, С, D, Е, F, G и H у HBV негативној људској плазми и серуму. Концентрације су одређене коришћењем одобреног теста. Најмање 24 понављања сваког члана панела је тестирано са сваком од две серије реагенса за најмање 48 понављања по члану панела. Пробит анализа је спроведена да би се генерисале предвиђене границе детекције од 95%. LoD вредности приказане у Табела 3 су резултати из серије реагенса са највишом предвиђеном границом детекције.

Табела 3: Граница детекције (предвиђене границе детекције од 95%) за све HBV генотипове коришћењем клиничких узорак

Генотип	Концентрација (IU/mL)	
	Плазма	Серум
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

Линеарни опсег

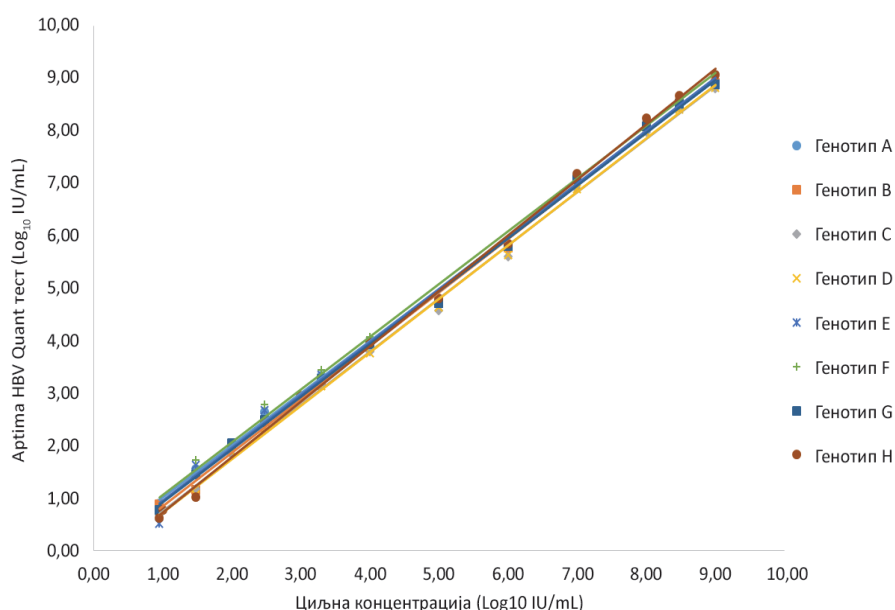
Линеарни опсег је утврђен панелима за тестирање вируса HBV генотипа А ($0,78 \log_{10}$ IU/mL до $7,30 \log_{10}$ IU/mL) и плазмидне DNK ($5,30 \log_{10}$ IU/mL до $9,18 \log_{10}$ IU/mL) разблажених у HBV негативној људској плазми и серуму према CLSI EP06-A.12 Aptima HBV Quant тест је показао линеарност у тестираном опсегу, са горњом границом квантификације (ULoQ) од $9 \log_{10}$ IU/mL као што је приказано на Слика 6.



Слика 6. Линеарност у плазми и серуму

Линеарност међу HBV генотиповима

Линеарност HBV генотипова утврђена је тестирањем појединачних клинички позитивних узорака за генотипове A, E, F, G и H и PEI 1. ЗСО референтних панела (PEI 5086/08) за генотипове B, C и D. Вирус је коришћен за доњи опсег теста ($4 \log_{10}$ IU/mL и мање за генотипове A–G, $3 \log_{10}$ IU/mL и мање за генотип H). Плазмидна DNK је коришћена за горњи опсег са $2 \log_{10}$ преклапањем. Разблажења у негативној људској плазми тестирана су за све генотипове. Линеарност је демонстрирана у читавом тестираном опсегу за све тестиране генотипове као што је приказано у Слика 7.



Слика 7. Линеарни опсег и линеарност (плазма)

Доња граница квантитације коришћењем 3. међународног стандарда СЗО

Доња граница квантитације је дефинисана као најнижа концентрација при којој се HBV DNK поуздано квантитије унутар укупне грешке, према CLSI EP17-A2.¹¹ Укупна грешка је процењена помоћу следеће две методе:

Укупна аналитичка грешка (TAE) = |пристрасност| + 2SD, и укупна грешка (TE) = $\text{SQRT}(2) \times 2\text{SD}$.

Да би се осигурала тачност и прецизност мерења, укупна грешка Aptima HBV Quant теста је подешена на $1 \log_{10}$ IU/mL (тј., на LLoQ, разлика између два мерења од више од $1 \log_{10}$ IU/mL је статистички значајна).

LLoQ је одређен панелима за тестирање 3. међународног стандарда ЗСО за DNK вируса хепатитиса (NIBSC 10/264, генотип A) разблаженог у HBV негативној људској плазми и серуму. Минимално 45 понављања сваког разблажења је тестирано са сваком од три серије реагенса за најмање 135 понављања по разблажењу. Резултати за три серије реагенса приказани су у Табела 4 за плазму и Табела 5 за серум. Резултати за најнижу посматрану концентрацију која је испунила циљ тачности ($\text{TE} \leq 1 \log_{10}$ IU/mL и $\text{TE} \leq 1 \log_{10}$ IU/mL) са >95% детекције и већом или једнаком LoD су освенчене у обе табеле и сумиране у Табела 6.

Израчуната вредност LLoQ 3. међународног стандарда ЗСО за вирус хепатитиса B је 6 IU/mL ($0,79 \log_{10}$ IU/mL) за плазму и 8 IU/mL ($0,88 \log_{10}$ IU/mL) за серум, које су засноване на највишој израчунатој концентрацији међу три серије реагенса у складу са CLSI EP17-A2. LLoQ је

утврђен за све генотипове (видети Доња граница квантификације за све HBV генотипове).
Ови подаци о генотипу утврђују укупни LLoQ за тест као 10 IU/mL.

Табела 4: Одређивање LLoQ-а коришћењем 3. међународног стандарда СЗО за HBV разблажен у плазми

Серија реагенса	Aptima HBV Quant (IU/mL)	Aptima HBV Quant (Log ₁₀ IU/mL)	SD (Log ₁₀ IU/mL)	Пристрасност (Log ₁₀ IU/mL)	Израчунати TE (Log ₁₀ IU/mL)	Израчунати TAE (Log ₁₀ IU/mL)
1	3	0,53	0,21	0,32	0,59	0,74
	3	0,52	0,21	0,38	0,61	0,81
	5	0,70	0,23	0,25	0,65	0,71
2	6	0,76	0,26	0,09	0,73	0,60
	5	0,69	0,22	0,21	0,63	0,65
	6	0,77	0,25	0,18	0,70	0,68
3	6	0,79	0,31	0,05	0,88	0,68
	8	0,88	0,23	0,02	0,66	0,48
	9	0,96	0,23	0,00	0,66	0,47

SD=стандардна девијација.

Чланови панела који су испунили циљ тачности (TE ≤ 1 и TAE ≤ 1), > LoD и > 95% детекције за серије реагенса 1, 2 и 3 су освенчени.

Табела 5: Одређивање LLoQ-а коришћењем 3. међународног стандарда СЗО за HBV разблажен у серуму

Серија реагенса	Aptima HBV Quant (IU/mL)	Aptima HBV Quant (Log ₁₀ IU/mL)	SD (Log ₁₀ IU/mL)	Пристрасност (Log ₁₀ IU/mL)	Израчунати TE (Log ₁₀ IU/mL)	Израчунати TAE (Log ₁₀ IU/mL)
1	4	0,65	0,24	0,20	0,67	0,67
	5	0,65	0,24	0,25	0,68	0,73
	5	0,67	0,22	0,28	0,63	0,73
2	5	0,70	0,29	0,14	0,82	0,72
	5	0,72	0,27	0,18	0,77	0,72
	6	0,75	0,24	0,20	0,68	0,68
3	8	0,88	0,29	0,04	0,83	0,63
	10	0,98	0,23	0,08	0,66	0,55
	11	1,02	0,28	0,07	0,78	0,62

SD=стандардна девијација.

Чланови панела који су испунили циљ тачности (TE ≤ 1 и TAE ≤ 1), > LoD и > 95% детекције за серије реагенса 1, 2 и 3 су освенчени.

Табела 6: Резиме израчунатог LLoQ-а коришћењем 3. међународног стандарда СЗО за HBV

Серија реагенса	Плазма LLoQ		Серум 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

Доња граница квантитације за све HBV генотипове

LLoQ је одређен тестирањем разблажења HBV позитивних клиничких узорак за генотипове А, В, С, D, Е, F, G и H у HBV негативној људској плазми и серуму. Додељивање концентрације за клиничке узорке одређено је коришћењем компараторног теста. Укупно 36 понављања сваког члана панела је тестирано са сваком од две серије реагенса за најмање 72 понављања по члану панела. Резултати за најнижу примећену концентрацију која испуњава циљ тачности ($TE \leq 1 \log_{10} \text{ IU/mL}$ и $TAE \leq 1 \log_{10} \text{ IU/mL}$) са >95% детекције за сваку серију реагенса приказани су у Табела 7 за плазму и Табела 8 за серум. Највећа примећена концентрација међу серијама реагенса за сваки генотип сумирана је у Табела 9. Генотип D у серуму имао је највиши LLoQ од 9 IU/mL ($0,96 \log_{10} \text{ IU/mL}$). Ово је подржало укупни LLoQ за тест од 10 IU/mL.

Табела 7: Одређивање LLoQ за све HBV генотипове у плазми

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

SD=стандардна девијација.

^a Додатни нивои теста су покренути, али ти подаци нису приказани у табели.

Табела 8: Одређивање LLoQ код HBV генотипова у серуму

HBV генотип	Серија реагенса	Aptima HBV Quant ^a (IU/ml)	Aptima HBV Quant ^a (Log ₁₀ IU/ml)	SD (Log ₁₀ IU/ml)	Пристрасност (Log ₁₀ IU/ml)	Израчунати TE (Log ₁₀ IU/ml)	Израчунати TAE (Log ₁₀ IU/ml)
A	1	4	0,65	0,26	0,25	0,73	0,77
	2	6	0,81	0,26	0,04	0,74	0,56
B	1	5	0,70	0,19	0,26	0,54	0,64
	2	5	0,72	0,25	0,18	0,72	0,69
C	1	5	0,66	0,26	0,30	0,74	0,82
	2	6	0,81	0,26	0,10	0,74	0,62
D	1	7	0,84	0,27	0,42	0,75	0,95
	2	9	0,96	0,27	0,29	0,76	0,83
E	1	6	0,79	0,26	0,38	0,75	0,91
	2	8	0,89	0,28	0,29	0,79	0,84
F	1	6	0,76	0,23	0,08	0,66	0,55
	2	5	0,71	0,26	0,14	0,72	0,65
G	1	8	0,89	0,28	0,29	0,80	0,85
	2	5	0,66	0,24	0,29	0,67	0,77
H	1	6	0,74	0,24	0,43	0,67	0,90
	2	6	0,81	0,29	0,37	0,82	0,95

SD=стандардна девијација.

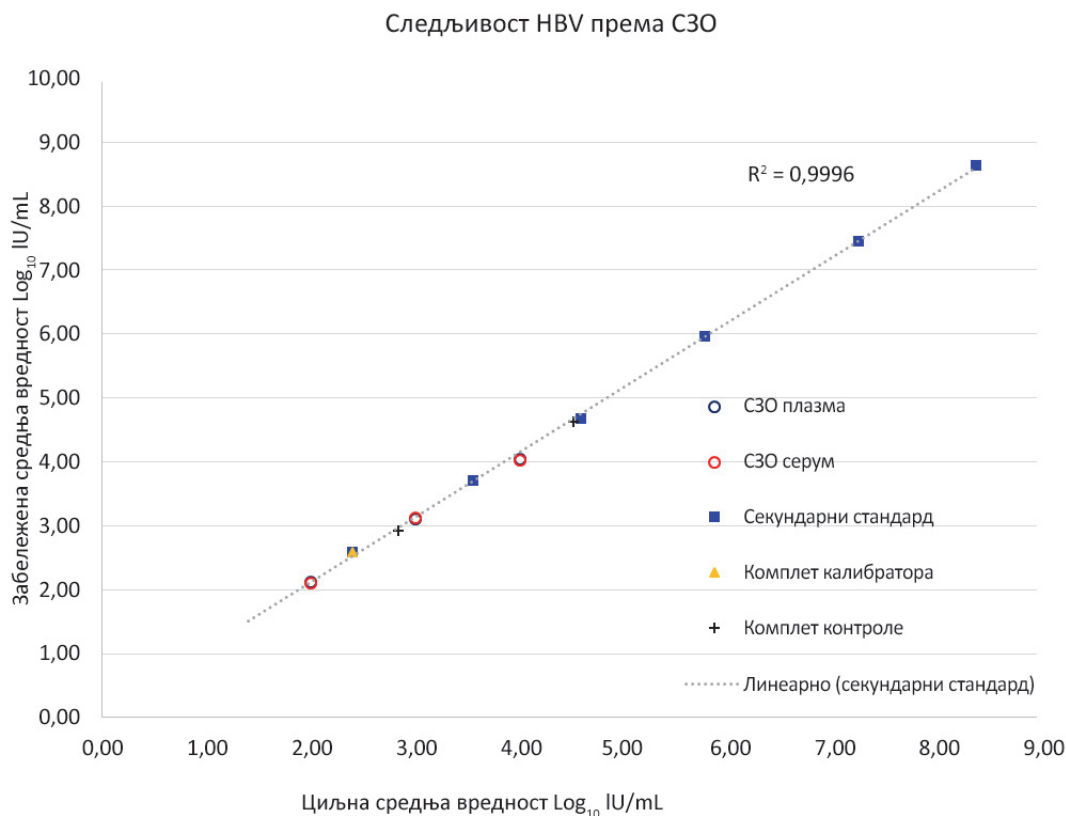
^a Додатни нивои теста су покренути, али ти подаци нису приказани у табели.

Табела 9: Резиме LLoQ-а међу генотиповима у плазми и серуму

Генотип	Плазма LLoQ		Серум 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

Следљивост до 3. међународног стандарда СЗО

Низ секундарних стандарда са познатим концентрацијама коришћен је током развоја производа и производње производа да би се успоставила следљивост према стандарду СЗО. Концентрације тестиране за HBV стандард СЗО биле су између 2,0 и 4,0 $\log_{10}$ IU/mL, док су секундарни стандарди имали концентрацију од 2,4 до 8,4 $\log_{10}$ IU/mL. Контроле и калибратори Aptima HBV Quant теста такође су тестирани заједно са секундарним стандардима и стандардом СЗО. Сви панели су имали сличне резултате и били су линеарно распоређени по линеарном опсегу теста, као што је приказано на Слика 8.



Слика 8. Праћење између 3. стандардне циљне концентрације HBV СЗО и посматране концентрације из Aptima HBV Quant теста

Прецизност

Прецизни панел Aptima HBV Quant теста направљен је разблаживањем вируса HBV генотипа А и HBV плазмидне DNK у HBV-негативну клиничку плазму и HBV-негативни клинички серум (четири највиша члана панела у свакој матрици биле су плазмидна DNK). Једанаест чланова панела у свакој матрици обухватало је опсег теста (циљне концентрације од 1,30 $\log_{10}$ IU/mL до 8,90 $\log_{10}$ IU/mL) и тестирани су у три понављања по сесији од стране једног оператера, користећи три серије реагенса на једном систему Panther током три дана, две серије дневно.

Табела 10 приказује прецизност резултата теста (у $\log_{10}$ IU/mL) између дана, између серија, између анализа, унутар анализа и укупно. Укупна варијабилност је првенствено била последица мерења унутар серије (тј. случајне грешке).

Табела 10: Прецизност Aptima HBV Quant теста

Матрица	Узорак	N	Средња концентрација	Средња концентрација	Између серија	Између серија	Између дана	Између дана	Између покретања	Између покретања	Унутар покретања	Унутар покретања	Укупно	Укупно
			(IU/mL)	(log ₁₀ IU/mL)	Стандардна девијација	Коефицијент варијације лог-нормалне расподеле (%)	Стандардна девијација	Коефицијент варијације лог-нормалне расподеле (%)	Стандардна девијација	Коефицијент варијације лог-нормалне расподеле (%)	Стандардна девијација	Коефицијент варијације лог-нормалне расподеле (%)	Стандардна девијација	Коефицијент варијације лог-нормалне расподеле (%)
Плазма	Вирус	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
	Плазмидна ДНК	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
	Вирус	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
	Плазмидна ДНК	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
	Вирус	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
	Плазмидна ДНК	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
Серум	Вирус	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
	Плазмидна ДНК	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
	Вирус	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
	Плазмидна ДНК	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
	Вирус	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
	Плазмидна ДНК	53 ^b	122,800,000	8.08	0.04	9.9	0.01	2.2	0.01	1.8	0.04	10.4	0.06	14.6
		54	678,700,000	8.83	0.02	3.6	0.01	2.2	0.01	1.8	0.05	11.7	0.05	12.5

SD=стандардна девијација.

^aДетектована понављања са квантитативним резултатом, укупан број детектованих понављања = 54.

^bЈедно понављање је имало неважећи резултат.

Log Normal CV(%) = sqrt(10^(SD^2 * ln(10)) - 1) * 100

Потенцијално ометајуће супстанце

Процењена је осетљивост Aptima HBV Quant теста на интерференције повишених нивоа ендогених супстанци или лекова који се обично преписују особама зараженим HBV-ом. Тестирани су HBV негативни узорци плазме и узорци обогаћени HBV-ом до концентрација од приближно 30 IU/mL ($1,48 \log_{10}$ IU/mL) и 20.000 IU/mL ($4,30 \log_{10}$ IU/mL).

У присуству албумина (90 mg/mL), хемоглобина (5 mg/mL), триглицерида (30 mg/mL) или некоњугованог билирубина (0,2 mg/mL) нису примећене сметње у спровођењу теста.

Клинички узорци плазме од пацијената са повишеним нивоима дефинисаних супстанци или од пацијената са болестима, десет узорак за сваку супстанцу, наведени у Табела 11 тестирани су Aptima HBV Quant тестом. Нису примећене сметње у спровођењу теста.

Табела 11: Тестиране врсте клиничких узорака

Врсте клиничких узорака	
1	Антинуклеарно антитело (ANA)
2	Реуматoidни фактор (RF)
3	Алкохолна цироза (AC)
4	Алкохолни хепатитис
5	Безалкохолни хепатитис
6	Аутоимунски хепатитис
7	Повишена аланин аминотрансфераза (ALT)
8	Хепатоцелуларни карцином (HCC)
9	Мултипла склероза (MS)
10	Системски еритематозни лупус (SLE)
11	Хиперглобулинемија
12	Реуматoidни артритис (RA)
13	Anti-Jo1 антитело (JO-1)
14	Вишеструки мијелом (MM)
15	Хемолизован (повишен хемоглобин)
16	Иктерични (повишен билирубин)
17	Липемик (повишени липид)
18	Повишени протеини

Нису примећене сметње у спровођењу теста у присуству егзогених супстанци наведених у Табела 12 при концентрацијама које су бар три пута веће од $C_{\max}$ (људска плазма).

Табела 12: Егзогене супстанце

Група егзогених супстанци	Тестиране егзогене супстанце
1	Саквинавир, ритонавир, ампренавир, индинавир, лопинавир, нелфинавир мезилат
2	Кларитромицин, валганцикловир хидрохлорид, ефавиренз, невирапин
3	Пароксетин HCl, енфувиртид, зидовудин, диданозин, абакавир сулфат
4	Рибавирин, ентекавир, адефовирдипивоксил, тенофовирдизопроксил фумарат, ламивудин, ганцикловир, ацикловир
5	Ставудин, ципрофлоксацин, флуоксетин, азитромицин, валацикловир, сертралин, залцитабин
6	Интерферон алфа -2а, интерферон алфа -2б, пегилирани интерферон алфа-2б

Аналитичка специфичност

Потенцијална унакрсна реактивност са патогенима наведеним у Табела 13 је процењена у HBV негативној људској плазми у присуству или одсуству 30 IU/mL ($1,5 \log_{10}$ IU/mL) и 20.000 ($4,3 \log_{10}$ IU/mL) HBV DNK. Није примећена унакрсна реактивност. Нису примећене сметње у присуству патогена.

Табела 13: Патогени тестирани на аналитичку специфичност

Микроорганизам/Патоген	Концентрација	Микроорганизам/Патоген	Концентрација
Аденовирус 5	100.000 TCID50/mL ^a	<i>Candida albicans</i>	1.000.000 CFU/mL ^e
ВК људски полимавирус	1.000 TCID50/mL	<i>Chlamydia trachomatis</i>	1.000.000 IFU/mL ^f
Цитомегаловирус	100.000 TCID50/mL	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	1.000.000 CFU/mL
Денга вирус 1	10.000 TCID50/mL	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1.000.000 CFU/mL
Денга вирус 2	10.000 TCID50/mL	<i>Propionibacterium acnes</i>	1.000.000 CFU/mL
Денга вирус 3	10.000 TCID50/mL	<i>Staphylococcus aureus</i>	1.000.000 CFU/mL
Денга вирус 4	100.000 TCID50/mL	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1.000.000 CFU/mL
Епштајн-Баров вирус	100.000 примерака/mL	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1.000.000 CFU/mL
Грип H1N1	100.000 TCID50/mL	<i>Trichomonas vaginalis</i>	1.000.000 CFU/mL
Вирус хепатитиса А	100.000 TCID50/mL	^a TCID50/mL = доза инфективне културе ткива по mL	
Вирус хепатитиса С	100.000 IU/mL ^b	^b IU/mL = Међународне јединице по mL	
Вирус хепатитиса G	100.000 примерака/mL	^c vp/mL = Виралне честице по mL	
Хумани херпес вирус 6B	100.000 примерака/mL	^d LD50/mL = Смртоносна доза по mL	
Хумани херпес вирус 8	100.000 примерака/mL	^e CFU/mL = Јединице које формирају колоније по mL	
HIV-1	100.000 IU/mL	^f IFU/mL = Јединице за формирање инклузија по mL	
HIV-2	10.000 TCID50/mL		
Људски папилома вирус	100.000 примерака/mL		
Херпес симплекс вирус 1 (HSV-1)	100.000 TCID50/mL		
Херпес симплекс вирус 2 (HSV-2)	100.000 TCID50/mL		
Хумани Т-лимфотропни вирус 1 (HTLV-1)	100.000 vp/mL ^c		
Хумани Т-лимфотропни вирус 2 (HTLV-2)	100.000 vp/mL		
Вирус јапанског енцефалитиса	Н/П	Н/П	
Вирус енцефалитиса Murray Valley	2.000 LD50/mL ^d		
Парвовирус B19	100.000 IU/mL		
Рубела вирус	10.000 TCID50/mL		
Вирус енцефалитиса St. Louis	100.000 TCID50/mL		
Vaccinia вирус	1.000 TCID50/mL		
Вирус Западног Нила	100.000 TCID50/mL		
Вирус жуте грознице	100.000 TCID50/mL		

Еквивалентност матрице

Сто осамнаест комплета узорак упарених епрувета за сакупљање крви (епрувета са серумом, ACD, K2 EDTA, K3 EDTA, PPT, SST) је процењено на еквивалентност матрице. Од тога, 44 комплета су била природно инфицирана HBV-позитивна, а 74 комплета су била HBV-негативна са примесом HBV вируса. Корелација за сваки тип епрувете за сакупљање крви, мерена коришћењем епрувете за сакупљање серума као компаратора, приказана је у Табела 14.

Табела 14: Студија еквивалентности матрице

Сакупљање крви Епрувета	Демингова регресија	95% CI нагиба		95% CI пресека		R ²	Средња разлика (Log ₁₀)
		Доња граница	Горња граница	Доња граница	Горња граница		
ACD	$y = 1,01x - 0,04$	1,00	1,02	-0,10	0,01	0,998	-0,01
K2 EDTA	$y = 1,02x - 0,14$	1,00	1,03	-0,20	-0,07	0,997	-0,07
K3 EDTA	$y = 1,01x - 0,12$	1,00	1,03	-0,18	-0,06	0,997	-0,06
PPT	$y = 1,02x - 0,14$	1,00	1,03	-0,21	-0,07	0,996	-0,06
SST	$y = 1,00x - 0,03$	0,99	1,01	-0,07	0,03	0,999	-0,01

CI=интервал поузданости.

Разблаживање узорка помоћу Aptima разблаживача узорка (1:3)

Да би се проценила тачност детекције HBV DNK у узорцима разблаженим Aptima разблаживачем узорак, узорци који су обухватили линеарни опсег разблажени су у односу 1:3 користећи Aptima разблаживач узорак (као што је 240 µL узорка комбиновано са 480 µL Aptima разблаживача узорак). Сваки узорак је тестиран чист и разблажен (1:3) у три примерка. Тестирање је спроведено коришћењем једне серије реагенса за анализу на два система Panther са две серије Aptima разблаживача узорак. Разлике између просечне пријављене концентрације у нативној матрици (фактор разблаживања примењен на резултат разблаженог узорка) и просечне концентрације у Aptima разблаживачу узорак приказане су на Табела 15 за плазму и Табела 16 за серум. Концентрације узорка су тачно добијене у разблаженим узорцима.

Табела 15: Резиме поређења матрице разблаживања узорка плазме 1:3

Матрица плазме Просечна пријављена концентрација (Log ₁₀ IU/mL) n = 9	Разблаживач Просечна пријављена концентрација (Log ₁₀ IU/mL) n = 18	Разлика Разблаживач из матрице плазме (Log ₁₀ IU/mL)
1,20 ^a	1,11 ^b	-0,09
1,56 ^a	1,36 ^b	-0,20
2,15	2,04	-0,11
3,10	2,97	-0,13
3,92	3,89	-0,03
4,82	4,79	-0,03
5,70	5,70	0,00
7,07	6,98	-0,09
7,74	7,60	-0,14
8,74	8,62	-0,12
9,29	9,19	-0,10
9,39	9,29	-0,10

^an=21.^bn=42.

Табела 16: Резиме поређења матрице разблажења узорка серума у односу 1:3

Матрица серума Просечна пријављена концентрација (Log ₁₀ IU/mL) n = 9	Разблаживач Просечна пријављена концентрација (Log ₁₀ IU/mL) n = 18	Разлика Разблаживач из матрице серума (Log ₁₀ IU/mL)
1,21 ^a	1,11 ^b	-0,10
1,54 ^a	1,36 ^b	-0,18
2,21	2,03	-0,18
3,06	2,98	-0,08
3,90	3,83	-0,07
4,77	4,76	-0,01
5,77	5,74	-0,03
7,03	7,00	-0,03
7,85	7,71	-0,14
8,87	8,76	-0,11
9,37	9,30	-0,07
9,46	9,36	-0,10

^an=21.^bn=42.

Разблаживање узорка помоћу Aptima разблаживача узорка (1:100)

Да би се проценила тачност детекције HBV DNK у узорцима разблаженим Aptima разблаживачем узорка, плазмом или серумом, осам појединачних узорка плазме и осам појединачних узорка серума обogaћених HBV вирусом циљајући између 6 и 8 log₁₀ IU/mL, заједно са осам појединачних узорка плазме и осам појединачних узорка серума обogaћених HBV плазмидном DNK циљајући 9,16 log₁₀ IU/mL, тестирано је у 5 понављања. Разблаживање 1:100 је извршено са једним делом узорка и 99 делова Aptima разблаживача узорка непосредно пре тестирања. Тестирање је спроведено коришћењем једне серије реагенса за анализу на два система Panther са две серије Aptima разблаживача узорка. Разлика између просечне пријављене концентрације у нативној матрици (фактор разблаживања примењен на резултат разблаженог узорка) и просечне концентрације у Aptima

разблаживачу узорака је израчуната за сваки сет узорака као што је приказано на Табела 17 за плазму и Табела 18 за серум.

Табела 17: Резиме поређења матрице разблаживања узорка плазме у односу 1:100

Матрица плазме Просечна пријављена концентрација (Log ₁₀ IU/mL) n = 5	Разблаживач Просечна пријављена концентрација (Log ₁₀ IU/mL) n = 10	Разлика Разблаживач из матрице плазме (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

^aОбогаћено употребом плазмидне DNK.

Табела 18: Резиме поређења матрице разблажења узорка серума у односу 1:100

Матрица серума Просечна пријављена концентрација (Log ₁₀ IU/mL) n = 5	Разблаживач Просечна пријављена концентрација (Log ₁₀ IU/mL) n = 10	Разлика Разблаживач из матрице серума (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

^aОбогаћено употребом плазмидне DNK.

Потврда LLoQ у узорцима разблаженим у Aptima разблаживачу узорка

Локална вредност квалитета (LLoQ) Aptima HBV Quant теста је потврђена клиничким узорцима HBV генотипа А разблаженим у Aptima разблаживачу узорка. Узорци су припремљени у HBV негативној људској плазми и серуму у концентрацијама од 21, 30 и 45 IU/mL. Сваки панел је разблажен у односу 1:3 у Aptima разблаживачу узорка непосредно пре тестирања да би се добиле коначне концентрације од приближно 7, 10 и 15 IU/mL. Укупно је 36 понављања сваког члана панела тестирано са једном серијом реагенса током три дана. Потврђен је LLoQ ≤ 10 IU/mL за HBV плазму и серум разблажен у Aptima разблаживачу узорка, као што је приказано на Табела 19.

Табела 19: Потврда LLoQ – Узорци у Aptima разблаживачу узорка

Матрица	% детектовано	Aptima HBV Quant (IU/ml)	Aptima HBV Quant (Log ₁₀ IU/ml)	SD (Log ₁₀ IU/ml)	Пристрасност (Log ₁₀ IU/ml)	Израчунати ТЕ (Log ₁₀ IU/ml)	Израчунати TAE (Log ₁₀ IU/ml)
Плазма	100%	3	0,50	0,19	0,10	0,54	0,48
Серум	100%	2	0,38	0,12	0,46	0,33	0,70

Прецизност разблажених узорка

Прецизни панел Aptima HBV Quant је направљен разблаживањем HBV позитивне плазме и HBV плазмидне DNK у HBV негативну клиничку плазму и серум. Позитивни панели су разблажени у Aptima разблаживачу узорка. Ове тестове је извршио један оператер у пет понављања по тесту, користећи три серије Aptima разблаживача узорка на једном Panther систему током три дана тестирања, два теста дневно.

Табела 20 приказује прецизност резултата анализе (у SD log₁₀ IU/mL) за три серије Aptima разблаживача узорка. Укупна варијабилност је била $\leq 0,15$ стандардне девијације (SD) за све чланове панела и серије разблаживача.

Табела 20: Прецизност панела разблажених у Aptima разблаживачу узорка

Матрица	Циљна концентрација Log ₁₀ IU/mL	Разблаживање	Разблаживач узорка серије 1 (n=10)		Разблаживач узорка серије 2 (n=10)		Разблаживач узорка серије 3 (n=10)		Комбиноване серије (n=30)	
			Просечно Log ₁₀ IU/mL	SD	Просечно Log ₁₀ IU/mL	SD	Просечно Log ₁₀ IU/mL	SD	Просечно Log ₁₀ IU/mL	SD
Плазма	3,30	Чисто	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	Чисто	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	Чисто	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
	3,30	Чисто	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
Серум	4,30	Чисто	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	Чисто	9,08	0,03	9,14	0,05	9,31 ^b	0,12	9,17 ^b	0,12
		1:100	9,18	0,02	9,14	0,03	9,33	0,09	9,22	0,10

SD = стандардна девијација

^a1 понављање је искључено (изнад опсега израчунавања).

^b2 понављања су искључена (изнад опсега израчунавања).

Преношење

Да би се утврдило да Panther систем минимизира ризик од лажно позитивних резултата који произилазе из контаминације преношењем, спроведена је студија коришћењем панела са шиљцима на три Panther система. Преношење је процењено коришћењем узорака плазме са високим титром HBV DNK ($8 \log_{10}$ IU/mL) измешаних између HBV негативних узорака у шаблону. Тестирање је обављено у петнаест циклуса. Укупна стопа преноса износила је 0,14% (1/705).

Поновљивост

Поновљивост је процењена на Panther систему на три спољне локације у САД. Два оператера су извршила тестирање на свакој локацији. Сваки оператер је вршио два циклуса дневно током три дана, користећи три серије реагенса током тестирања. Свака серија имала је три реплике сваког члана. Укупно је тестирано 108 понављања сваког члана панела.

Поновљивост је тестирана коришћењем чланова панела припремљених коришћењем HBV негативне плазме. Позитивни чланови панела били су позитивни на HBV генотипове А или С. Концентрације HBV DNK обухватале су линеарни опсег теста.

Табела 21 показује поновљивост и прецизност резултата теста за сваки позитиван члан панела између локација, између оператера/дана, између серија, између циклуса, унутар циклуса и укупно.

Коефицијент варијације је израчунат коришћењем следеће једначине при чему је σ^2 варијанса узорка података након $\log_{10}$ трансформације.

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

За све чланове панела позитивне на HBV, вредности слагања су биле 100%.

Табела 21: Поновљивост нивоа HBV DNK помоћу Aptima HBV Quant теста на Panther систему код позитивних чланова панела

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

%CV = логаритамски нормални коефицијент варијације, GT = генотип, SD = стандардна девијација.

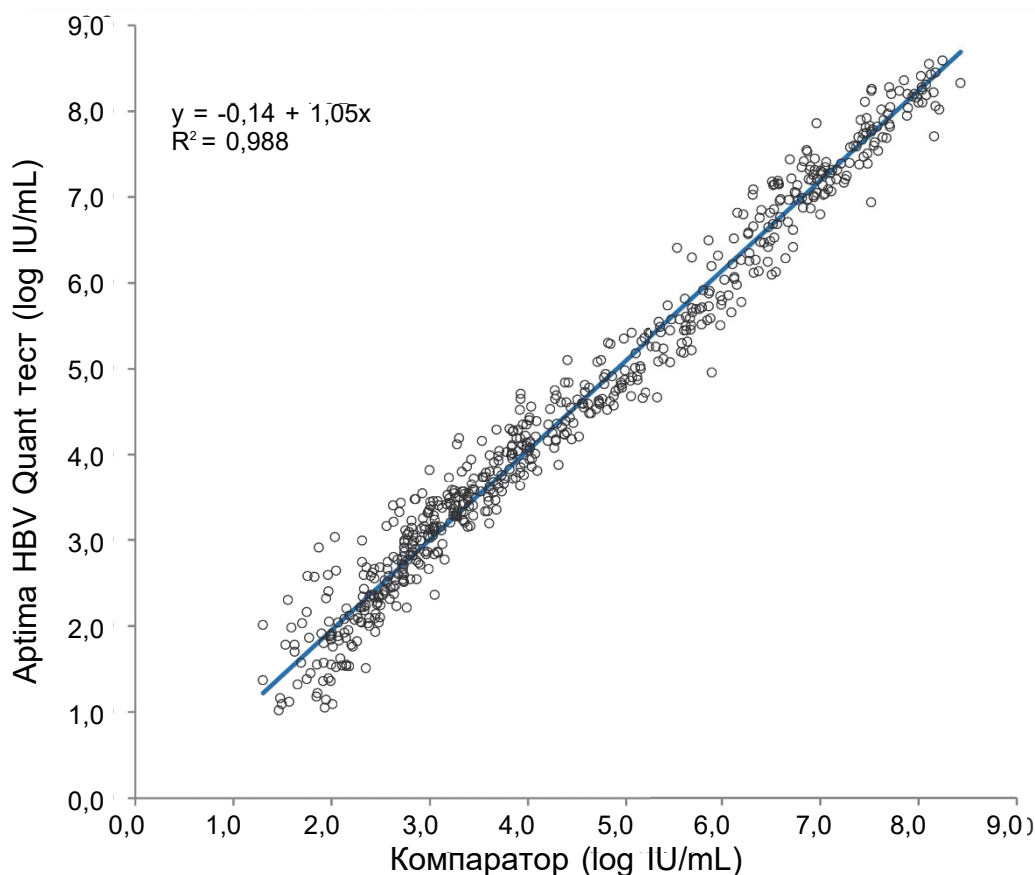
Напомена: Варијабилност неких фактора може бити нумерички негативна. Ово се може десити ако је варијабилност због тих фактора веома мала. U tim slučajevima SD i KV se prikazuju kao 0.

^a Између оператора се може помешати са Између дана; стога се процене Између оператора и Између дана комбинују у Између оператора/дана.

Клиничке перформансе

Корелација метода

Учинак Aptima HBV Quant теста је процењен у односу на упоредни тест са ознаком CE и лиценциран од стране Health Canada тестирањем неразблажених клиничких узорака пацијената инфицираних HBV-ом. Укупно 614 клиничких узорака унутар линеарног опсега заједничког за оба теста коришћено је за линеарну регресију као што је приказано у Слика 9.



Слика 9. Корелација између Aptima HBV Quant теста и компараторног теста

Клиничка корист

Студија је осмишљена да процени способност Aptima HBV Quant теста да предвиди вирусолошке, биохемијске и серолошке клиничке корисне крајње тачке 48 недеља након почетка терапије. Узорци су проспективно прикупљени од испитаника са хроничном HBV инфекцијом који су започели монотерапију ентекавиром или тенофовиром као део свог стандардног лечења.

Од 331 укљученог испитаника, 86 испитаника није било могуће проценити због повлачења из студије, прекида лечења, превременог прекида лечења, недостатка резултата у 48. недељи или недостатка или ниских почетних нивоа вирусног оптерећења HBV DNK. Преосталих 245 испитаника било је могуће проценити за најмање један од показатеља клиничке употребе, а међу њима је било 126 HBeAg(+) и 119 HBeAg(-) испитаника. Табела 22 приказује демографске и основне клиничке карактеристике испитаника који се могу процењивати. Демографска дистрибуција испитаника у овој студији била је у складу са дистрибуцијом пацијената са хроничним HBV-ом у САД.¹³ Подаци добијени од HBeAg(+) и HBeAg(-) испитаника анализирани су одвојено.

Табела 22: Демографија и основне клиничке карактеристике испитаника који могу да се процене

Карактеристике		Укупно
Укупно, N	N	245
Ентекавир	n (%)	94 (38,4)
Тенофовир	n (%)	151 (61,6)
Пол, n (%)	Мушки	154 (62,9)
	Женски	91 (37,1)
Старост (године)	Средња вредност $\pm$ SD	43,5 $\pm$ 13,63
	Медијана	44,0
	Опсег	18–83
Старосна категорија (године), n (%)	18–29	40 (16,3)
	30–49, n (%)	120 (49,0)
	50–70, n (%)	80 (32,7)
	>70, n (%)	5 (2,0)
Етничка припадност, n (%)	Хиспано или латино	7 (2,9)
	Није хиспано нити латино	236 (96,3)
	Непознато/Одбијено	2 (0,8)
Раса ^a , n (%)	Бела	89 (36,3)
	Црна или афро-америчка	16 (6,5)
	Азијска	132 (53,9)
	Амерички Индијанац/староседелац Аљаске	0 (0,0)
	Староседелац Хаваја/Пацифичких острва	6 (2,4)
	Остало	1 (0,4)
	Непознато/Одбијено	1 (0,4)
Генотип, n (%)	A	28 (11,4)
	B	64 (26,1)
	C	36 (14,7)
	D	47 (19,2)
	E	2 (0,8)
	F	0 (0,0)
	G	0 (0,0)
	H	3 (1,2)
	Непознато	65 (26,5)
Статус HBV лечења, n (%)	Искусан	27 (11,0)
	Наиван	218 (89,0)
Претходно лечење лековима, n (%)	Тенофовир	5 (18,5)
	Ентекавир	4 (14,8)
	Адефовир	2 (7,4)
	Ламивудин	1 (3,7)
	Телбивудин	0 (0,0)
	Интерферон	10 (37,0)
	Друго ^b	5 (18,5)
Исход претходног лечења, n (%)	Неуспех	1 (3,7)
	Успех	0 (0,0)
	Прекинуто из других разлога	26 (96,3)
HBsAg серолошки статус, n (%)	Позитивно/реактивно	210 (85,7)
	Није обављено	35 (14,3)

Табела 22: Демографија и основне клиничке карактеристике испитаника који могу да се процене

Карактеристике	Укупно
Циротични статус, n (%)	Циротично
	26 (10,6)
	Нециротично
Вирусно оптерећење HBV-a (log ₁₀ IU/mL)	201 (82,0)
	Није обављено
	18 (7,3)
ALT (U/L)	Средња вредност ± SD
	6,3 ± 1,93
	Медијана
ALT (U/L)	6,4
	Опсег
	3–9
ALT (U/L)	Средња вредност ± SD
	102,4 ± 175,97
ALT (U/L)	Број изнад ULN ^c
	177 (85,9)

^a Испитаници могу да пријаве више раса.

^b Различите комбинације наведених специфичних лекова.

^c Горња граница нормалног опсега (ULN) за аланин аминотрансферазу (ALT) била је 30 U/L за мушкарце и 19 U/L за жене.

Предвиђање одговора на антивирусну терапију

Клиничка корисност Aptima HBV Quant теста је процењена код особа лечених тенофовиrom и ентекавиrom. Нема доступних информација о клиничкој употреби теста када се користе друге антивирусне терапије за HBV.

Дефиниције

Исходи раног вирусолошког одговора

Вирусолошки одговор у 12. и 24. недељи = HBV DNK <10 IU/mL (<LLOQ) процењено Aptima HBV Quant тестом на Panther систему

Алтернативни вирусолошки одговор у 12. недељи = HBV DNK ≥2 log₁₀ смањење од почетне вредности

Алтернативни вирусолошки одговор у 24. недељи = HBV DNK <2000 IU/mL (за HBeAg+) или <50 IU/mL (за HBeAg-)

Крајњи показатељи клиничке употребе

Вирусолошки одговор у 48. недељи = HBV DNK <10 IU/mL (<LLOQ) процењено одобреним квантитативним HBV тестом

Алтернативни вирусолошки одговор у 48. недељи = HBV DNK <50 IU/mL процењено одобреним квантитативним HBV тестом

Биохемијски одговор = Нормализација резултата ALT теста у 48. недељи (ALT <30 U/L за мушкарце и <19 U/L за жене)

Серолошки одговор = Губитак HBeAg (HBeAg-негативни резултати) у 48. недељи

Мере асоцијације и предиктивне вредности

Позитивна предиктивна вредност (PPV) = Тачно позитивно / (Тачно позитивно + Лажно позитивно) или вероватноћа одговора у 48. недељи (за процењени крајњи показатељ клиничке употребе) код испитаника са вирусолошким одговором у раном временском тренутку

Негативна предиктивна вредност (NPV) = Тачно негативно / (Лажно негативно + Тачно негативно) или вероватноћа изостанка одговора у 48. недељи (за процењени крајњи показатељ клиничке употребе) код испитаника са вирусолошким изостанком одговора у раном временском тренутку

Однос шанси (OR) = (Тачно позитивно × Тачно негативно) / (Лажно позитивно × Лажно негативно)

Предвиђање вирусолошког одговора у 48. недељи, дефинисано као HBV DNK <10 IU/mL

У овој студији, примарна дефиниција вирусолошког одговора била је HBV DNK <10 IU/mL, и ова дефиниција је коришћена и за рани вирусолошки одговор у 12. и 24. недељи, као и за вирусолошки одговор у 48. недељи. Процењена је веза између раних вирусолошких одговора у 12. и 24. недељи и крајњих тачака клиничке употребе у 48. недељи (вирусолошки одговор, биохемијски одговор, серолошки одговор).

Предвиђање вирусолошког одговора у 48. недељи

Везе између вирусолошког одговора у 48. недељи и вирусолошког одговора у 12. и 24. недељи сумиране су у Табела 23.

Рани вирусолошки одговори у 12. и 24. недељи, као предиктори вирусолошког одговора у 48. недељи, варирали су у зависности од недеље и лечења.

Табела 23: PPV, NPV и однос шанси за вирусолошки одговор предвиђен раним вирусолошким одговором током лечења: Вирусолошки одговор у 48. недељи дефинисан као <10 IU/mL

HBeAg статус	Недеља раног вирусолошког одговора	Лечење	PPV (%)		NPV (%)		OR
			Процена (95% CI)	n/N	Процена (95% CI)	n/N	Процена (95% CI) ^{a,b}
HBeAg(+)	12	Ентекавир	0,0 (0,0, 93,2)	0/1	82,5 (80,0, 88,4)	33/40	1,49 (<0,01, 30,95)
		Тенофовир	100 (27,3, 100)	2/2	74,4 (72,6, 78,7)	61/82	14,30 (1,11, >999,99)
		Све	66,7 (15,4, 98,2)	2/3	77,0 (75,7, 79,9)	94/122	6,71 (0,62, 147,55)
	24	Ентекавир	50,0 (6,4, 93,2)	2/4	88,2 (83,5, 95,4)	30/34	7,50 (0,74, 79,76)
		Тенофовир	75,0 (52,7, 92,3)	12/16	84,1 (78,5, 90,0)	58/69	15,81 (4,62, 65,54)
		Све	70,0 (50,3, 88,1)	14/20	85,4 (81,3, 90,1)	88/103	13,69 (4,74, 44,16)
	HBeAg(-)	12	Ентекавир	94,1 (87,1, 99,0)	32/34	22,2 (7,6, 36,0)	4,57 (0,80, 35,85)
			Тенофовир	83,3 (70,5, 93,2)	25/30	46,9 (35,0, 58,9)	4,41 (1,42, 15,71)
			Све	89,1 (82,1, 94,7)	57/64	38,0 (29,0, 47,1)	4,99 (1,96, 14,00)
		24	Ентекавир	93,0 (88,0, 98,1)	40/43	37,5 (6,4, 67,2)	8,00 (1,21, 55,54)
			Тенофовир	82,6 (74,3, 90,4)	38/46	75,0 (54,1, 92,0)	14,25 (3,92, 62,71)
			Све	87,6 (82,7, 92,6)	78/89	62,5 (44,8, 78,0)	11,82 (4,30, 34,94)

CI = 95% интервал поузданости вероватноће профила.

^a Сенчење означава статистичку значајност односа шанси.

^b За израчунавање односа шанси и њихових интервала поузданости, 0,5 је додато свим ћелијама кад год је бар једна ћелија била нула.

Предвиђање биохемијског одговора у 48. недељи

Везе између биохемијског одговора у 48. недељи и вирусолошког одговора у 12. и 24. недељи сумиране су у Табела 24.

Вредност раних вирусолошких одговора у 12. и 24. недељи као предиктор биохемијског одговора у 48. недељи варирала је у зависности од недеље и терапије.

Табела 24: PPV, NPV и однос шанси за биохемијски одговор предвиђен раним вирусолошким одговором током лечења: Вирусолошки одговор у 48. недељи дефинисан као <10 IU/mL

HBeAg статус	Недеља раног вирусолошког одговора	Лечење	PPV (%)		NPV (%)		OR
			Процена (95% CI)	n/N	Процена (95% CI)	n/N	Процена (95% CI) ^a
HBeAg(+)	12	Ентекавир	NC (NC)	0/0	67,9 (63,4–76,1)	19/28	2,05 (0,01–393,52)
		Тенофовир	100 (27,6, 100)	2/2	58,5 (55,1, 63,9)	31/53	7,00 (0,54, 983,90)
		Све	100 (27,3, 100)	2/2	61,7 (59,7, 65,5)	50/81	8,02 (0,63, >999,99)
	24	Ентекавир	66,7 (16,4–98,2)	2/3	68,2 (60,1–80,0)	15/22	4,29 (0,35–101,82)
		Тенофовир	58,3 (33,2, 81,0)	7/12	61,4 (54,3, 69,7)	27/44	2,22 (0,61, 8,61)
		Све	60,0 (36,6, 80,9)	9/15	63,6 (58,2, 70,0)	42/66	2,62 (0,84, 8,70)
HBeAg(-)	12	Ентекавир	43,8 (25,1, 61,2)	7/16	50,0 (25,1, 74,9)	6/12	0,78 (0,17, 3,53)
		Тенофовир	52,9 (35,1, 72,2)	9/17	76,2 (61,2, 89,8)	16/21	3,60 (0,93, 15,39)
		Све	48,5 (36,0, 60,9)	16/33	66,7 (54,5, 78,6)	22/33	1,88 (0,70, 5,20)
	24	Ентекавир	45,8 (36,0, 56,0)	11/24	75,0 (25,2, 98,7)	3/4	2,54 (0,28, 55,45)
		Тенофовир	42,9 (32,8, 53,1)	12/28	80,0 (53,0, 97,1)	8/10	3,00 (0,61, 22,34)
		Све	44,2 (37,8, 50,8)	23/52	78,6 (55,1, 95,0)	11/14	2,91 (0,80, 13,98)

CI = 95% интервал поузданости вероватноће профила, NC = није израчунљиво.

^a За израчунавање односа шанси и њихових интервала поузданости, 0,5 је додато свим ћелијама кад год је бар једна ћелија била нула.

Предвиђање серолошког одговора у 48. недељи

Везе између серолошког одговора у 48. недељи и вирусолошког одговора у 12. и 24. недељи сумиране су у Табела 25.

Вредност раних вирусолошких одговора у 12. и 24. недељи као предиктор серолошког одговора у 48. недељи варира је у зависности од недеље и лечења.

Табела 25: PPV, NPV и однос шанси за серолошки одговор предвиђен раним вирусолошким одговором током лечења: Вирусолошки одговор у 48. недељи дефинисан као <10 IU/mL

HBeAg статус	Недеља раног вирусолошког одговора	Лечење	PPV (%)		NPV (%)		OR
			Процена (95% CI)	n/N	Процена (95% CI)	n/N	Процена (95% CI) ^a
HBeAg(+)	12	Ентекавир	100 (6,5, 100)	1/1	86,8 (84,2, 93,9)	33/38	18,27 (0,86, >999,99)
		Тенофовир	0,0 (0,0, 72,0)	0/2	82,9 (81,7, 86,0)	68/82	0,95 (<0,01, 12,45)
		Све	33,3 (1,8, 84,3)	1/3	84,2 (83,1, 86,8)	101/120	2,66 (0,12, 29,11)
	24	Ентекавир	50,0 (6,4, 93,2)	2/4	88,2 (83,5, 95,4)	30/34	7,50 (0,74, 79,76)
		Тенофовир	18,8 (3,1, 39,1)	3/16	84,1 (80,6, 89,1)	58/69	1,22 (0,25, 4,59)
		Све	25,0 (8,5, 43,6)	5/20	85,4 (82,5, 89,4)	88/103	1,96 (0,57, 5,94)

CI = 95% интервал поузданости вероватноће профила.

^a За израчунавање односа шанси и њихових интервала поузданости, 0,5 је додато свим ћелијама кад год је бар једна ћелија била нула.

Предвиђање вирусолошког одговора у 48. недељи, дефинисано као HBV DNK <50 IU/mL (алтернативна дефиниција)

Такође су процењене алтернативне дефиниције раноф вирусолошких одговора (12. и 24. недеља) и вирусолошких одговора у 48. недељи (видети горе наведене дефиниције алтернативних одговора).

Асоцијације између крајњих тачака клиничке употребе и вирусолошког одговора у 12. и 24. недељи, користећи ове алтернативне дефиниције вирусолошког одговора, сумиране су у Табела 26 (вирусолошки одговор), Табела 27 (биохемијски одговор), и Табела 28 (серолошки одговор).

Табела 26: PPV, NPV и однос шанси за вирусолошки одговор предвиђен раним вирусолошким одговором током лечења: Вирусолошки одговор у 48. недељи дефинисан као <50 IU/mL

HBeAg статус	Недеља раног вирусолошког одговора	Лечење	PPV (%)		NPV (%)		OR
			Процена (95% CI)	n/N	Процена (95% CI)	n/N	Процена (95% CI) ^{a,b}
HBeAg(+)	12	Ентекавир	34,2 (26,9, 39,2)	13/38	66,7 (16,1, 98,2)	2/3	1,04 (0,09, 23,60)
		Тенофовир	55,1 (51,9, 59,4)	43/78	83,3 (43,5, 99,2)	5/6	6,14 (0,93, 120,54)
		Све	48,3 (45,6, 51,3)	56/116	77,8 (45,3, 97,1)	7/9	3,27 (0,75, 22,54)
	24	Ентекавир	65,0 (51,3, 81,2)	13/20	100 (86,3, 100)	18/18	66,59 (7,20, >999,99)
		Тенофовир	72,4 (64,7, 80,6)	42/58	88,9 (74,6, 97,2)	24/27	21,00 (6,28, 97,36)
		Све	70,5 (63,5, 77,9)	55/78	93,3 (84,0, 98,3)	42/45	33,47 (10,81, 148,13)
HBeAg(-)	12	Ентекавир	100 (NC)	52/52	NC (NC)	0/0	NC
		Тенофовир	93,0 (89,1, 97,5)	53/57	60,0 (21,3, 93,3)	3/5	19,87 (2,62, 191,49)
		Све	96,3 (94,4, 98,7)	105/109	60,0 (21,1, 93,3)	3/5	39,37 (5,24, 376,77)
	24	Ентекавир	100 (NC)	47/47	0,0 (NC)	0/4	NC
		Тенофовир	93,9 (88,6, 98,3)	46/49	30,8 (6,7, 52,4)	4/13	6,81 (1,30, 39,97)
		Све	96,9 (93,8, 99,2)	93/96	23,5 (7,0, 39,8)	4/17	9,54 (1,91, 53,22)

CI = 95% интервал поузданости вероватноће профила, NC = није израчунљиво.

^a Сенчење означава статистичку значајност односа шанси.

^b За израчунавање односа шанси и њихових интервала поверења, 0,5 је додато свим ћелијама кад год је бар једна ћелија била нула, осим ако није било одговора у 48. недељи или није било изостанка одговора у 48. недељи, што је резултирало пријављивањем односа шанси као NC.

Табела 27: PPV, NPV и однос шанси за биохемијски одговор предвиђен раним вирусолошким одговором током лечења: Вирусолошки одговор у 48. недељи дефинисан као <50 IU/mL

HBeAg статус	Недеља раног вирусолошког одговора	Лечење	PPV		NPV		OR
			Процена (95% CI)	n/N	Процена (95% CI)	n/N	Процена (95% CI) ^{a,b}
HBeAg(+)	12	Ентекавир	33,3 (25,1–39,0)	9/27	100 (6,7–100)	1/1	1,54 (0,07–233,77)
		Тенофовир	44,2 (39,6, 48,6)	23/52	66,7 (15,7, 98,2)	2/3	1,59 (0,14, 35,36)
		Све	40,5 (37,1, 43,7)	32/79	75,0 (23,9, 98,7)	3/4	2,04 (0,25, 42,30)
	24	Ентекавир	50,0 (31,2–69,5)	7/14	81,8 (58,9–97,1)	9/11	4,50 (0,79–37,15)
		Тенофовир	52,5 (44,0, 61,8)	21/40	81,3 (60,1–96,7)	13/16	4,79 (1,30, 23,28)
		Све	51,9 (44,1, 60,2)	28/54	81,5 (66,4, 93,1)	22/27	4,74 (1,66, 15,82)
HBeAg(-)	12	Ентекавир	46,4 (39,5, 52,6)	13/28	NC (NC)	0/0	0,87 (<0,01, 166,17)
		Тенофовир	40,0 (33,6, 46,3)	14/35	100 (41,4, 100)	3/3	4,72 (0,41, 653,11)
		Све	42,9 (39,6, 46,7)	27/63	100 (41,2, 100)	3/3	5,27 (0,48, 720,38)
	24	Ентекавир	44,0 (34,4, 52,7)	11/25	66,7 (16,3–98,2)	2/3	1,57 (0,13, 36,42)
		Тенофовир	41,4 (31,3, 51,1)	12/29	77,8 (48,6, 97,1)	7/9	2,47 (0,49, 18,57)
		Све	42,6 (36,4, 48,9)	23/54	75,0 (48,8, 93,7)	9/12	2,23 (0,59, 10,87)

CI = 95% интервал поузданости вероватноће профила.

^a Сенчење означава статистичку значајност односа шанси.^b За израчунавање односа шанси и њихових интервала поузданости, 0,5 је додато свим ћелијама кад год је бар једна ћелија била нула.

Табела 28: PPV, NPV и однос шанси за серолошки одговор предвиђен раним вирусолошким одговором током лечења: Вирусолошки одговор у 48. недељи дефинисан као <50 IU/mL

HBeAg статус	Недеља раног вирусолошког одговора	Лечење	PPV		NPV		OR
			Процена (95% CI)	n/N	Процена (95% CI)	n/N	Процена (95% CI) ^{a,b}
HBeAg(+)	12	Ентекавир	16,7 (10,4, 19,6)	6/36	100 (44,1, 100)	3/3	1,49 (0,12, 209,89)
		Тенофовир	16,7 (12,9, 18,6)	13/78	83,3 (44,2, 99,2)	5/6	1,00 (0,14, 19,98)
		Све	16,7 (13,9, 18,1)	19/114	88,9 (58,8, 99,5)	8/9	1,60 (0,27, 30,56)
	24	Ентекавир	30,0 (16,5, 41,6)	6/20	100 (86,3, 100)	18/18	16,59 (1,72, >999,99)
		Тенофовир	22,4 (16,9, 26,8)	13/58	96,3 (84,7, 99,9)	26/27	7,51 (1,37, 140,31)
		Све	24,4 (20,0, 28,4)	19/78	97,8 (90,4, 99,9)	44/45	14,17 (2,77, 259,25)

CI = 95% интервал поузданости вероватноће профила.

^a Сенчење означава статистичку значајност односа шанси.^b За израчунавање односа шанси и њихових интервала поузданости, 0,5 је додато свим ћелијама кад год је бар једна ћелија била нула.

Закључак

Генерално, резултати показују да Aptima HBV Quant тест може да квантификује нивое HBV DNK на почетку и током лечења како би помогао у процени вирусног одговора на лечење. Ова студија је показала да се рани вирусолошки одговори у 12. и 24. недељи, као предиктори вирусолошког одговора у 48. недељи, разликују у зависности од недеље и лечења.

Aptima HBV Quant тест може се користити као помоћ у лечењу пацијената са хроничном HBV инфекцијом који се подвргавају антивирусној терапији против HBV.

Библиографија

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

Контакт информације и историја ревизија



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



Hologic BV
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Белгија

Спонзор за Аустралију
Hologic (Australia & New
Zealand) Pty Ltd.
Macquarie Park, NSW 2113

Имејл адресу и број телефона техничке и корисничке подршке за одређену земљу потражите на адреси www.hologic.com/support.

Озбиљне инциденте у вези са медицинским средством у Европској унији треба пријавити произвођачу и надлежном органу државе чланице у којој корисник и/или пацијент имају пријављено пребивалиште.

Hologic, Aptima, Panther, Panther Fusion и повезани логотипови су заштитни знаци и/или регистровани заштитни знаци компаније Hologic, Inc. и/или њених подружница у Сједињеним Америчким Државама и/или другим земљама. Сви остали трговачки знаци који се могу појавити у овом упутству су власништво њихових власника.

Сви остали трговачки знаци који се могу појавити у овом упутству су власништво њихових власника.

Овај производ може бити заштићен једним или више патената САД који су наведени на адреси www.hologic.com/patents.

© 2001–2025. Hologic, Inc. Сва права задржана.

AW-28215-3901 Рев. 003

2025-10

Историја ревизија	Датум	Опис
AW-28215-3901 Рев. 001	Јул 2025.	Првобитно издање новог Aptima HBV теста IFU AW-28215 Рев. 001 ради усклађености са прописима IVDR и замениће AW-13182.
AW-28215-3901 Рев. 002	Август 2025.	Ажурирања заштитног знака ради испуњавања BSI захтева.
AW-28215-3901 Рев. 003	Октобар 2025.	- Додата опција са клацкалицом за епрувете. - Ажуриран безбедносни лист