

Aptima® HBV Quant Assay

Istruzioni per l'uso
Per uso diagnostico *in vitro*.
Solo per l'esportazione dagli U.S.A.

Informazioni generali	2
Uso previsto	2
Sintesi e spiegazione dell'analisi	2
Principi della procedura	3
Riepilogo di sicurezza e prestazioni	3
Avvertenze e precauzioni	4
Requisiti di conservazione e manipolazione dei reagenti	9
Raccolta e conservazione dei campioni biologici	9
Campioni caricati sul sistema Panther	13
Trasporto dei campioni biologici	13
Sistema Panther	14
Reagenti e materiali forniti	14
Materiali richiesti e disponibili separatamente	15
Materiali opzionali	16
Procedura di analisi del sistema Panther	17
Note procedurali	21
Controllo della qualità	22
Calibrazione del test	22
Controlli positivi e negativi	22
Calibratore/Controllo interno	22
Interpretazione dei risultati	23
Limiti	24
Prestazioni analitiche	25
Limite di rilevamento utilizzando il terzo standard internazionale dell'OMS	25
Limite di rilevamento nei genotipi dell'HBV	25
Intervallo lineare	26
Linearità nei genotipi dell'HBV	27
Limite inferiore di quantificazione utilizzando il terzo standard internazionale dell'OMS	27
Limite inferiore di quantificazione nei genotipi dell'HBV	29
Riconducibilità al terzo standard internazionale dell'OMS	31
Precisione	31
Sostanze potenzialmente interferenti	33
Specificità analitica	35
Equivalenza di matrice	36
Diluizione dei campioni con diluente per campioni Aptima (1:3)	36
Diluizione del campione con diluente per campioni Aptima (1:100)	37
Conferma del LLoQ nei campioni diluiti nel diluente per campioni Aptima	39
Precisione dei campioni diluiti	39
Contaminazione crociata	40
Riproducibilità	40
Risultati clinici	42
Correlazione tra metodi	42
Utilità clinica	42
Bibliografia	51
Informazioni di contatto e cronologia delle revisioni	52

Informazioni generali

Uso previsto

Il test Aptima® HBV Quant Assay è un test di amplificazione degli acidi nucleici *in vitro* per la quantificazione del DNA del virus dell'epatite B (HBV) nel plasma e nel siero umano tramite il sistema completamente automatizzato Panther™.

Il plasma può essere preparato in acido etilendiamminotetraacetico (EDTA), in soluzione di citrato-destrorio anticoagulante (ACD) e in provette di preparazione del plasma (PPT).

Il siero può essere preparato in provette con siero e in provette con separatore di siero (SST).

I campioni biologici vengono analizzati utilizzando il sistema completamente automatizzato Panther per il trattamento, l'amplificazione e la quantificazione dei campioni. I campioni biologici contenenti genotipi A, B, C, D, E, F, G e H dell'HBV sono convalidati per la quantificazione del test.

Il test Aptima HBV Quant Assay è indicato per l'uso come ausilio nella gestione di pazienti con infezioni croniche da HBV che si sottopongono a una terapia farmacologica antivirale per l'HBV. Il test può essere utilizzato per misurare i livelli di materiale genetico (DNA) dell'HBV al basale e durante il trattamento come ausilio per la valutazione della risposta del virus al trattamento. I risultati del test Aptima HBV Quant Assay devono essere interpretati contestualmente ai risultati clinici e di laboratorio pertinenti.

Il test Aptima HBV Quant Assay non è destinato all'uso come test di screening per la presenza di DNA dell'HBV nel sangue o in emoderivati né come test diagnostico per confermare la presenza di infezione da HBV.

Sintesi e spiegazione dell'analisi

Il virus dell'epatite B, uno dei diversi virus noti per causare l'epatite, è associato a un'infezione da HBV cronica, cirrosi epatica, cancro del fegato, insufficienza epatica e, potenzialmente, al decesso. L'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) classifica l'HBV come una delle patologie infettive più comuni al mondo. La prevalenza dell'infezione da HBV e la modalità di trasmissione variano notevolmente in tutto il mondo. Nel 2019, si stima che ammontassero a circa 296 milioni le persone in tutto il mondo affette da un'infezione cronica da HBV.¹ L'infezione da HBV determina un aumento del rischio di scompenso epatico, cirrosi e carcinoma epatocellulare (HCC) con una mortalità da 0,5 a 1,2 milioni di decessi e il 5-10% di casi di trapianto del fegato a livello mondiale all'anno.^{2,3} In assenza di una terapia appropriata, un intervento e un monitoraggio adeguati dopo la diagnosi, l'incidenza complessiva di cirrosi a 5 anni oscilla tra l'8 e il 20%. In seguito all'insorgenza di cirrosi, il rischio annuale di carcinoma epatocellulare è del 2-5%.⁴

L'HBV presenta un genoma a DNA circolare, a doppio filamento parziale, di circa 3200 coppie di basi che codificano quattro schemi di lettura aperti (ORF) parzialmente sovrapposti che esprimono la polimerasi, la superficie, il precore/core le proteine X. L'ORF della polimerasi sovrappone gli altri tre ORF e codifica una proteina chiave della replicazione del virus, la polimerasi. L'ORF di superficie produce tre proteine, che sono essenziali per la morfogenesi virale, l'ingresso del virus negli epatociti, provocando la risposta immunitaria dell'ospite.⁵ Vi sono 8 genotipi di HBV (A-H) e questi sono tipicamente localizzati in aree geografiche distinte.

A causa della natura dinamica dell'infezione cronica da virus dell'epatite B, è fondamentale un monitoraggio continuo dei livelli di DNA dell'HBV e dell'alanina aminotransferasi (ALT).⁶ Per la maggior parte degli individui con un'infezione da HBV che si sottopongono a terapia antivirale, l'obiettivo è la soppressione del DNA dell'HBV. I test quantitativi dell'acido nucleico con un range lineare ampio sono strumenti efficaci per monitorare la carica virale del materiale genetico (DNA) dell'HBV nel corso del trattamento.

Principi della procedura

Il test Aptima HBV Quant Assay è un test di amplificazione dell'acido nucleico *in vitro* che utilizza una tecnologia ad amplificazione mediata da trascrizione (TMA) in tempo reale sul sistema Panther per quantificare il DNA dell'HBV, i genotipi A, B, C, D, E, F, G e H. Il test Aptima HBV Quant Assay punta come bersaglio due regioni ad alta conservazione nella polimerasi e ai geni di superficie (per una maggiore tolleranza alle potenziali mutazioni). Il test è standardizzato al 3° Standard Internazionale dell'OMS per il virus dell'Epatite B (codice NIBSC: 10/264).

Il test Aptima HBV Quant Assay prevede tre passaggi principali, che avvengono tutte in un'unica provetta sul sistema Panther: cattura del bersaglio, amplificazione del bersaglio tramite TMA e rilevamento dei prodotti di amplificazione (ampliconi) mediante sonde marcate con fluorofori (torches).

Durante la cattura del bersaglio, il DNA virale viene isolato dai campioni biologici. Il campione biologico viene trattato con un detergente per solubilizzare il pericapside virale, denaturare le proteine e rilasciare il DNA genomico del virus. Gli oligonucleotidi di cattura ibridizzano con le regioni ad alta conservazione del DNA dell'HBV, se presenti, nel campione biologico analizzato. Il bersaglio ibridizzato viene successivamente catturato su microparticelle magnetiche che sono separate dal campione biologico in un campo magnetico. Le fasi di lavaggio servono a rimuovere i componenti esterni dalla provetta di reazione.

L'amplificazione del target avviene tramite TMA, che è un metodo di amplificazione degli acidi nucleici mediato da trascrizione che utilizza due enzimi, la trascrittasi inversa del virus della leucemia murina di Moloney (MMLV) e la polimerasi dell'RNA T7. La trascrittasi inversa viene usata per generare una copia di DNA (contenente una sequenza promotrice della polimerasi dell'RNA T7) della sequenza bersaglio. La polimerasi dell'RNA T7 produce copie multiple dell'amplicone dell'RNA dal modello della copia di DNA. Il test Aptima HBV Quant Assay utilizza il metodo TMA per amplificare due regioni del genoma dell'HBV (gene della polimerasi e gene di superficie). L'amplificazione di queste regioni viene conseguita utilizzando primer specifici realizzati per amplificare i genotipi A, B, C, D, E, F, e H dell'HBV. L'approccio a doppio bersaglio con una progettazione del primer che mira alle regioni ad alta conservazione garantisce un'accurata quantificazione del DNA dell'HBV.

Il rilevamento si ottiene utilizzando sonde di acido nucleico a filamento unico presenti durante l'amplificazione del target, che si ibridizzano specificamente con l'amplicone in tempo reale. Ogni sonda ha un fluoroforo e un quencher. Quando la sonda non è ibridizzata all'amplicone, il quencher è in stretta prossimità del fluoroforo e ne sopprime la fluorescenza. Quando la sonda si lega all'amplicone, il quencher viene allontanato dal fluoroforo ed emetterà un segnale a una specifica lunghezza d'onda quando eccitato da una sorgente luminosa. Quando più sonde si ibridizzano all'amplicone, viene generato un segnale fluorescente più elevato. Il tempo impiegato dal segnale fluorescente per raggiungere una soglia predefinita è proporzionale alla concentrazione iniziale di HBV. Ogni reazione presenta un calibratore interno/controllo interno (CI) che controlla le variazioni nella lavorazione, nell'amplificazione e nel rilevamento del campione biologico. La concentrazione di un campione viene determinata dal software del sistema Panther che utilizza i segnali dell'HBV e dell'IC per ogni reazione e che li mette a confronto con le informazioni di calibrazione.

Riepilogo di sicurezza e prestazioni

La SSP (Sintesi di sicurezza e delle prestazioni) è disponibile nella banca dati europea dei dispositivi medici (Eudamed), che è collegata agli identificativi del dispositivo (UDI-DI di base). Per individuare l'SSP relativo al test Aptima HBV Quant Assay, fare riferimento al Basic Unique Device Identifier (BUDI): 54200455DIAGAPTHBVAUF.

Avvertenze e precauzioni

- A. Per uso diagnostico *in vitro*.
- B. Per uso professionale.
- C. Al fine di ridurre il rischio di risultati non validi, leggere attentamente l'intero foglietto illustrativo e il Manuale per l'operatore del sistema Panther o del sistema Panther Fusion™ (*Panther/Panther Fusion™ System Operator's Manual*) prima di eseguire questo test.
- D. Il reagente di potenziamento del bersaglio (TER) è corrosivo. Vedere le informazioni sulla Scheda dei dati di sicurezza alla fine di questa sezione.

Informazioni pertinenti al laboratorio

- E. ATTENZIONE: I controlli di questo test contengono plasma umano. Il plasma è non reattivo all'antigene di superficie dell'epatite B (HBsAg), agli anticorpi anti-HCV, agli anticorpi anti-HIV-1 e anti-HIV-2 e all'antigene dell'HIV quando analizzati con le procedure autorizzate dalla Food and Drug Administration statunitense. Inoltre, il plasma è non reattivo al DNA dell'HBV, all'RNA dell'HCV e all'RNA dell'HIV-1 quando analizzati con i test degli acidi nucleici autorizzati. Tutti i materiali ottenuti dal sangue umano devono essere considerati potenzialmente infettivi ed essere manipolati nel rispetto delle Precauzioni universali.^{7,8,9}
- F. Solo il personale adeguatamente formato nell'utilizzo del test Aptima HBV Quant Assay e nella manipolazione di materiali potenzialmente infettivi deve eseguire questa procedura. In caso di fuoriuscita, disinfettare immediatamente seguendo le procedure appropriate del sito.
- G. Utilizzare solo contenitori da laboratorio monouso forniti o specificati.
- H. Adottare le consuete precauzioni di laboratorio. Non pipettare con la bocca. Non mangiare, bere né fumare nelle aree di lavoro designate. Durante la manipolazione di campioni biologici e reagenti, indossare guanti monouso senza talco, occhiali protettivi e camici da laboratorio. Lavarsi accuratamente le mani dopo la manipolazione di campioni e reagenti.
- I. Le superfici di lavoro, le pipette e le altre apparecchiature devono essere decontaminate regolarmente con una soluzione di ipoclorito di sodio al 2,5-3,5% (da 0,35 M a 0,5 M).
- J. Smaltire tutto il materiale che è entrato in contatto con campioni biologici e reagenti in conformità alle normative nazionali, internazionali e regionali in vigore.^{7,8,9,10} Pulire e disinfettare accuratamente tutte le superfici di lavoro.
- K. I controlli contengono azoturo di sodio come conservante. Non utilizzare tubi metallici per il trasferimento dei reagenti. Se soluzioni contenenti composti di azoturo di sodio vengono smaltite in un sistema idraulico, devono essere diluite e risciacquate con abbondante acqua corrente. Queste precauzioni sono consigliate per evitare l'accumulo di depositi nelle tubazioni metalliche in cui potrebbero svilupparsi condizioni esplosive.
- L. Le buone pratiche standard per i laboratori molecolari includono il monitoraggio ambientale. Per monitorare l'ambiente di un laboratorio, si consiglia la seguente procedura.
 - 1. Munirsi di un bastoncino con punta di cotone e abbinarlo alla provetta per aliquota di campione Aptima (SAT).
 - 2. Etichettare correttamente ogni SAT.
 - 3. Riempire ogni SAT con 1 mL di diluente di campione Aptima.
 - 4. Per raccogliere i campioni dalle superfici, inumidire leggermente il tampone con acqua deionizzata priva di nucleasi.

5. Passare il tampone sulla superficie di interesse con un movimento verticale dall'alto verso il basso. Ruotare il tampone di circa mezzo giro mentre lo si passa sulla superficie.
6. Collocare immediatamente nella provetta il tampone con il campione e roteare delicatamente il tampone nel diluente per estrarre gli eventuali materiali prelevati. Premere il tampone sul lato della provetta di trasporto per fare fuoriuscire quanto più liquido possibile. Gettare il tampone e tappare la provetta.
7. Ripetere questi passaggi per i rimanenti tamponi con i campioni.
8. Analizzare il tampone con il test molecolare.




Informazioni pertinenti ai campioni




- M. I campioni biologici potrebbero essere infettivi. Nell'eseguire questo test, adottare le Precauzioni universali^{7,8,9}. Metodi adeguati di manipolazione e smaltimento devono essere stabiliti in conformità alle normative locali¹⁰. Questa procedura deve essere eseguita esclusivamente dal personale adeguatamente formato nell'utilizzo del test Aptima HBV Quant Assay e nella manipolazione di materiale potenzialmente infettivo.
- N. Mantenere le corrette condizioni di conservazione durante la spedizione del campione biologico per assicurarne l'integrità. La stabilità dei campioni biologici in condizioni di spedizione diverse da quelle raccomandate non è stata determinata.
- O. Evitare la contaminazione crociata durante i procedimenti di manipolazione dei campioni biologici. Prestare particolare attenzione a evitare la contaminazione provocata dalla diffusione degli aerosol quando si allentano o si tolgono i tappi dei contenitori dei campioni biologici. I campioni possono contenere livelli di organismi estremamente alti. Assicurarsi che i contenitori dei campioni biologici non vengano in contatto tra di loro ed eliminare il materiale usato senza farlo passare sopra i contenitori aperti. Cambiare i guanti se vengono a contatto con i campioni biologici.

Informazioni pertinenti al test

- P. Non utilizzare i reagenti, il calibratore o i controlli dopo la data di scadenza.
- Q. Non scambiare, mescolare o combinare reagenti del test provenienti da kit con numeri di lotto master diversi. I liquidi del test possono avere numeri di lotto diversi. I controlli e il calibratore possono avere numeri di lotto diversi.
- R. Evitare la contaminazione microbica e nucleasica dei reagenti.
- S. Tappare e conservare tutti i reagenti del test alle temperature specificate. Le prestazioni dell'esame possono essere compromesse dall'uso di reagenti di test conservati in modo inappropriato. Consultare *Requisiti di conservazione e manipolazione dei reagenti* e *Procedura di analisi del sistema Panther* per maggiori informazioni.
- T. Non combinare reagenti o liquidi dell'esame senza istruzioni specifiche. Non rabboccare i flaconi di reagenti o liquidi. Il sistema Panther verifica i livelli dei reagenti.
- U. Evitare il contatto dei TER con la cute, gli occhi e le mucose. In caso di contatto con questo reagente, lavare con acqua. Se si verificano fuoriuscite di reagente, diluire con acqua e seguire le procedure del centro appropriate.
- V. Alcuni reagenti del kit riportano, sulle rispettive etichette, delle indicazioni di pericolo.

Nota: le comunicazioni di pericolo utilizzano le classificazioni delle schede di sicurezza (SDS) dell'UE. Per informazioni relative alle indicazioni di pericolo specifiche della propria nazione, fare riferimento alla scheda SDS specifica nella Raccolta delle schede di sicurezza all'indirizzo www.hologic.com. Per ulteriori informazioni sui simboli, fare riferimento alla legenda dei simboli alla pagina <https://www.hologic.com/package-inserts>.

Informazioni sui pericoli per il Nord America	
	Controlli del kit HBV VL <i>Siero umano/Plasma umano 95-100%</i> <i>Azoturo di sodio <1%</i> — —
	Reagente di potenziamento per l'amplificazione del bersaglio <i>Lithium Hydroxide, Monohydrate 5-10%</i> — — PERICOLO H302 - Nocivo se ingerito. H314 - Provoca gravi ustioni cutanee e gravi lesioni oculari. P264 - Lavare accuratamente viso, mani ed eventuale superficie cutanea esposta dopo l'uso. P270 - Non mangiare, né bere, né fumare durante l'uso. P330 - Sciacquare la bocca. P501 - Smaltire il prodotto/recipiente in un impianto di smaltimento approvato. P260 - Non respirare polveri o nebbie. P280 - Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/il viso. P301 + P330 + P331 - IN CASO DI INGESTIONE: sciacquare la bocca. NON provocare il vomito. P303 + P361 + P353 - IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE (o con i capelli): togliersi di dosso immediatamente tutti gli indumenti contaminati. Sciacquare la pelle o fare una doccia. P304 + P340 - IN CASO DI INALAZIONE: trasportare la persona all'aria aperta e mantenerlo in posizione che agevoli la respirazione. P305 + P351 + P338 - IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente con acqua per diversi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare. P321 - Trattamento specifico (vedere istruzioni supplementari per il primo soccorso nella scheda di sicurezza). P363 - Lavare gli indumenti contaminati prima di indossarli nuovamente. P405 - Conservare sotto chiave. P301- P317 - In caso di ingestione chiedere assistenza medica P316 - Consultare un medico immediatamente.
 	
Informazioni sui pericoli per l'UE	
— —	Reagente di amplificazione <i>Magnesium Chloride 60-65%</i> H412 - Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata. P273 - Non disperdere nell'ambiente. P501 - Smaltire il contenuto o il recipiente in un impianto di smaltimento approvato.
	Reagente enzimatico <i>HEPES 1-5%</i> <i>Triton X-100 1-5%</i> — — H412 - Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata. P273 - Non disperdere nell'ambiente. P501 - Smaltire il contenuto o il recipiente in un impianto di smaltimento approvato.

—	<p>Soluzione per la ricostituzione enzimatica <i>Glicerina 20-25%</i> <i>Triton X-100 5-10%</i> <i>HEPES 1-5%</i></p> <p>—</p> <p>H412 - Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata. P273 - Non disperdere nell'ambiente. P501 - Smaltire il contenuto o il recipiente in un impianto di smaltimento approvato.</p>
—	<p>Reagente promotore <i>Magnesium Chloride 60-65%</i></p> <p>—</p> <p>H412 - Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata. P273 - Non disperdere nell'ambiente. P501 - Smaltire il contenuto o il recipiente in un impianto di smaltimento approvato.</p>
—	<p>Reagente di cattura del bersaglio <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></p> <p>—</p> <p>H412 - Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata. P273 - Non disperdere nell'ambiente. P501 - Smaltire il contenuto o il recipiente in un impianto di smaltimento approvato.</p>
—	<p>Calibratori del kit HBV VL <i>HEPES 15-20%</i> <i>Lauryl Sulfate Lithium Salt 5-10%</i> <i>Succinic Acid 1-5%</i> <i>Lithium Hydroxide, Monohydrate 1-5%</i></p> <p>—</p> <p>H412 - Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata. P273 - Non disperdere nell'ambiente. P501 - Smaltire il contenuto o il recipiente in un impianto di smaltimento approvato.</p>
  	<p>Controlli del kit HBV VL <i>Siero umano/Plasma umano 95-100%</i> <i>Azoturo di sodio <1%</i></p> <p>—</p> <p>PERICOLO H300 - Mortale se ingerito. H410 - Molto tossico per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata. P264 - Lavare accuratamente viso, mani ed eventuale superficie cutanea dopo l'uso. P273 - Non disperdere nell'ambiente. P301 + P310 - IN CASO DI INGESTIONE: contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI o un medico. P321 - Trattamento specifico (vedere istruzioni supplementari per il primo soccorso su questa etichetta). P330 - Sciacquare la bocca. P391 - Raccogliere il materiale fuoriuscito.</p>

Reagente di potenziamento per l'amplificazione del bersaglio*Lithium Hydroxide, Monohydrate 5-10%***PERICOLO**

H302 - Nocivo se ingerito.

H314 - Provoca gravi ustioni cutanee e gravi lesioni oculari.

P264 - Lavare accuratamente viso, mani ed eventuale superficie cutanea esposta dopo l'uso.

P270 - Non mangiare, né bere, né fumare durante l'uso.

P330 - Sciacquare la bocca.

P501 - Smaltire il contenuto o il recipiente in un impianto di smaltimento approvato.

P260 - Non respirare la polvere/i fumi/i gas/la nebbia/i vapori/gli aerosol.

P280 - Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/il viso.

P301 + P330 + P331 - IN CASO DI INGESTIONE: sciacquare la bocca. NON provocare il vomito.

P303 + P361 + P353 - IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE (o con i capelli): togliersi di dosso immediatamente tutti gli indumenti contaminati. Sciacquare la pelle con acqua (o fare una doccia).

P304 + P340 - IN CASO DI INALAZIONE: trasferire la persona all'aria aperta e mantenerla a riposo in una posizione che favorisca la respirazione.

P305 + P351 + P338 - IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente con acqua per diversi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare.

P310 - Contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI o un medico.

P321 - Trattamento specifico (vedere istruzioni supplementari per il primo soccorso su questa etichetta).

P363 - Lavare gli indumenti contaminati prima di indossarli nuovamente.

P405 - Conservare sotto chiave.

Requisiti di conservazione e manipolazione dei reagenti

- A. La seguente tabella indica i requisiti di conservazione e la stabilità di reagenti, controlli e calibratore.

Reagente	Conservazione a confezione chiusa	Kit aperto (ricostituito)	
		Conservazione	Stabilità
Reagente di amplificazione qHBV	Da 2 °C a 8 °C		
Soluzione di ricostituzione di amplificazione qHBV	Da 2 °C a 8 °C	Da 2°C a 8°C	30 giorni ^a
Reagente enzimatico qHBV	Da 2 °C a 8 °C		
Soluzione di ricostituzione enzimatica qHBV	Da 2 °C a 8 °C	Da 2°C a 8°C	30 giorni ^a
Reagente promotore qHBV	Da 2 °C a 8 °C		
Soluzione di ricostituzione del promotore qHBV	Da 2 °C a 8 °C	Da 2°C a 8°C	30 giorni ^a
Reagente di cattura del bersaglio qHBV	Da 2 °C a 8 °C	Da 2°C a 8°C	30 giorni ^a
qHBV PCAL (Calibratore positivo)	Da -15 °C a -35 °C	Da 15 °C a 30°C	Fiala monouso Utilizzare entro 24 ore
qHBV NC CONTROL - (Controllo negativo)	Da -15 °C a -35 °C	Da 15 °C a 30°C	Fiala monouso Utilizzare entro 24 ore
qHBV LPC CONTROL + (Controllo positivo basso)	Da -15 °C a -35 °C	Da 15 °C a 30 °C	Fiala monouso Utilizzare entro 24 ore
qHBV HPC CONTROL + (Controllo positivo alto)	Da -15 °C a -35 °C	Da 15 °C a 30 °C	Fiala monouso Utilizzare entro 24 ore
Reagente di potenziamento del bersaglio qHBV	Da 15 °C a 30 °C	Da 15 °C a 30 °C	30 giorni ^a

^a Quando i reagenti vengono rimossi dal sistema Panther, devono essere immediatamente riportati alle rispettive temperature di conservazione appropriate.

- B. Smaltire qualsiasi reagente ricostituito inutilizzato, il reagente di cattura del bersaglio (TCR) e il reagente di potenziamento per l'amplificazione del bersaglio (TER) dopo 30 giorni o dopo la data di scadenza del lotto master, a seconda di quale data cada per prima.
- C. I reagenti conservati nel sistema Panther sono stabili per 72 ore quando sono conservati con lo strumento. I reagenti possono essere caricati nel sistema Panther fino a 8 volte. Il sistema Panther registra ogni volta che i reagenti vengono caricati.
- D. Dopo lo scongelamento del calibratore, la soluzione deve essere trasparente, ossia non torbida o in presenza di precipitati. Assicurarsi che i precipitati siano dissolti. Non utilizzare il calibratore se sono presenti gel, precipitato o torbidità.
- E. Il reagente promotore e il reagente promotore ricostituito sono fotosensibili. Proteggere questi reagenti dalla luce durante la conservazione e la preparazione per l'uso.
- F. Il reagente di potenziamento per l'amplificazione del bersaglio qHBV deve essere a una temperatura compresa tra 15 °C e 30 °C prima dell'uso.

Raccolta e conservazione dei campioni biologici

Nota: maneggiare tutti i campioni biologici come se contenessero agenti potenzialmente infettivi. Adottare le precauzioni universali.

Nota: Prestare attenzione a evitare la contaminazione crociata durante le fasi di manipolazione dei campioni. Ad esempio, smaltire il materiale utilizzato senza farlo passare sulle provette aperte.

Nota: Per la conservazione si consiglia esclusivamente solo provette secondarie in plastica.

È possibile utilizzare i campioni di sangue intero raccolti nelle seguenti provette di vetro o di plastica:

- Provette contenenti acido etilendiamminotetraacetico (EDTA) o acido citrico-citrato-destrosio (ACD) come anticoagulanti
- Provette di preparazione del plasma
- Provette con siero
- Provette con separatore di siero

Per il siero, consentire la formazione del coagulo prima dell'ulteriore trattamento.

A. Raccolta dei campioni biologici

Il sangue intero può essere conservato a una temperatura compresa tra 2 °C e 30 °C fino a 24 ore e il plasma deve essere separato mediante centrifugazione in una provetta primaria prima del trattamento. Separare il plasma o il siero dai globuli rossi seguendo le istruzioni del produttore per la provetta utilizzata. Il plasma o il siero possono essere analizzati sul sistema Panther direttamente in una provetta primaria o trasferiti in una provetta secondaria, come la provetta per aliquota di campione Aptima®. Per ottenere il volume di reazione di 500 µL, il volume minimo suggerito di plasma o di siero per le provette di raccolta primarie è fino a 1.200 µL, mentre per le provette secondarie il volume minimo è 700 µL. La seguente tabella identifica i requisiti di volume morto per ciascun tipo di provetta primaria e secondaria.

Provetta (dimensioni e tipo)	Volume morto su Panther
Provetta per aliquota di campione (SAT) Aptima	0,2 ml
12x75 mm	0,5 ml
13 x 100 mm	0,5 ml
13x100 mm con gel	0,3 ml
16x100 mm con gel	0,7 ml

Se non analizzati immediatamente, il plasma e il siero possono essere conservati in conformità alle specifiche riportate in basso. Se trasferito nella SAT o in una provetta secondaria, il plasma o il siero possono essere congelati a -20 °C. Non superare 3 cicli di congelamento/scongelamento. Non congelare i campioni nelle provette di raccolta primarie contenenti EDTA, ACD o siero.

B. Condizioni di conservazione dei campioni biologici

1. Campioni di plasma con EDTA e ACD

Il sangue intero può essere conservato a una temperatura compresa tra 2 °C e 30 °C e deve essere centrifugato entro 24 ore dalla raccolta del campione biologico. Il plasma può quindi essere conservato in una delle seguenti condizioni:

- Nella provetta di raccolta primaria o nella provetta secondaria a 2 °C - 30 °C per un periodo massimo di 24 ore;
- Nella provetta di raccolta primaria o nella provetta secondaria a 2 °C a 8 °C per un periodo massimo di 5 giorni; oppure
- Nella provetta secondaria a una temperatura di -20 °C per un periodo massimo di 60 giorni.

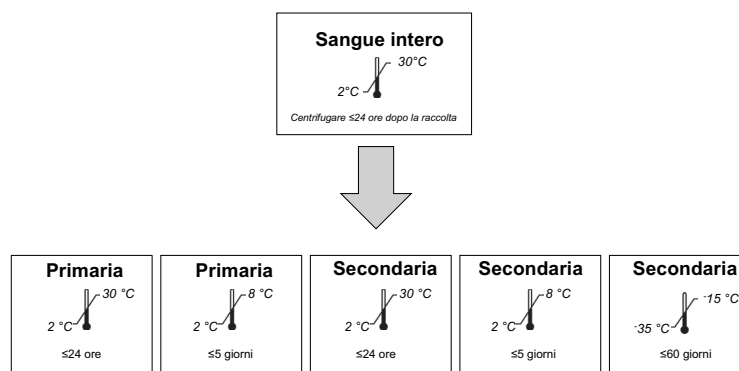


Figura 1. Condizioni di conservazione per le provette contenenti EDTA/ACD

2. Campioni nelle PPT

Il sangue intero può essere conservato a una temperatura compresa tra 2 °C e 30 °C e deve essere centrifugato entro 24 ore dalla raccolta del campione biologico. Il plasma può quindi essere conservato in una delle seguenti condizioni:

- Nella PPT o nella provetta secondaria a una temperatura compresa da 2 °C a 30 °C per un periodo massimo di 24 ore;
- Nella PPT o nella provetta secondaria a una temperatura compresa tra 2 °C e 8 °C per un periodo massimo di 5 giorni; o
- Nella PPT o nella provetta secondaria a una temperatura di -20 °C per un periodo massimo di 60 giorni.

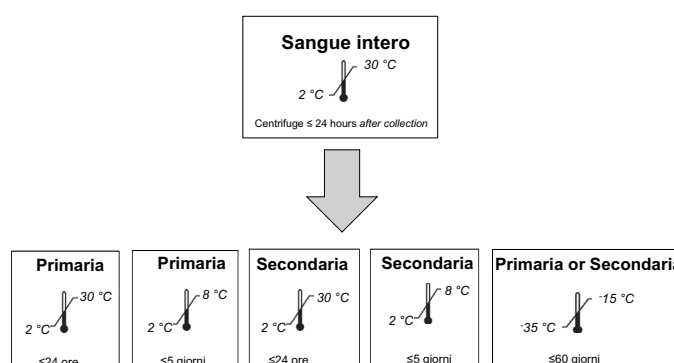


Figura 2. Condizioni di conservazione per PPT

3. Campioni biologici in provette con siero

Il sangue intero può essere conservato a una temperatura compresa tra 2 °C e 30 °C e deve essere centrifugato entro 24 ore dalla raccolta del campione biologico. Il siero può quindi essere conservato in una delle seguenti condizioni:

- Nella provetta del siero o nella provetta secondaria a una temperatura compresa tra 2 °C e 30 °C per un periodo massimo di 24 ore;
- Nella provetta del siero o nella provetta secondaria a una temperatura compresa tra 2 °C e 8 °C per un periodo massimo di 5 giorni; oppure
- Nella provetta secondaria a una temperatura di -20 °C per un periodo massimo di 60 giorni.

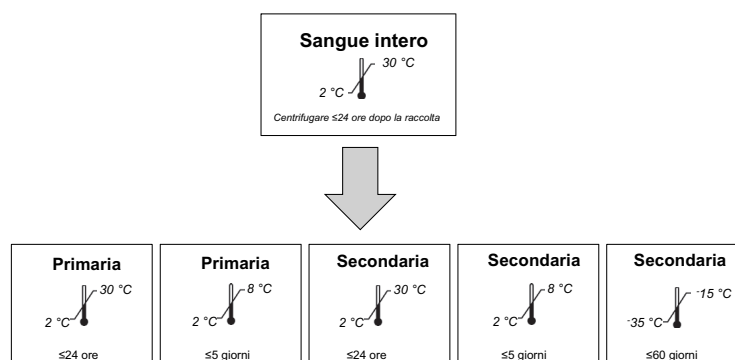


Figura 3. Condizioni di conservazione delle provette contenenti siero

4. Campioni biologici nelle SST

Il sangue intero può essere conservato a una temperatura compresa tra 2 °C e 30 °C e deve essere centrifugato entro 24 ore dalla raccolta del campione biologico. Il siero può quindi essere conservato in una delle seguenti condizioni:

- Nella SST o nella provetta secondaria a una temperatura compresa tra 2 °C e 30 °C per un periodo massimo di 24 ore;
- Nella SST o nella provetta secondaria a una temperatura compresa tra 2 °C e 8 °C fino a un massimo di 5 giorni; oppure
- Nella SST o nella provetta secondaria a una temperatura di -20 °C per un periodo massimo di 60 giorni.

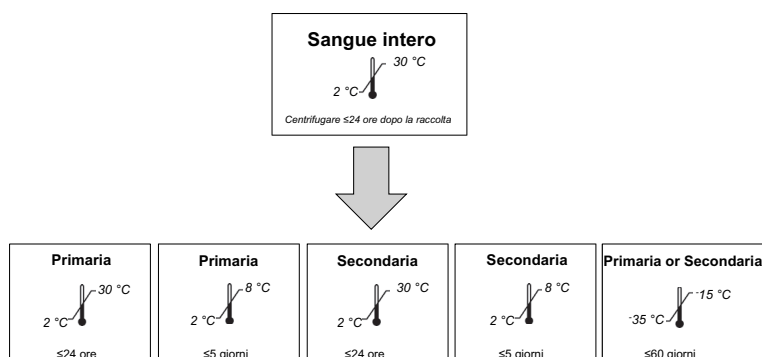


Figura 4. Condizioni di conservazione per le SST

C. Conservazione in congelatore a lungo termine

I campioni di plasma o di siero possono essere conservati nelle SAT a una temperatura di -70 °C per un periodo massimo di 60 giorni.

D. Diluizione di campioni di plasma e siero

I campioni di plasma e di siero possono essere diluiti nella SAT o in una provetta secondaria per l'analisi con il sistema Panther. Consultare *Procedura di analisi del sistema Panther*, il passaggio E.5 in basso per maggiori informazioni.

Nota: *Se un campione biologico viene diluito, deve essere analizzato subito dopo la diluizione. Non congelare un campione biologico diluito.*

Campioni caricati sul sistema Panther

I campioni possono essere lasciati nel sistema Panther senza tappo fino a un massimo di 8 ore. I campioni possono essere rimossi dal sistema Panther ed essere analizzati a condizione che il tempo totale di permanenza nello strumento non superi le 8 ore prima del pipettaggio del campione da parte del sistema Panther.

Trasporto dei campioni biologici

Mantenere le condizioni di conservazione dei campioni come descritto in *Raccolta e conservazione dei campioni biologici*.

Nota: *I campioni biologici devono essere spediti in conformità alle normative in materia di trasporto nazionali, internazionali e regionali applicabili.*

Sistema Panther

Sono elencati di seguito i reagenti del test Aptima HBV Quant Assay per il sistema Panther. Accanto al nome di ciascun reagente è indicato anche il rispettivo simbolo identificativo.

Reagenti e materiali forniti

Kit Aptima HBV Quant Assay, 100 test (Cat. N. PRD-03424)

(Una (1) confezione del test, un (1) kit calibratore, un (1) kit dei controlli e una (1) confezione del reagente di potenziamento per l'amplificazione del bersaglio)

Calibratori e controlli aggiuntivi possono essere ordinati separatamente. Vedere di seguito i riferimenti del catalogo.

Confezione kit Aptima HBV Quant Assay

(alla consegna, conservare a una temperatura compresa tra 2 °C e 8 °C)

Simbolo	Componente	Quantità
A	Reagente di amplificazione qHBV <i>Acidi nucleici non infettivi essiccati in soluzione tamponata.</i>	Una (1) fiala
E	Reagente enzimatico qHBV <i>Transcrittasi inversa e polimerasi dell'RNA essiccate in soluzione tamponata HEPES.</i>	Una (1) fiala
PRO	Reagente promotore qHBV <i>Acidi nucleici non infettivi essiccati in soluzione tamponata.</i>	Una (1) fiala
AR	Soluzione di ricostituzione di amplificazione qHBV <i>Soluzione acquosa contenente glicerolo e conservanti.</i>	1 x 7,2 ml
ER	Soluzione di ricostituzione enzimatica qHBV <i>Soluzione tamponata HEPES contenente un tensioattivo e glicerolo.</i>	1 x 5,8 ml
PROR	Soluzione di ricostituzione promotore qHBV <i>Soluzione acquosa contenente glicerolo e conservanti.</i>	1 x 4,5 ml
TCR	Reagente di cattura del bersaglio qHBV <i>Acidi nucleici in una soluzione salina tamponata contenente acidi nucleici non infettivi in fase solida e calibratore interno.</i>	1 x 72,0 ml
	Collari di ricostituzione	3
	Foglio dei codici a barre dei lotti master	1 scheda

Kit calibratore Aptima HBV Quant (Cat. N. PRD-03425)

(alla consegna, conservare a una temperatura compresa tra -15 °C e -35 °C)

Simbolo	Componente	Quantità
PCAL	Calibratore positivo qHBV <i>DNA plasmidico (pDNA) in soluzione tamponata</i>	5 x 2,5 ml
	Etichetta del codice a barre del calibratore	—

Kit controlli Aptima HBV Quant (Cat. N. PRD-03426)

(alla consegna, conservare a una temperatura compresa tra -15 °C e -35 °C)

Simbolo	Componente	Quantità
NC	Controllo negativo qHBV <i>Plasma umano defibrinato negativo all'HBV contenente gentamicina e azoturo di sodio allo 0,2% come conservanti.</i>	5 x 0,8 ml
LPC	Controllo positivo basso qHBV <i>Plasma positivo all'HBV inattivato nel plasma umano defibrinato contenente gentamicina e azoturo di sodio allo 0,2% come conservanti.</i>	5 x 0,8 ml
HPC	Controllo positivo alto qHBV <i>Plasma positivo all'HBV inattivato nel plasma umano defibrinato contenente gentamicina e azoturo di sodio allo 0,2% come conservanti.</i>	5 x 0,8 ml
	Etichetta dei codici a barre dei controlli	—

Confezione del reagente di potenziamento per l'amplificazione del bersaglio per test**Aptima HBV Quant**

(alla consegna, conservare a temperature comprese tra 15 °C e 30 °C)

Simbolo	Componente	Quantità
TER	Reagente di potenziamento del bersaglio qHBV <i>Soluzione concentrata di idrossido di litio</i>	1 x 46,0 ml

Materiali richiesti e disponibili separatamente

Nota: Salvo altrimenti specificato, per i materiali resi disponibili da Hologic sono indicati i rispettivi numeri di catalogo.

Materiali	N. cat.
Sistema Panther™	303095
Sistema Panther Fusion™	PRD-04172
Sistema Panther™, Smaltimento continuo di liquidi e rifiuti (Panther Plus)	PRD-06067
Kit calibratore Aptima® HBV Quant	PRD-03425
Kit controlli Aptima® HBV Quant	PRD-03426
Kit Panther Run per test in tempo reale (esclusivamente per test in tempo reale)	PRD-03455 (5.000 test)
Kit liquidi per test Aptima® (noto anche come kit liquidi universali) <i>contiene soluzione di lavaggio Aptima®, tampone per liquido di disattivazione Aptima® e reagente oleoso Aptima®</i>	303014 (1.000 test)
Unità multiprovetta (MTU)	104772-02
Kit di sacchetti di rifiuti Panther™	902731
Coperchio del contenitore di rifiuti Panther™	504405

Materiale	N. cat.
Oppure Kit procedurale sistema Panther <i>(quando si eseguono test TMA non in tempo reale parallelamente a test TMA in tempo reale)</i> <i>contiene MTU, sacchetti di rifiuti, coperchi del contenitore di rifiuti, liquidi Auto Detect e liquidi per test</i>	303096 (5.000 test)
Puntali, 1.000 µl, conduttivi, rilevatori di liquido	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
<i>Non tutti i prodotti sono disponibili in tutte le regioni. Contattare il rappresentante per informazioni specifiche sulla regione.</i>	
Candeggina, soluzione di ipoclorito di sodio al 5-8,25% (da 0,7 M a 1,16 M)	—
Guanti monouso senza talco	—
Tappi non penetrabili di ricambio	103036A
Tappi di ricambio per reagenti <i>Flaconi di soluzione di ricostituzione e di reagenti di amplificazione, enzimatici e promotori</i> <i>Flacone TCR</i> <i>Flacone TER</i>	CL0041 (100 tappi) CL0040 (100 tappi) 501604 (100 tappi)
Teli da banco di laboratorio plastificati	—
Panni che non lasciano pelucchi	—
Pipettatore	—
Puntali	—
Opzioni di provette di raccolta primaria: <i>13 mm x 100 mm</i> <i>13 mm x 75 mm</i> <i>16 mm x 100 mm</i>	— — —
Centrifuga	—
Miscelatore vortex	—

Materiali opzionali

Materiale	N. cat.
Opzioni di provette di raccolta secondaria: <i>12 mm x 75 mm</i> <i>13 mm x 100 mm</i> <i>16 mm x 100 mm</i> <i>Provette per aliquota di campione Aptima® (SAT) (confezione da 100)</i>	— — — FAB-18184
Tappo per provetta di trasporto (confezione da 100) <i>Tappo per SAT</i>	504415
Diluyente per campioni Aptima®	PRD-03003
Kit diluyente per campioni Aptima® <i>contiene il diluyente dei campioni, 100 SAT e 100 tappi</i>	PRD-03478
Pipette di trasferimento	—
Bastoncini di ovatta	—
Agitatore oscillante per provette	PRD-03488

Procedura di analisi del sistema Panther

Nota: Per ulteriori informazioni procedurali, consultare il Manuale per l'operatore del sistema Panther o del sistema Panther Fusion (Panther/Panther Fusion System Operator's Manual).

A. Preparazione dell'area di lavoro

1. Pulire le superfici di lavoro dove verranno preparati i reagenti. Passare sulle superfici di lavoro una soluzione di ipoclorito di sodio al 2,5-3,5% (0,35-0,5 M). Lasciare la soluzione di ipoclorito di sodio a contatto con le superfici per almeno 1 minuto, quindi risciacquare con acqua deionizzata (DI). Non lasciare asciugare la soluzione di ipoclorito di sodio. Coprire la superficie del banco con teli da banco di laboratorio puliti, assorbenti e plastificati.
2. Pulire una superficie di lavoro separata su cui preparare i campioni. Utilizzare la procedura descritta in precedenza (passaggio A.1).
3. Pulire eventuali pipettatori. Utilizzare la procedura di pulizia descritta in precedenza (passaggio A.1).

B. Preparazione del calibratore e dei controlli

Portare il calibratore e i controlli a una temperatura compresa tra 15 °C e 30 °C prima del trattamento, come indicato di seguito:

1. Togliere il calibratore e i controlli dal luogo in cui sono conservati (a una temperatura compresa tra -15 °C e -35 °C) e portarli a una temperatura compresa tra 15 °C e 30 °C. Durante l'intero processo di scongelamento, capovolgere delicatamente ciascuna provetta per miscelarla accuratamente. Assicurarsi che il contenuto delle provette sia completamente scongelato prima di utilizzarlo.

Opzione. Le provette del calibratore e dei controlli possono essere collocate su un agitatore oscillante per provette per garantire una miscelazione accurata. Assicurarsi che il contenuto delle provette sia completamente scongelato prima di utilizzarlo.

Nota: evitare di generare schiuma eccessiva quando si capovolgono calibratore e controlli. Infatti, la schiuma pregiudica il rilevamento del livello di liquido nel sistema Panther.

2. Quando il contenuto della provetta si è scongelato, asciugare l'esterno della provetta con un panno monouso pulito e asciutto.
3. Per prevenire la contaminazione, non aprire le provette.

C. Ricostituzione del reagente o preparazione di un nuovo kit

Nota: eseguire la ricostituzione dei reagenti prima di iniziare qualsiasi attività con il sistema Panther.

1. Per preparare il TCR, procedere nel modo seguente:
 - a. Rimuovere il TCR dal luogo in cui è conservato (a una temperatura compresa tra 2 °C e 8 °C). Controllare il numero di lotto sul flacone TCR per assicurarsi che corrisponda al numero di lotto riportato sulla scheda del codice a barre del lotto master.
 - b. Agitare immediatamente il flacone TCR in modo vigoroso per 10 volte. Lasciare riscaldare il flacone TCR a una temperatura compresa tra 15 °C e 30 °C per almeno 45 minuti. Durante questo periodo, roteare e capovolgere il flacone TCR almeno ogni 10 minuti.

Opzione. Il flacone TCR può essere preparato utilizzando un agitatore oscillante per provette attenendosi alle seguenti istruzioni: Rimuovere il flacone TCR dal luogo in cui è conservato (a una temperatura compresa tra 2 °C e 8 °C) e agitarlo immediatamente con vigore per 10 volte. Collocare il flacone TCR su un agitatore oscillante per provette e lasciarlo riscaldare a una temperatura compresa tra 15 °C e 30 °C per almeno 45 minuti.

- c. Prima di utilizzarlo, assicurarsi che tutto il precipitato sia in soluzione e che le particelle magnetiche siano in sospensione.
2. Per ricostituire il reagente di amplificazione, il reagente enzimatico e il reagente promotore, procedere nel modo seguente:
 - a. Rimuovere i reagenti liofilizzati e le corrispondenti soluzioni di ricostituzione dal luogo in cui sono conservati (a una temperatura compresa tra 2 °C e 8 °C). Abbinare ciascuna soluzione di ricostituzione al rispettivo reagente liofilizzato.
 - b. Assicurarsi che l'etichetta della soluzione di ricostituzione e l'etichetta del reagente liofilizzato abbiano colori corrispondenti. Controllare i numeri di lotto sul foglio dei codici a barre dei lotti master per assicurarsi di abbinare i reagenti appropriati.
 - i. Aprire la fiala di reagente liofilizzato rimuovendo il sigillo metallico e il tappo di gomma.
 - ii. Inserire con decisione sulla fiala l'estremità indentata del collare di ricostituzione (nero) (Figura 5, passaggio 1).
 - iii. Aprire il flacone di soluzione di ricostituzione corrispondente e disporre il cappuccio su una superficie di lavoro pulita e coperta.
 - iv. Appoggiare il flacone con la soluzione di ricostituzione su una superficie stabile (sul banco). Quindi capovolgere la fiala del reagente liofilizzato sul flacone con la soluzione di ricostituzione e fissare saldamente il collare al flacone con la soluzione di ricostituzione (Figura 5, passaggio 2).
 - v. Capovolgere lentamente i flaconi assemblati (fiala fissata al flacone con la soluzione) per consentire alla soluzione di drenare nella fiala di vetro (Figura 5, passaggio 3).
 - vi. Raccogliere i flaconi assemblati e rotarli per almeno 10 secondi (Figura 5, passaggio 4).
 - vii. Attendere almeno 30 minuti per permettere al reagente liofilizzato di andare in soluzione.
 - viii. Dopo che il reagente liofilizzato è andato in soluzione, roteare i flaconi assemblati per almeno 10 secondi, quindi fare oscillare leggermente avanti e indietro la soluzione all'interno della fiala di vetro per miscelare bene.
 - c. Inclinare di nuovo lentamente i flaconi assemblati per consentire a tutta la soluzione di drenare nuovamente nel flacone con la soluzione di ricostituzione (Figura 5, passaggio 5).
 - d. Rimuovere con cautela il collare di ricostituzione e la fiala di vetro (Figura 5, passaggio 6).
 - e. Rimettere il cappuccio sul flacone. Registrare sull'etichetta le iniziali dell'operatore e la data di ricostituzione (Figura 5, fase 7).
 - f. Gettare via sia il collare di ricostituzione sia la fiala di vetro (Figura 5, passaggio 8).

Avvertenza: Evitare la formazione di schiuma eccessiva durante la ricostituzione dei reagenti. Infatti, la schiuma pregiudica il rilevamento del livello di liquido nel sistema Panther.

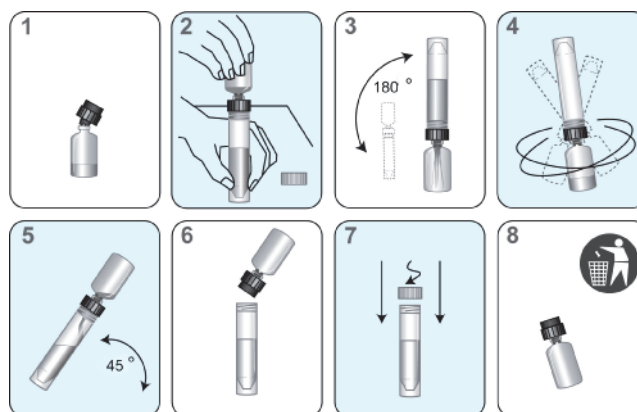


Figura 5. Processo di ricostituzione dei reagenti

3. Rimuovere il reagente di potenziamento per l'amplificazione del target qHBV dal luogo in cui è conservato (a una temperatura compresa tra 15 °C e 30 °C). Registrare sull'etichetta le iniziali dell'operatore e la data di apertura. Controllare il numero di lotto sul flacone del TER per assicurarsi che corrisponda al numero di lotto riportato sulla scheda del codice a barre del lotto master.

D. Preparazione di reagenti per i reagenti precedentemente preparati

1. Rimuovere i reagenti precedentemente preparati dal luogo in cui sono conservati (a una temperatura compresa tra 2 °C e 8 °C). I reagenti TCR, di amplificazione, enzimatico e promotore precedentemente preparati devono raggiungere una temperatura compresa tra 15°C e 30°C prima dell'avvio del test.
2. Rimuovere il TER dal luogo in cui è conservato (a una temperatura compresa tra 15 °C e 30 °C).
3. Per il TCR precedentemente preparato, eseguire il passaggio C.1 descritto in precedenza, prima di caricarlo sul sistema.
4. Roteare e capovolgere i reagenti di amplificazione, enzimatico e promotore per miscelarli bene prima di caricarli sul sistema. Evitare la formazione di schiuma eccessiva quando si capovolgono i reagenti.

Opzione: I reagenti precedentemente preparati possono essere preparati in un agitatore per provette seguendo queste istruzioni: rimuovere i reagenti dal luogo in cui sono conservati (da 2°C a 8°C). Posizionare i reagenti in un agitatore per provette e lasciarli a scaldare ad una temperatura tra i 15°C e i 30°C per almeno 30 minuti.

5. Evitare di riempire i flaconi dei reagenti fino all'orlo. Il sistema Panther riconosce e rifiuta i flaconi rabboccati.

E. Manipolazione dei campioni biologici

1. Assicurarsi che i campioni trattati nelle provette primarie o i campioni di plasma non diluiti nelle provette secondarie siano stati conservati correttamente secondo quanto indicato in *Raccolta dei campioni biologici*.
2. Assicurarsi che i campioni biologici congelati siano scongelati del tutto. Centrifugare i campioni scongelati per un tempo da 3 a 5 secondi per miscelare a fondo.
3. Lasciare che i campioni biologici raggiungano una temperatura compresa tra 15 e 30 °C prima del trattamento. Per ulteriori informazioni sul caricamento fare riferimento alla sezione *Campioni caricati sul sistema Panther*.

4. Assicurarsi che ciascuna provetta di raccolta primaria contenga fino a un massimo di 1.200 µL di campione o che ciascuna SAT contenga almeno 700 µL di campione. Consultare la tabella in *Raccolta dei campioni biologici* per identificare i requisiti di volume morto per ogni tipo di provetta primaria e secondaria. Se è necessario diluire il campione, per ulteriori informazioni consultare le indicazioni descritte alla lettera E.5 di seguito.
5. Diluire un campione di plasma o siero con concentrazione 1:3 in una SAT o con concentrazione 1:100 in una provetta secondaria.

Un campione può essere diluito in una provetta secondaria per l'analisi con il sistema Panther.

Nota: *quando si diluisce un campione biologico, deve essere analizzato immediatamente dopo la diluizione.*

- a. Diluizione di campioni biologici con volume ridotto

Per portare il volume dei campioni biologici al volume minimo richiesto (700 µL) utilizzare il Diluente per campioni Aptima. I campioni biologici con volume di almeno 240 µL possono essere diluiti con due parti di diluente per campioni (1:3), come di seguito descritto:

- i. Trasferire 240 µL di campione biologico nella SAT.
- ii. Aggiungere 480 µL di diluente per campioni Aptima.
- iii. Tappare la provetta.
- iv. Capovolgerla delicatamente 5 volte per miscelarla.

I campioni biologici diluiti secondo la concentrazione 1:3 possono essere analizzati utilizzando l'opzione 1:3 nel sistema Panther (per ulteriori informazioni consultare il Manuale per l'operatore del sistema Panther o del sistema Panther Fusion (*Panther/Panther Fusion System Operator's Manual*)). Il software riporterà automaticamente il risultato per il campione non diluito applicando il fattore di diluizione. Questi campioni biologici saranno segnalati come campioni diluiti.

- b. Diluizione di campioni biologici con alto titolo

Se il risultato dell'analisi di un campione biologico è al di sopra del limite superiore di quantificazione (ULoQ), il campione può essere diluito con 99 parti di diluente per campioni Aptima (1:100) nei termini seguenti:

- i. Trasferire 30 µL di campione nella SAT o in una provetta secondaria.
- ii. Aggiungere 2.970 µL di diluente per campioni Aptima.
- iii. Tappare la provetta.
- iv. Capovolgerla delicatamente 5 volte per miscelarla.

I campioni biologici diluiti secondo la concentrazione 1:100 possono essere analizzati utilizzando l'opzione 1:100 nel sistema Panther (per ulteriori informazioni consultare il *Panther/Panther Fusion System Operator's Manual*, Manuale per l'operatore del sistema Panther o del sistema Panther Fusion). Il software riporterà automaticamente il risultato per il campione non diluito applicando il fattore di diluizione. Questi campioni biologici saranno segnalati come campioni diluiti.

Nota: *Per i campioni diluiti con concentrazioni nette di campioni non diluiti superiori all'ULoQ, i risultati sono riportati utilizzando la notazione scientifica.*

6. Immediatamente prima del caricamento dei campioni biologici in una rastrelliera dei campioni, centrifugare ogni campione biologico a 1.000 e 3.000 g per 10 minuti. Non togliere i tappi. La presenza di bolle nella provetta può pregiudicare il rilevamento del livello di liquido nel sistema Panther. Per informazioni su come caricare la rastrelliera e togliere i tappi, vedere *Preparazione del sistema*, passaggio F.2 indicato di seguito.

F. Preparazione del sistema

1. Impostare il sistema in base alle istruzioni fornite nel Manuale per l'operatore del sistema Panther o del sistema Panther Fusion (*Panther/Panther Fusion System Operator's Manual*) e nelle *Note procedurali*. Assicurarsi di utilizzare rastrelliere reagenti e adattatori TCR di dimensioni appropriate.
2. Caricare i campioni nella rastrelliera dei campioni. Eseguire i seguenti passaggi per ciascuna provetta del campione (campione biologico e, quando necessario, calibratore e controlli):
 - a. Allentare il tappo di una delle provette del campione, senza però rimuoverlo.
Nota: Prestare particolare attenzione a evitare la contaminazione provocata dalla diffusione degli aerosol. Allentare delicatamente i tappi dei campioni.
 - b. Caricare la provetta del campione nella rastrelliera dei campioni.
 - c. Ripetere i passaggi 2.a e 2.b per ciascun campione rimanente.
 - d. Dopo il caricamento dei campioni nella rastrelliera dei campioni, rimuovere e gettare tutti i tappi delle provette del campione di una rastrelliera dei campioni. Per evitare la contaminazione, non far passare i tappi sopra le altre rastrelliere dei campioni o sopra le provette del campione.
 - e. Se necessario, utilizzare una pipetta di trasferimento monouso nuova per rimuovere eventuali bolle o schiuma.
 - f. Dopo aver rimosso l'ultimo tappo, caricare la rastrelliera campioni nell'apposito alloggiamento.
Nota: Se contemporaneamente si eseguono altri test e si analizzano altri tipi di campioni, fissare il fermo campioni prima di caricare la rastrelliera campioni nell'apposito alloggiamento.
 - g. Ripetere i passaggi da 2.a a 2.f per la successiva rastrelliera campioni.

Note procedurali

A. Calibratore e controlli

1. Le provette del calibratore positivo qHBV, del controllo positivo basso qHBV, del controllo positivo alto qHBV e del controllo negativo qHBV possono essere caricate in una posizione qualsiasi nella rastrelliera campioni e in una corsia qualsiasi dell'apposito alloggiamento del sistema Panther. Il pipettaggio dei campioni inizierà quando viene soddisfatta una delle due seguenti condizioni:
 - a. Il calibratore e i controlli sono in fase di trattamento nel sistema.
 - b. I risultati validi del calibratore e dei controlli sono stati registrati nel sistema.
2. Quando le provette del calibratore e di controllo sono state pipettate e sono in fase di trattamento per il kit reagenti per il test Aptima HBV Quant Assay, i campioni biologici possono essere analizzati con il kit ricostituito associato per un massimo di 24 ore **a meno che:**
 - a. I risultati del calibratore o del controllo non siano validi.
 - b. Il kit di reagenti del test associato sia rimosso dal sistema.
 - c. Il kit di reagenti del test associato abbia superato i limiti di stabilità.
3. Ciascuna provetta del calibratore e di controllo può essere utilizzata solo una volta. Se si cerca di utilizzare la provetta più di una volta, è possibile che si verifichi un errore di trattamento.

B. Talco per guanti

Come in tutti i sistemi di reagenti, una quantità eccessiva di talco in alcuni guanti può contaminare le provette aperte. Si consigliano guanti senza talco.

Controllo della qualità

Il risultato di una sessione analitica o di un campione può essere annullato da un operatore se durante l'esecuzione del test si riscontrano problemi tecnici o difficoltà riconducibili all'operatore o allo strumento e tali difficoltà vengono documentate. In questo caso, si deve ripetere l'esame dei campioni biologici.

Calibrazione del test

Per generare risultati validi è necessario completare la procedura di calibrazione del test. Un singolo calibratore positivo viene analizzato in triplicato tutte le volte che un kit reagenti viene caricato nel sistema Panther. Una volta stabilita, la calibrazione è valida per un periodo massimo di 24 ore. Il software del sistema Panther avvisa l'operatore quando è necessario eseguire la procedura di calibrazione. L'operatore esegue la scansione di un coefficiente di calibrazione riportato nella scheda del codice a barre del lotto master fornita con ciascun kit reagenti.

Durante il trattamento, i criteri per l'accettabilità del calibratore vengono verificati automaticamente dal software del sistema Panther. Se risultano non superano la verifica di validità almeno due replicati del calibratore, il software annulla automaticamente la sessione analitica. I campioni di una sessione analitica annullata devono essere sottoposti a una nuova verifica utilizzando calibratore e controlli preparati al momento.

Controlli positivi e negativi

Per generare risultati validi è necessario analizzare una serie di controlli del test. Un replicato di controllo negativo, il controllo positivo basso e il controllo positivo alto devono essere analizzati tutte le volte che un kit reagenti viene caricato nel sistema Panther. Una volta completati, i controlli sono validi per un periodo massimo di 24 ore. Il software del sistema Panther avvisa l'operatore quando sono necessari controlli del test.

Durante il trattamento, i criteri per l'accettabilità dei controlli del test vengono verificati automaticamente dal software del sistema Panther. Per superare le verifiche di validità, il controllo negativo deve dare un risultato di "Non rilevato" e i controlli positivi devono dare risultati entro i parametri predefiniti (target nominale LPC: $2,7 \log_{10}$ IU/mL, bersaglio nominale HPC: $4,6 \log_{10}$ IU/mL). Se uno qualunque dei controlli non supera le verifiche di validità, il software annulla automaticamente la sessione analitica. I campioni di una sessione analitica annullata devono essere sottoposti a una nuova verifica utilizzando calibratore e controlli preparati al momento.

Calibratore/Controllo interno

Ciascun campione contiene un calibratore/controllo interno (CI). Durante il trattamento, i criteri di accettabilità CI vengono verificati automaticamente dal software del sistema Panther. Se i campioni non soddisfano i criteri di accettabilità CI, il risultato del campione viene segnalato come non valido. Ogni campione con un risultato non valido deve essere rianalizzato e deve superare la verifica di accettabilità (CI).

Il software del Panther System è progettato per verificare in maniera accurata i processi quando le procedure vengono eseguite attenendosi alle istruzioni fornite nel presente foglietto illustrativo e nel Manuale per l'operatore del sistema Panther/Panther Fusion (*Panther/Panther Fusion System Operator's Manual*).

Interpretazione dei risultati

Il sistema Panther determina automaticamente la concentrazione del DNA dell'HBV nei campioni biologici e nei controlli mettendo a confronto i risultati con una curva di calibrazione. Le concentrazioni di DNA dell'HBV sono espresse in IU/mL e \log_{10} I. L'interpretazione dei risultati è riportata nella Tabella 1. Se si usa l'opzione di diluizione, il sistema Panther calcola automaticamente la concentrazione di DNA dell'HBV per il campione biologico non diluito moltiplicando la concentrazione diluita per il fattore di diluizione e i campioni diluiti vengono contrassegnati come tali.

Nota: Per i campioni biologici diluiti, i risultati riportati come "Non rilevato" o "<10 rilevato" possono essere generati diluendo un campione biologico con una concentrazione superiore, ma vicina al LoD (limite di rilevamento) o al LLoQ (limite inferiore di quantificazione). Se non si ottiene un risultato quantitativo, si consiglia di raccogliere e analizzare un altro campione biologico non diluito.

Tabella1: Interpretazione dei risultati

Risultati del test Aptima HBV Quant Assay riportati		Interpretazione
IU/mL	Valore \log_{10} IU/ml ^a	
Non rilevato	Non rilevato	DNA HBV non rilevato.
<10 rilevato	<1,00	Il DNA dell'HBV è stato rilevato, ma a un livello inferiore al limite inferiore di quantificazione (LLoQ).
da 10 a 1.000.000.000	Da 1,00 a 9,00	La concentrazione di DNA dell'HBV rientra nell'intervallo lineare compreso tra 10 e 1.000.000.000 IU/ml.
> 1.000.000.000	> 9,00	La concentrazione di DNA dell'HBV è superiore al limite superiore di quantificazione (ULoQ).
Non valido ^b	Non valido ^b	Si è verificato un errore nella generazione del risultato. Il campione biologico deve essere analizzato di nuovo.

^a Il valore viene troncato a due cifre decimali.

^b I risultati non validi vengono visualizzati in caratteri di colore blu.

Per i campioni diluiti con concentrazioni nette superiori al limite superiore di quantificazione (ULoQ), i risultati sono riportati utilizzando la notazione scientifica.

I criteri di accettabilità per ciascuno dei controlli del test Aptima HBV Quant Assay sono riportati nella Tabella 2 di seguito.

Nota: L'intervallo di recupero indicato di seguito varia in base al valore assegnato ai singoli lotti. Fare riferimento alla concentrazione assegnata riportata nell'inserito della Scheda dei codici a barre di controllo fornita con ciascuna confezione di controllo.

Tabella2: Criteri di accettabilità per l'intervallo di recupero per i controlli del test Aptima HBV Quant Assay

Componente	Intervallo di recupero per sessioni analitiche valide
Controllo negativo	n/d
Controllo positivo basso	+/- 0,55 \log_{10} IU/mL
Controllo positivo alto	+/- 0,5 \log_{10} IU/mL

Limiti

- A. L'uso di questo test deve essere riservato al personale formato sulla relativa procedura. La mancata osservanza delle istruzioni contenute in questo foglietto illustrativo può determinare risultati errati.
- B. L'affidabilità dei risultati è subordinata alla raccolta, al trasporto, alla conservazione e al trattamento adeguati del campione biologico.

Prestazioni analitiche

Limite di rilevamento utilizzando il terzo standard internazionale dell'OMS

Si definisce limite di rilevamento (LoD) del test la concentrazione di DNA di HBV rilevata con una probabilità del 95% o superiore in conformità alle linee guida CLSI EP17-A2.11

Il valore del LoD è stato determinato analizzando i pannelli del terzo standard internazionale dell'OMS per il DNA del virus dell'Epatite B (codice NIBSC 10/264, genotipo A) per l'HBV diluito in plasma EDTA e siero umano negativi all'HBV. Una quantità minima di 36 replicati di ciascuna diluizione è stata analizzata per ciascuno dei tre lotti di reagenti per un totale minimo di 108 replicati per diluizione. È stata eseguita l'analisi Probit per generare il 95% dei limiti di rilevamento previsti. I valori del LoD corrispondono ai risultati del lotto di reagente con il limite di rilevamento previsto più alto. Il valore del LoD relativo al test Aptima HBV Quant Assay utilizzando il terzo standard internazionale dell'OMS è pari a 4,8 IU/ml per il plasma e 5,9 IU/ml per il siero.

Limite di rilevamento nei genotipi dell'HBV

Il valore del LoD è stato determinato analizzando i campioni clinici positivi all'HBV diluiti per i genotipi A, B, C, D, E, F, G e H nel plasma e nel siero umano negativi all'HBV. Le concentrazioni sono state determinate utilizzando un test approvato. Un minimo di 24 replicati per ogni elemento del pannello è stato analizzato con ciascuno dei due lotti di reagenti per un totale minimo di 48 replicati per ciascun elemento del pannello. È stata eseguita l'analisi Probit per generare il 95% dei limiti di rilevamento previsti. I valori del LoD riportati in Tabella 3 corrispondono ai risultati del lotto di reagente con il limite di rilevamento previsto più alto.

Tabella 3: Limite di rilevamento (95% del limite di rilevamento previsto) nei genotipi dell'HBV utilizzando campioni biologici clinici

Genotipo	Concentrazione (IU/mL)	
	Plasma	Siero
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

Intervallo lineare

L'intervallo lineare è stato determinato analizzando pannelli di verifica del genotipo A del virus HBV (da 0,78 log₁₀ IU/mL a 7,30 log₁₀ IU/mL) e DNA plasmidico (da 5,30 log₁₀ IU/mL a 9,18 log₁₀ IU/mL) diluito in plasma umano e siero negativi all'HBV in conformità alle linee guida CLSI EP06-A.12. Il test Aptima HBV Quant Assay ha dimostrato linearità nell'intervallo analizzato, con un limite di quantificazione superiore (ULoQ) pari a 9 log₁₀ IU/mL, come illustrato in Figura 6.

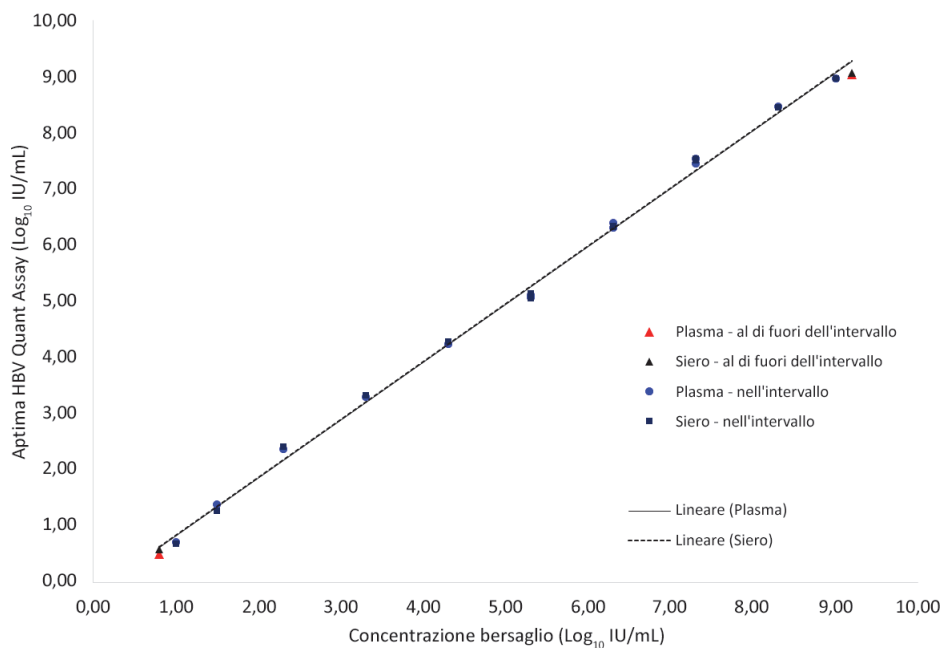


Figura 6. Linearità nel plasma e nel siero

Linearità nei genotipi dell'HBV

La linearità dei genotipi dell'HBV è stata determinata analizzando i singoli campioni clinici positivi per i genotipi A, E, F, G, e H, e i il primo pannello di riferimento dell'OMS delle linee guida PEI 1 (PEI 5086/08) per i genotipi B, C, e D. Il virus è stato utilizzato per l'intervallo inferiore del test ($4 \log_{10}$ IU/ml e inferiore per i genotipi A-G, $3 \log_{10}$ IU/ml nonché per il genotipo H). Il DNA plasmidico (pDNA) è stato utilizzato per l'intervallo superiore con una sovrapposizione pari a $2 \log_{10}$. Le diluizioni nel plasma umano negativo all'HBV sono state analizzate per tutti i genotipi. La linearità è stata dimostrata nell'intervallo analizzato per tutti i genotipi analizzati come riportato nella Figura 7.

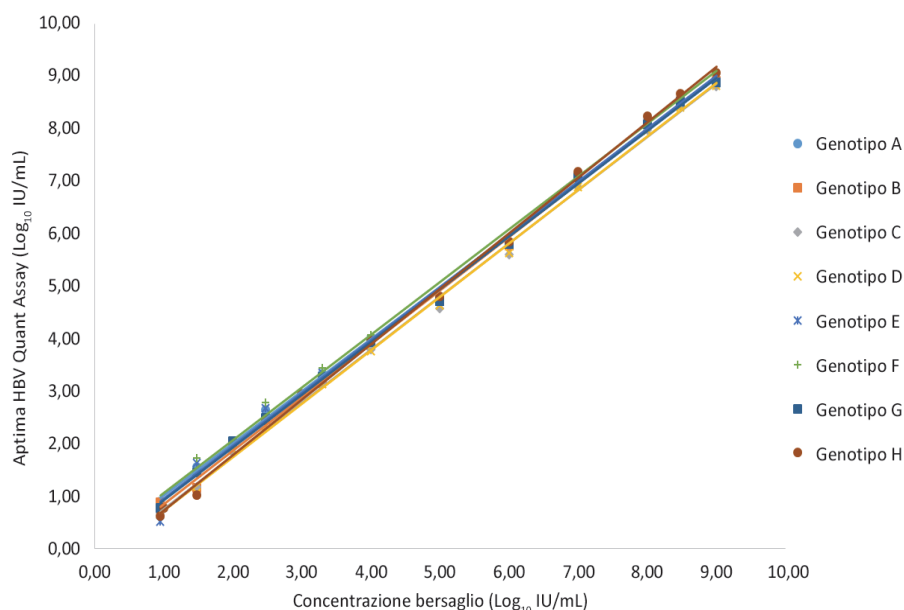


Figura 7. Intervallo lineare e linearità (plasma)

Limite inferiore di quantificazione utilizzando il terzo standard internazionale dell'OMS

Si definisce limite inferiore di quantificazione (LLOQ) la concentrazione più bassa alla quale il DNA dell'HBV viene quantificato in modo affidabile nei limiti di un errore totale, secondo le linee guida CLSI EP17-A2.¹¹ L'errore totale è stato stimato utilizzando i due metodi seguenti:

Errore totale analitico (TAE) = $|\text{bias}| + 2 \text{ DS}$ ed Errore totale (TE) = $\text{SQRT}(2) \times 2 \text{ DS}$.

Per garantire la precisione e l'accuratezza delle misurazioni, l'errore totale del test Aptima HBV Quant Assay è stato impostato a $1 \log_{10}$ IU/ml (cioè, la differenza tra due misurazioni superiore a $1 \log_{10}$ in corrispondenza di LLOQ ha significatività statistica).

Il valore LLOQ è stato determinato analizzando i pannelli che consistevano in diluizioni in conformità al terzo standard internazionale dell'OMS (codice NIBSC 10/264, genotipo A) per il DNA del virus dell'Epatite B (HBV) in plasma e siero umano negativi all'HBV. Sono stati analizzati quarantacinque (45) replicati di ciascuna diluizione con ciascuno dei tre lotti di reagente per un minimo di 135 replicati per diluizione. In Tabella 4 vengono illustrati i risultati dei tre lotti di reagente per il plasma; in Tabella 5 vengono illustrati i risultati dei tre lotti di reagente per il siero. I risultati per la concentrazione minima osservata che hanno soddisfatto l'obiettivo di accuratezza ($\text{TE} \leq 1 \log_{10}$ IU/mL e $\text{TAE} \leq 1 \log_{10}$ IU/mL) con una probabilità di rilevamento $> 95\%$ e superiore o uguale a LoD presentano uno sfondo grigio in entrambe le tabelle e sono riportati in Tabella 6.

I valori del LLoQ determinati analizzando i pannelli del terzo standard internazionale dell'OMS per il virus dell'Epatite B è pari a 6 IU/mL (0,79 log₁₀IU/ml) per il plasma e 8 IU/mL (0,88 log₁₀IU/ml) per il siero sono basati sulla concentrazione più elevata calcolata tra i tre lotti di reagente in conformità alle linee guida CLSI EP17-A2. Il LLoQ è stato determinato nei genotipi (si veda *Limite inferiore di quantificazione nei genotipi dell'HBV*). Questi dati sul genotipo stabiliscono che il valore LLoQ totale per il test è pari a 10 IU/mL.

Tabella4: Determinazione di LLoQ utilizzando il terzo standard internazionale dell'OMS per l'HBV diluito nel plasma

Lotto di reagenti	Aptima HBV Quant (IU/mL)	Aptima HBV Quant (Log ₁₀ IU/mL)	DS (Log ₁₀ IU/mL)	Bias (Log ₁₀ IU/mL)	TE Calcolato (Log ₁₀ IU/mL)	TAE Calcolato (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

DS = deviazione standard

Gli elementi del pannello che hanno soddisfatto l'obiettivo di accuratezza (TE ≤1 e TAE ≤1), >LoD e una probabilità di rilevamento >95% per i lotti di reagente 1, 2 e 3 sono evidenziati con sfondo grigio.

Tabella5: Determinazione di LLoQ utilizzando il terzo standard internazionale dell'OMS per l'HBV diluito nel siero

Lotto di reagenti	Aptima HBV Quant (IU/mL)	Aptima HBV Quant (Log ₁₀ IU/mL)	DS (Log ₁₀ IU/mL)	Bias (Log ₁₀ IU/mL)	TE Calcolato (Log ₁₀ IU/mL)	TAE Calcolato (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

DS = deviazione standard

Gli elementi del pannello che hanno raggiunto l'obiettivo di accuratezza (TE ≤1 e TAE ≤1), >LoD e una probabilità di rilevamento >95% per i lotti di reagente 1, 2 e 3 sono evidenziati con sfondo grigio.

Tabella6: Riepilogo del LLoQ calcolato utilizzando il terzo standard internazionale dell'OMS per l'HBV

Lotto di reagenti	LLoQ plasma		LLoQ siero	
	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

Limite inferiore di quantificazione nei genotipi dell'HBV

Il valore del LLoQ è stato determinato analizzando le diluizioni dei campioni clinici positivi all'HBV per i genotipi A, B, C, D, E, F, G e H nel plasma e nel siero umano negativi all'HBV.

L'assegnazione della concentrazione dei campioni biologici clinici è stata determinata utilizzando un test di confronto. Sono stati analizzati 36 replicati totali di ogni elemento del pannello con ciascuno dei due lotti di reagente per un minimo di 72 replicati per ciascun elemento del pannello. I risultati relativi alla concentrazione inferiore osservata raggiungono il grado di accuratezza ($TE \leq 1 \log_{10} \text{ IU/mL}$ and $TAE \leq 1 \log_{10} \text{ IU/mL}$), con una probabilità del 95% per ogni lotto di reagente, come illustrato in Tabella 7 per il plasma e in Tabella 8 per il siero. La concentrazione massima osservata nei lotti di reagente per ogni genotipo è riepilogata in Tabella 9. Il genotipo D nel siero ha evidenziato il livello più elevato di LLoQ a 9 IU/mL ($0,96 \log_{10} \text{ IU/mL}$). Tale rilevazione ha supportato la determinazione di un valore totale del LLoQ per il test pari a 10 IU/mL.

Tabella 7: Determinazione di LLoQ nei genotipi dell'HBV nel plasma

Genotipo HBV	Lotto di reagenti	Aptima HBV Quant ^a (IU/mL)	Aptima HBV Quant ^a (Log ₁₀ IU/mL)	DS (Log ₁₀ IU/mL)	Bias (Log ₁₀ IU/mL)	TE Calcolato (Log ₁₀ IU/mL)	TAE Calcolato (Log ₁₀ IU/mL)
A	1	6	0,74	0,24	0,10	0,67	0,58
	2	7	0,85	0,20	0,00	0,57	0,40
B	1	4	0,65	0,24	0,20	0,67	0,67
	2	6	0,75	0,25	0,10	0,70	0,59
C	1	4	0,61	0,21	0,35	0,60	0,77
	2	6	0,75	0,30	0,20	0,84	0,80
D	1	7	0,87	0,28	0,31	0,81	0,88
	2	8	0,91	0,30	0,26	0,86	0,87
E	1	8	0,88	0,32	0,29	0,89	0,92
	2	7	0,82	0,21	0,36	0,60	0,78
F	1	6	0,76	0,27	0,08	0,76	0,62
	2	7	0,86	0,30	0,01	0,84	0,60
G	1	4	0,59	0,21	0,25	0,60	0,68
	2	4	0,65	0,23	0,19	0,64	0,64
H	1	6	0,78	0,28	0,39	0,80	0,96
	2	7	0,83	0,27	0,34	0,78	0,89

DS = deviazione standard

^a Sono state eseguite ulteriori sessioni, tuttavia, i relativi dati non sono riportati nella tabella.

Tabella8: Determinazione di LLoQ nei genotipi dell'HBV nel siero

Genotipo HBV	Lotto di reagenti	Aptima HBV Quant ^a (IU/mL)	Aptima HBV Quant ^a (Log ₁₀ IU/mL)	DS (Log ₁₀ IU/mL)	Bias (Log ₁₀ IU/mL)	TE Calcolato (Log ₁₀ IU/mL)	TAE Calcolato (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

DS = deviazione standard

^a Sono state eseguite ulteriori sessioni, tuttavia, i relativi dati non sono riportati nella tabella.

Tabella9: Riepilogo del LLoQ nei genotipi nel plasma e nel siero

Genotipo	LLoQ plasma		LLoQ siero	
	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

Riconducibilità al terzo standard internazionale dell'OMS

Durante lo sviluppo e la produzione del prodotto è stata impiegata una serie di standard secondari con concentrazioni note con l'obiettivo di stabilire la riconducibilità allo standard OMS. Le concentrazioni testate per gli standard dell'OMS per l'HBV erano comprese tra 2,0 e 4,0 log₁₀ IU/mL, gli standard secondari indicano concentrazioni che oscillano tra 2,4 e 8,4 log₁₀ IU/mL. Unitamente agli standard secondari e allo standard OMS, sono stati inoltre analizzati i controlli e i calibratori utilizzati nel test Aptima HBV Quant Assay. Tutti i pannelli hanno prodotto risultati simili e sono stati distribuiti in modo lineare nell'intervallo lineare dell'analisi, come riportato in Figura 8.

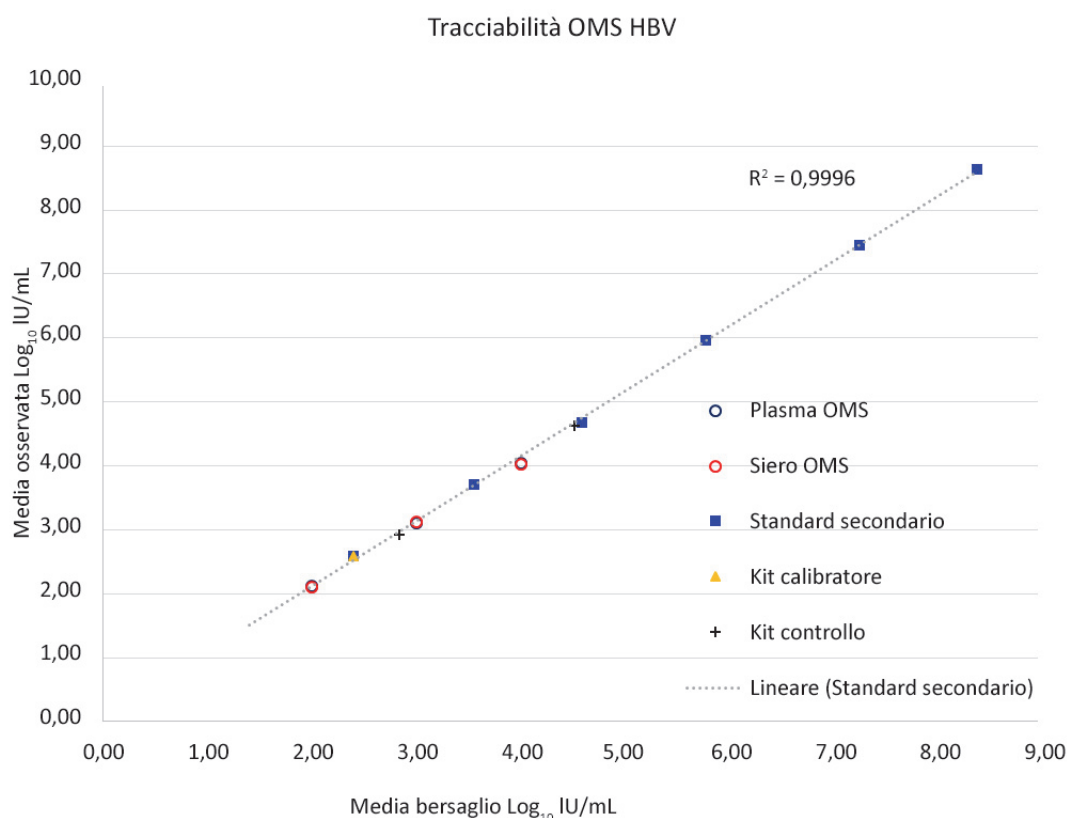


Figura 8. Riconducibilità tra le concentrazioni del bersaglio del terzo standard dell'OMS per l'HBV e le concentrazioni riportate del test Aptima HBV Quant Assay

Precisione

Il pannello di precisione del test Aptima HBV Quant è stato elaborato diluendo il virus del genotipo A dell'HBV e il DNA plasmidico (pDNA) dell'HBV nel plasma e nel siero clinici negativi all'HBV (gli elementi più del pannello superiori per ciascuna matrice erano di DNA plasmidico). 11 elementi del pannello per ciascuna matrice hanno coperto l'intervallo del test (concentrazioni del bersaglio comprese tra 1,30 log₁₀ IU/mL e 8,90 log₁₀ IU/mL) e sono stati analizzati in tre replicati per sessione analitica da parte di un operatore, utilizzando tre lotti di reagente in un sistema Panther nell'arco di tre giorni, per due sessioni al giorno.

Tabella 10 indica la precisione dei risultati del test (in log₁₀ IU/mL) in base a giorni, lotti, sessioni e complessivi. La variabilità totale è dovuta principalmente alla misurazione all'interno della sessione analitica (ovvero errore casuale).

Tabella 10: Precisione del test Aptima HBV Quant Assay

Matrice	Campione	N	Media concentrazione	Media concentrazione	Tra lotti	Tra lotti	Tra un giorno e l'altro	Tra un giorno e l'altro	Tra sessioni analitiche	Tra sessioni analitiche	Nella sessione analitica	Nella sessione analitica	Totale	Totale
			(IU/mL)	(log ₁₀ IU/mL)	DS	CV log-normale (%)	DS	CV log-normale (%)	DS	CV log-normale (%)	DS	CV log-normale (%)	DS	CV log-normale (%)
Plasma	Virus	34 ^a	32	1,21	0,07	16,2	0,07	16,2	0,05	11,7	0,28	71,8	0,28	78,2
		54	97	1,95	0,05	11,7	0,03	6,8	0,02	5,7	0,15	36,8	0,17	39,9
		54	1.474	3,16	0	1,0	0,02	3,8	0,02	4,8	0,07	15,6	0,07	16,8
		54	10.602	4,02	0,02	4,8	0,02	3,6	0,01	2,4	0,06	14,9	0,07	16,2
		54	429.428	5,63	0,03	6,7	0,01	2,7	0,01	2,4	0,06	14,1	0,07	16,1
	DNA plasmidico (pDNA)	54	652.103	5,8	0,06	14,2	0,01	3,4	0,01	2,0	0,06	13,1	0,09	19,8
	Virus	54	7.617.612	6,88	0,02	5,6	0,00	0,4	0,02	4,2	0,06	13,4	0,07	15,1
	DNA plasmidico (pDNA)	54	10.662.942	7,02	0,02	5,3	0,01	2,3	0,01	2,6	0,06	13,1	0,06	14,5
	Virus	54	89.149.358	7,95	0,01	3,4	0,01	2,7	0,01	1,6	0,04	9,7	0,05	10,8
	DNA plasmidico (pDNA)	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
Siero	Virus	29 ^a	33	1,27	0,13	31,0	0,08	18,6	0,06	13,9	0,29	75,0	0,33	88,4
		54	88	1,92	0,05	11,2	0,02	4,8	0,02	5,5	0,12	29,1	0,14	32,3
		54	1.446	3,15	0,02	3,7	0,01	1,9	0,00	1,1	0,08	17,8	0,08	18,3
		54	7.873	3,89	0,02	4,8	0,01	2,6	0,01	2,1	0,06	13,4	0,06	14,6
		54	313.518	5,49	0,01	3,3	0,01	3,0	0,01	3,2	0,08	17,4	0,08	18,3
	DNA plasmidico (pDNA)	54	599.225	5,77	0,04	8,5	0,01	2,5	0,01	2,5	0,06	14,7	0,08	17,4
	Virus	54	7.011.440	6,84	0,02	3,5	0,01	3,2	0,01	3,3	0,07	16,9	0,08	17,9
	DNA plasmidico (pDNA)	54	8.845.332	6,94	0,05	11,9	0,01	2,2	0,01	2,2	0,05	12,2	0,07	17,4
	Virus	54	70.350.774	7,84	0,03	6,3	0,02	3,5	0,02	4,4	0,06	14,4	0,07	16,7
	DNA plasmidico (pDNA)	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

DS = deviazione standard

^aReplicati rilevati con risultati quantificabili, replicati rilevati totali = 54.^bUn replicato ha riportato un risultato non valido.
$$(\%) \text{ CV log-normale} = \sqrt{10^{(DS^2 * \ln(10))} - 1} * 100$$

Sostanze potenzialmente interferenti

È stata valutata la suscettibilità del test Aptima HBV Quant Assay all'interferenza di livelli elevati di sostanze endogene e farmaci comunemente prescritti ai soggetti con infezione da HBV. Sono stati analizzati campioni di plasma negativo all'HBV e campioni arricchiti con HBV in concentrazioni pari all'incirca a 30 IU/mL ($1,48 \log_{10}$ IU/mL) e 20.000 IU/mL ($4,30 \log_{10}$ IU/mL).

Nessuna interferenza a livello di accuratezza della quantificazione è stata osservata nei campioni in presenza di albumina (90 mg/mL), emoglobina (5 mg/mL), trigliceridi (30 mg/mL) o bilirubina non coniugata (0,2 mg/mL).

Sono stati analizzati con il test Aptima HBV Quant Assay campioni di plasma clinici di pazienti con livelli elevati di sostanze definite o di pazienti affetti dalle patologie, dieci campioni per ciascuna sostanza, come riportato in Tabella 11. Nessuna interferenza nei risultati del test è stata osservata.

Tabella 11: Tipi di campioni clinici testati

Tipi di campioni clinici	
1	Anticorpo antinucleare (ANA)
2	Fattore reumatoide (RF)
3	Cirrosi alcolica (AC)
4	Epatite alcolica
5	Epatite non alcolica
6	Epatite autoimmune
7	Alanina aminotransferasi (ALT) elevata
8	Carcinoma epatocellulare (HCC)
9	Sclerosi multipla (MS)
10	Lupus eritematoso sistemico (SLE)
11	Iperglobulinemia
12	Artrite reumatoide (RA)
13	Anticorpo anti-Jo-1 (JO-1)
14	Mieloma multiplo (MM)
15	Emolizzato (emoglobina elevata)
16	Itterico (bilirubina elevata)
17	Lipemico (lipidi elevati)
18	Proteina elevata

Non è stata osservata alcuna interferenza nei risultati del test in presenza delle sostanze esogene elencate riportate in Tabella 12 con concentrazioni almeno tre volte superiori a C_{\max} (plasma umano).

Tabella 12: Sostanze esogene

Insieme di sostanze esogene	Sostanze esogene analizzate
1	Saquinavir, ritonavir, amprenavir, indinavir, lopinavir, nelfinavir mesilato
2	Claritromicina, valganciclovir cloridrato, efavirenz, nevirapina
3	Paroxetina HCl, enfuvirtide, zidovudina, didanosina, abacavir solfato
4	Ribavirin, entecavir, adefovir dipivoxil, tenofovir disoproxil fumarato, lamivudina, ganciclovir, acyclovir
5	Stavudina, ciprofloxacina, fluoxetina, azitromicina, valacyclovir, sertralina, zalcitabina
6	Interferone alfa-2a, interferone alfa-2b, interferone alfa-2b pegilato

Specificità analitica

La potenziale reattività crociata con i patogeni elencati in Tabella 13 è stata valutata in presenza o in assenza di 30 IU/mL ($1,5 \log_{10}$ IU/mL) e 20.000 ($4,3 \log_{10}$ IU/mL) DNA dell'HBV nel plasma umano negativo all'HBV. Non è stata osservata alcuna reattività crociata. Non è stata osservata alcuna interferenza in presenza dei patogeni.

Tabella 13: Patogeni analizzati per la specificità analitica

Microrganismo/Patogeno	Concentrazione		Microrganismo/Patogeno	Concentrazione	
Adenovirus 5	100.000	TCID50/mL ^a	<i>Candida albicans</i>	1.000.000	CFU/ml ^e
Poliomavirus umano BK	1.000	TCID50/mL	<i>Chlamydia trachomatis</i>	1.000.000	IFU/ml ^f
Cytomegalovirus	100.000	TCID50/mL	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	1.000.000	CFU/mL
Virus Dengue 1	10.000	TCID50/mL	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1.000.000	CFU/mL
Virus Dengue 2	10.000	TCID50/mL	<i>Propionibacterium acnes</i>	1.000.000	CFU/mL
Virus Dengue 3	10.000	TCID50/mL	<i>Staphylococcus aureus</i>	1.000.000	CFU/mL
Virus Dengue 4	100.000	TCID50/mL	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1.000.000	CFU/mL
Virus di Epstein-Barr	100.000	copie/mL	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1.000.000	CFU/mL
Influenza H1N1	100.000	TCID50/mL	<i>Trichomonas vaginalis</i>	1.000.000	CFU/mL
Virus dell'Epatite A	100.000	TCID50/mL	^a TCID50/mL = Unità di dose infettiva delle colture tissutali per mL		
Virus dell'Epatite C	100.000	UI/mL ^b	^b IU/mL = Unità internazionali per mL		
Virus dell'Epatite G	100.000	copie/mL	^c vp/mL = Copie virali per mL		
Virus dell'herpes umano 6B	100.000	copie/mL	^d LD50/mL = Dose letale per mL		
Virus dell'herpes umano 8	100.000	copie/mL	^e CFU/mL = Unità formanti colonie per mL		
HIV-1	100.000	IU/mL	^f IFU/mL = Unità formanti inclusioni per mL		
HIV-2	10.000	TCID50/mL			
Papillomavirus umano	100.000	copie/mL			
Virus dell'Herpes simplex 1 (HSV-1)	100.000	TCID50/mL			
Virus dell'Herpes simplex 2 (HSV-2)	100.000	TCID50/mL			
Virus umano linfotropo delle cellule T di tipo 1 (HTLV-1)	100.000	vp/ml ^c			
Virus umano linfotropo delle cellule T di tipo 2 (HTLV-2)	100.000	vp/ml			
Virus dell'encefalite giapponese	N/D	N/D			
Virus dell'encefalite della Murray Valley (MVEV)	2.000	LD50/mL ^d			
Parvovirus B19	100.000	IU/mL			
Rubivirus	10.000	TCID50/mL			
Virus dell'encefalite di St. Louis (SLEV)	100.000	TCID50/mL			
Virus Vaccinia	1.000	TCID50/mL			
Virus West Nile	100.000	TCID50/mL			
Virus della febbre gialla	100.000	TCID50/mL			

Equivalenza di matrice

Sono stati valutati 118 serie di campioni di provette per la raccolta del sangue abbinate (provetta con siero, ACD, K2 EDTA, K3 EDTA, PPT, SST) allo scopo di determinare l'equivalenza di matrice. Di questi, 44 serie positive all'HBV erano infettati naturalmente, e 74 negative all'HBV sono state arricchite con il virus dell'HBV. La correlazione per ciascun tipo di provetta per la raccolta del sangue, misurata mediante l'utilizzo della provetta di raccolta con siero come elemento di confronto, è indicata in Tabella 14.

Tabella 14: Studio dell'equivalenza tra matrici

Raccolta di sangue Provetta	Modello di regressione di Deming	Intervallo di confidenza (IC) al 95% - Pendenza		Intervallo di confidenza (IC) al 95% - Intercetta		R ²	Differenza media (Log ₁₀)
		Inferiore Limite	Superiore Limite	Inferiore Limite	Superiore Limite		
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

IC = Intervallo di confidenza.

Diluizione dei campioni con diluente per campioni Aptima (1:3)

Per valutare l'accuratezza di rilevamento del DNA dell'HBV nei campioni diluiti con diluente per campioni Aptima, i campioni che coprivano l'intervallo lineare sono stati diluiti con il diluente per campioni Aptima con un fattore 1:3 (ovvero, 240 µl di campione sono stati combinati con 480 µl di diluente per campioni Aptima). Ogni campione è stato analizzato non diluito e diluito (1:3) in triplicato. Le analisi sono state effettuate utilizzando 1 lotto di reagenti del test con 2 sistemi Panther e 2 lotti di diluente per campioni Aptima. Le differenze tra la concentrazione media riportata nella matrice nativa (fattore di diluizione applicato al risultato del campione diluito) e la concentrazione media nel diluente per campioni Aptima sono riportate in Tabella 15 per il plasma e in Tabella 16 per il siero. Le concentrazioni dei campioni sono state accuratamente recuperate nei campioni diluiti.

Tabella15: Riepilogo del confronto relativo alla matrice tra diluizione 1:3 e campioni di plasma

Matrice del plasma Concentrazione media rilevata (Log ₁₀ IU/mL) n = 9	Diluyente Concentrazione media rilevata (Log ₁₀ IU/mL) n = 18	Differenza Matrice diluyente-plasma (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.

Tabella16: Riepilogo del confronto relativo alla matrice di diluizione 1:3 e ai campioni di siero

Matrice del siero Concentrazione media rilevata (Log ₁₀ IU/mL) n = 9	Diluyente Concentrazione media rilevata (Log ₁₀ IU/mL) n = 18	Differenza Matrice diluyente-siero (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.

Diluizione del campione con diluyente per campioni Aptima (1:100)

Per valutare l'accuratezza di rilevamento del DNA dell'HBV in campioni diluiti con il diluyente per campioni Aptima, per plasma o siero, sono stati analizzati in 5 replicati 8 campioni di plasma e 8 campioni di siero arricchiti con il virus dell'HBV con probabilità all'interno di un intervallo compreso tra 6 e 8 log₁₀ IU/mL, contestualmente a 8 campioni di plasma e 8 campioni di siero arricchiti con DNA plasmidico dell'HBV con probabilità pari circa a 9,16 log₁₀ IU/mL. È stata eseguita una diluizione con un fattore di 1:100, con 1 parte di campione e 99 parti di diluyente per campioni Aptima immediatamente prima dell'analisi. Le analisi sono state effettuate utilizzando 1 lotto di reagenti del test in 2 sistemi Panther e utilizzando 2 lotti di diluyente per campioni Aptima. La differenza tra la concentrazione media riportata nella matrice nativa (fattore di diluizione applicato al risultato del campione diluito) e la concentrazione media nel diluyente per campioni Aptima è stata calcolata per ogni serie di campioni come illustrato in Tabella 17 per il plasma e in Tabella 18 per il siero.

Tabella17: Riepilogo del confronto relativo alla matrice di diluizione 1:100 e campioni di plasma

Matrice del plasma Concentrazione media rilevata (Log ₁₀ IU/mL) n = 5	Diluyente Concentrazione media rilevata (Log ₁₀ IU/mL) n = 10	Differenza Matrice diluyente-plasma (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
9,21a	9,05a	-0,16
9,25a	9,03a	-0,22
9,27a	9,04a	-0,23
9,13a	8,82a	-0,31
9,12a	8,81a	-0,31
9,09a	8,84a	-0,25
9,05a	8,84a	-0,21

^aArricchita con DNA plasmidico (pDNA).

Tabella18: Riepilogo del confronto relativo alla matrice di diluizione 1:100 e campioni di siero

Matrice del siero Concentrazione media rilevata (Log ₁₀ IU/mL) n = 5	Diluyente Concentrazione media rilevata (Log ₁₀ IU/mL) n = 10	Differenza Matrice diluyente-siero (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

^aArricchita con DNA plasmidico (pDNA).

Conferma del LLoQ nei campioni diluiti nel diluente per campioni Aptima

Il LLoQ del test Aptima HBV Quant Assay è stato confermato con i campioni clinici del genotipo A dell'HBV diluiti nel diluente per campioni Aptima. I campioni sono stati preparati in plasma e siero umani negativi all'HBV con concentrazione rispettivamente di 21, 30 e 45 IU/mL. Ciascun pannello è stato diluito con un rapporto di 1:3 nel diluente per campioni Aptima immediatamente prima dell'analisi, generando concentrazioni finali pari a 7, 10 e 15 IU/mL circa. In totale, sono stati analizzati 36 replicati per ciascun elemento del pannello con un lotto di reagente per 3 giorni. È stato confermato un LLoQ ≤ 10 IU/mL per il plasma e il siero negativi all'HBV diluiti nel diluente per campioni Aptima, come illustrato in Tabella 19.

Tabella 19: Conferma del LLoQ - Campioni con diluente per campioni Aptima

Matrice	% rilevata	Aptima HBV Quant (IU/mL)	Aptima HBV Quant (Log ₁₀ IU/mL)	DS (Log ₁₀ IU/mL)	Bias (Log ₁₀ IU/mL)	TE Calcolato (Log ₁₀ IU/mL)	TAE Calcolato (Log ₁₀ IU/mL)
Plasma	100%	3	0,50	0,19	0,10	0,54	0,48
Siero	100%	2	0,38	0,12	0,46	0,33	0,70

Precisione dei campioni diluiti

Il pannello di precisione del test Aptima HBV Quant è stato elaborato diluendo plasma positivo all'HBV e DNA plasmidico (pDNA) dell'HBV nel plasma e nel siero clinici negativi all'HBV. I pannelli positivi sono stati diluiti nel diluente per campioni Aptima. I pannelli sono stati analizzati in 5 replicati per sessione analitica da parte di un operatore, utilizzando 3 lotti di diluente per campioni Aptima con un sistema Panther nel corso di 3 giorni di analisi, con due sessioni di analisi al giorno.

Tabella 20 indica la precisione dei risultati del test (in DS log₁₀ IU/mL) per 3 lotti di diluente per campioni Aptima. La variabilità totale rilevata corrispondeva a DS $\leq 0,15$ per tutti gli elementi dei pannelli e i lotti del diluente.

Tabella 20: Precisione dei pannelli diluiti con diluente per campioni Aptima

Matrice	Concentrazione bersaglio (Log ₁₀ IU/mL)	Diluizione	Lotto 1 - Diluente per campioni (n=10)		Lotto 2 - Diluente per campioni (n=10)		Lotto 3 - Diluente per campioni (n=10)		Lotti complessivi (n=30)	
			Media Log ₁₀ IU/mL	DS	Media Log ₁₀ IU/mL	DS	Media Log ₁₀ IU/mL	DS	Media Log ₁₀ IU/mL	DS
Plasma	3,30	Non diluito	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	Non diluito	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	Non diluito	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
Siero	3,30	Non diluito	3,52	0,05	3,48	0,06	3,50	0,07	3,50	0,06
		1:3	3,45	0,08	3,40	0,06	3,39	0,08	3,41	0,07
	4,30	Non diluito	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	Non diluito	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

DS = deviazione standard.

^a1 replicato escluso (al di sopra dell'intervallo calcolabile).

^b2 replicati esclusi (al di sopra dell'intervallo calcolabile).

Contaminazione crociata

Per verificare la capacità del sistema Panther di ridurre al minimo il rischio di risultati falsi positivi causati da contaminazione crociata, è stato condotto uno studio utilizzando pannelli arricchiti in 3 sistemi Panther. La contaminazione crociata è stata valutata utilizzando campioni di plasma arricchiti con DNA dell'HBV ad alto titolo ($8 \log_{10}$ IU/mL) intervallati tra campioni negativi all'HBV in una disposizione a scacchiera. L'analisi è stata condotta nel corso di 15 sessioni analitiche. Il tasso generale di contaminazione crociata rilevato è stato pari allo 0,14% (1/705).

Riproducibilità

La riproducibilità del sistema Panther è stata valutata in 3 centri di analisi USA indipendenti. I test sono stati condotti da 2 operatori in ciascun centro. Ogni operatore ha eseguito due sessioni analitiche al giorno nel corso di 3 giorni, utilizzando 2 lotti di reagente durante il test. Ciascuna sessione analitica è stata caratterizzata da 3 repliche per ciascun elemento del pannello. Sono stati analizzati complessivamente 108 replicati per ogni elemento del pannello.

La riproducibilità è stata analizzata usando gli elementi del pannello preparati mediante l'utilizzo di plasma negativo all'HBV. Gli elementi positivi del pannello risultavano positivi ai genotipi A o C dell'HBV. Le concentrazioni di DNA dell'HBV coprivano il range lineare del test.

Tabella 21 indica la riproducibilità e la precisione dei risultati del test per ciascun elemento positivo del pannello tra i diversi centri, suddivisi per operatori/giorni, lotti, sessioni analitiche, sessioni analitiche e complessivamente.

Il coefficiente di variazione è stato calcolato utilizzando la seguente equazione, dove σ^2 è la varianza dei campioni di dati dopo la trasformazione \log_{10} .

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

Per tutti gli elementi del pannello positivi all'HBV, è stata ottenuta una concordanza del 100%.

Tabella 21: Riproducibilità dei livelli di DNA dell'HBV del test Aptima HBV Quant Assay con il sistema Panther negli elementi positivi del pannello

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

% CV = Coefficiente di variazione log-normale, GT= genotipo, DS = deviazione standard.

Nota: la variabilità rispetto a fattori specifici potrebbe essere quantitativamente negativa. Tale eventualità può verificarsi se la variabilità dovuta a tali fattori è significativamente ridotta. In tali casi, i valori DS e CV sono uguali a 0.

^a Alla luce della possibilità di confondere la variabilità tra operatori con quella intergiornaliera, le stime tra operatori e intergiornaliere sono combinate in tra operatori/intergiornaliere.

Risultati clinici

Correlazione tra metodi

I risultati del test Aptima HBV Quant Assay sono stati valutati mediante un test di confronto autorizzato da Health Canada con marchio CE che ha analizzato i campioni clinici non diluiti di pazienti affetti da HBV. Per la regressione lineare è stato utilizzato un totale di 614 campioni clinici nell'ambito dell'intervallo lineare comune a entrambi i test, come illustrato nella Figura 9.

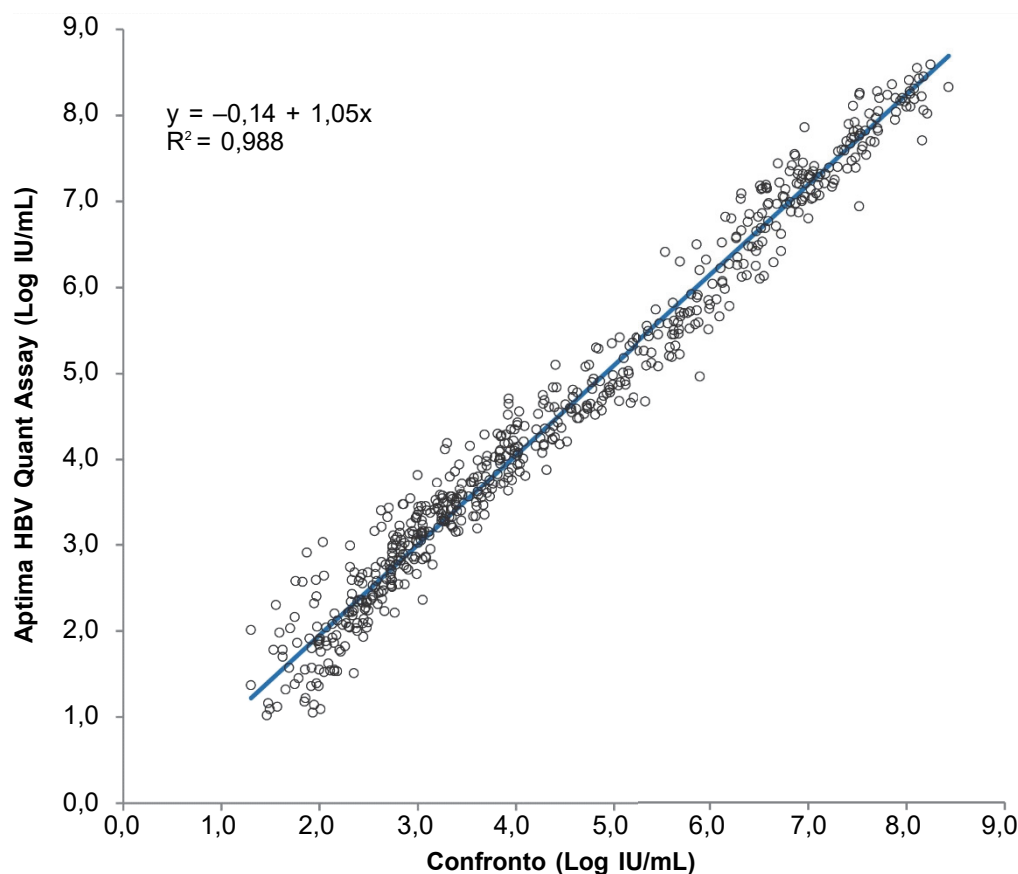


Figura 9. Correlazione tra test Aptima HBV Quant Assay e test di confronto

Utilità clinica

Lo studio è stato progettato per valutare la capacità del test Aptima HBV Quant Assay di prevedere gli endpoint di utilità clinica virologici, biochimici e sierologici 48 settimane dopo l'inizio della terapia. I campioni sono stati raccolti in modo prospettico da soggetti con infezione da HBV cronica che avevano intrapreso una monoterapia con entecavir o tenofovir come parte integrante dello standard terapeutico.

Dei 331 soggetti arruolati, 86 non erano valutabili per cause quali ritiro, interruzione, sospensione iniziale della terapia, mancanza dei risultati alla settimana 48 o cariche virali del DNA dell'HBV al basale basse o mancanti. I rimanenti 245 soggetti, di cui 126 HBeAg(+) e 119 HBeAg(-), sono stati valutati per almeno 1 degli endpoint di utilità clinica. In Tabella 22 sono riportate le caratteristiche cliniche e al basale dei soggetti valutabili. La distribuzione demografica di questi nel presente studio era coerente con quella dei pazienti colpiti da infezione da HBV cronica negli Stati Uniti.¹³ I dati relativi ai soggetti HBeAg(+) e HBeAg(-) sono stati analizzati separatamente.

Tabella 22: Caratteristiche cliniche demografiche e al basale dei soggetti valutabili

Caratteristiche		Totale
Totale, n	N	245
Entecavir	n (%)	94 (38,4)
Tenofovir	n (%)	151 (61,6)
Sesso, n (%)	Maschio	154 (62,9)
	Femmina	91 (37,1)
Età (anni)	Media \pm DS	43,5 \pm 13,63
	Mediana	44,0
	Intervallo	18 – 83
Categoria anagrafica (anni), n (%)	18 – 29	40 (16,3)
	30 – 49, n (%)	120 (49,0)
	50 – 70, n (%)	80 (32,7)
	>70, n (%)	5 (2,0)
Etnia, n (%)	Ispanica o latina	7 (2,9)
	Non ispanica o latina	236 (96,3)
	Ignota/non comunicata	2 (0,8)
Razza ^a , n (%)	Bianco	89 (36,3)
	Nero o afro-americano	16 (6,5)
	Asiatico	132 (53,9)
	Indiano d'America/originario dell'Alaska	0 (0,0)
	Nativo hawaiano/abitante delle isole del Pacifico	6 (2,4)
	Altro	1 (0,4)
	Ignota/non comunicata	1 (0,4)
Genotipo, 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)
	Ignoto	65 (26,5)
Stato del trattamento dell'HBV, n (%)	In terapia	27 (11,0)
	Naïve	218 (89,0)
Trattamento farmacologico precedente, n (%)	Tenofovir	5 (18,5)
	Entecavir	4 (14,8)
	Adefovir	2 (7,4)
	Lamivudina	1 (3,7)
	Telbivudina	0 (0,0)
	Interferone	10 (37,0)
	Altro ^b	5 (18,5)
Risultati del trattamento precedente, n (%)	Nulla	1 (3,7)
	Riuscito	0 (0,0)
	Trattamento interrotto per altri motivi	26 (96,3)
Stato sierologico HBsAg, n (%)	Positivo/reattivo	210 (85,7)
	Non effettuato	35 (14,3)

Tabella 22: Caratteristiche cliniche demografiche e al basale dei soggetti valutabili (continua)

Caratteristiche	Totale
Stato cirrotico, n (%)	Cirrotico
	26 (10,6)
	Non cirrotico
Carica virale HBV (log ₁₀ IU/mL)	201 (82,0)
	Non effettuato
	18 (7,3)
ALT (U/L)	Media ± DS
	6,3 ± 1,93
	Mediana
	6,4
	Intervallo
	3 – 9
	Media ± DS
	102,4 ± 175,97
	Valore sopra ULN ^c
	177 (85,9)

^a Soggetti che possono indicare più razze.

^b Combinazioni diverse dei farmaci specifici elencati.

^c Il limite superiore dell'intervallo normale (ULN) per l'alanina aminotransferasi (ALT) era di 30 U/L per gli individui di sesso maschile e 19 U/L per gli individui di sesso femminile.

Previsione della risposta alla terapia antivirale

L'utilità clinica del test Aptima HBV Quant Assay è stata valutata per gli individui trattati con tenofovir e entecavir. Non sono disponibili informazioni sull'utilità clinica del test quando vengono assunte altre terapie antivirali per l'HBV.

Definizioni:

risultati delle risposte virologiche iniziali

Risposta virologica alla settimana 12 e 24 = DNA dell'HBV <10 IU/ml (<LLOQ) come valutato in base al test Aptima HBV Quant Assay con il sistema Panther

Risposta virologica alternativa alla settimana 12 = DNA dell'HBV ≥2 log₁₀ diminuzione al basale

Risposta virologica alternativa alla settimana 24 = DNA dell'HBV <2.000 IU/mL (per HBeAg+) o <50 IU/mL (per HBeAg-)

Endpoint di utilità clinica

Risposta virologica alla settimana 48 = DNA dell'HBV <10 IU/mL (<LLOQ), valutato mediante test quantitativo per HBV approvato

Risposta virologica alternativa alla settimana 48 = DNA dell'HBV <50 IU/mL, valutato mediante test quantitativo approvato per HBV

Risposta biochimica = Normalizzazione dei risultati del test ALT alla settimana 48 (ALT <30 U/L per soggetti di sesso maschile e <19 U/L per soggetti di sesso femminile)

Risposta sierologica = Perdita di HBeAg (risultati negativi per HBeAg) alla settimana 48

Criteri di associazione e valore predittivo

Valore predittivo positivo (VPP) = Vero positivo / (Vero positivo + Falso positivo) o probabilità di risposta alla settimana 48 (per l'endpoint di utilità clinica valutato) in soggetti con risposta virologica in una fase iniziale

Valore predittivo negativo (VPN) = Vero negativo / (Falso negativo + Vero negativo) o probabilità di mancata risposta alla settimana 48 (per l'endpoint di utilità clinica valutato) in soggetti con mancata risposta virologica in una fase iniziale

Rapporto di probabilità (OR) = (Vero positivo × Vero negativo) / (Falso positivo × Falso negativo)

Previsione della risposta virologica alla settimana 48 in termini di DNA dell'HBV <10 IU/mL

Nel presente studio, la definizione principale per la risposta virologica è stata espressa in termini di DNA dell'HBV <10 IU/mL; tale definizione è stata utilizzata sia per la risposta virologica iniziale alle settimane 12 e 24 sia per la risposta virologica alla settimana 48. È stata valutata la correlazione tra le prime risposte virologiche alle settimane 12 e 24 e gli endpoint di utilità clinica alla settimana 48 (risposta virologica, risposta biochimica, risposta sierologica).

Previsione della risposta virologica alla settimana 48

Le correlazioni tra la risposta virologica alla settimana 48 e la risposta virologica alla settimana 12 e alla settimana 24 sono riportate in Tabella 23.

Le risposte virologiche iniziali alle settimane 12 e 24, come fattori predittivi della risposta virologica alla settimana 48, hanno registrato una variazione in funzione della settimana e del trattamento.

Tabella 23: VPP, VPN e rapporto di probabilità per la risposta virologica prevista in funzione della risposta virologica iniziale nel corso del trattamento: Risposta virologica alla settimana 48 espressa come <10 IU/mL

Stato HBeAg	Settimana della risposta virologica iniziale	Trattamento	VPP (%)		VPN (%)		OPPURE
			Stima (IC al 95%)	n/N	Stima (IC al 95%)	n/N	Stima (IC al 95%) ^{a,b}
HBeAg(+)	12	Entecavir	0,0 (0,0, 93,2)	0/1	82,5 (80,0, 88,4)	33/40	1,49 (<0,01 e 30,95)
		Tenofovir	100 27,3 (100)	2/2	74,4 (72,6, 78,7)	61/82	14,30 (1,11, >999,99)
		Tutti	66,7 (15,4, 98,2)	2/3	77,0 (75,7, 79,9)	94/122	6,71 (0,62, 147,55)
	24	Entecavir	50,0 (6,4, 93,2)	2/4	88,2 (83,5, 95,4)	30/34	7,50 (0,74, 79,76)
		Tenofovir	75,0 (52,7, 92,3)	12/16	84,1 (78,5, 90,0)	58/69	15,81 (4,62, 65,54)
		Tutti	70,0 (50,3, 88,1)	14/20	85,4 (81,3, 90,1)	88/103	13,69 (4,74, 44,16)
HBeAg(-)	12	Entecavir	94,1 (87,1, 99,0)	32/34	22,2 (7,6, 36,0)	4/18	4,57 (0,80, 35,85)
		Tenofovir	83,3 (70,5, 93,2)	25/30	46,9 (35,0, 58,9)	15/32	4,41 (1,42, 15,71)
		Tutti	89,1 (82,1, 94,7)	57/64	38,0 (29,0, 47,1)	19/50	4,99 (1,96, 14,00)
	24	Entecavir	93,0 (88,0, 98,1)	40/43	37,5 (6,4, 67,2)	3/8	8,00 (1,21, 55,54)
		Tenofovir	82,6 (74,3, 90,4)	38/46	75,0 (54,1, 92,0)	12/16	14,25 (3,92, 62,71)
		Tutti	87,6 (82,7, 92,6)	78/89	62,5 (44,8, 78,0)	15/24	11,82 (4,30, 34,94)

IC = 95% dell'intervallo di confidenza basato sulla verosimiglianza/profilo

^a Lo sfondo grigio segnala la significatività statistica dei rapporti di probabilità.

^b Per il calcolo dei rapporti di probabilità e dei relativi intervalli di confidenza, è stato aggiunto 0,5 a tutte le cellule ogni volta che almeno una cellula registrava un valore nullo.

Previsione della risposta biochimica alla settimana 48

Le correlazioni tra la risposta biochimica alla settimana 48 e la risposta virologica alla settimana 12 e 24 sono riepilogate in Tabella 24.

Il valore delle risposte virologiche iniziali alle settimane 12 e 24, come fattore predittivo della risposta biochimica alla settimana 48, hanno registrato una variazione in funzione della settimana e del trattamento.

Tabella24: VPP, VPN e rapporto di probabilità per la risposta biochimica prevista mediante risposta virologica iniziale durante il trattamento: Risposta virologica alla settimana 48 espressa come <10 IU/mL

Stato HBeAg	Settimana della risposta virologica iniziale	Trattamento	VPP (%)		VPN (%)		OPPURE
			Stima (IC al 95%)	n/N	Stima (IC al 95%)	n/N	Stima (IC al 95%) ^a
HBeAg(+)	12	Entecavir	NC (NC)	0/0	67,9 (63,4 - 76,1)	19/28	2,05 (0,01 - 393,52)
		Tenofovir	100 (27,6, 100)	2/2	58,5 (55,1, 63,9)	31/53	7,00 (0,54, 983,90)
		Tutti	100 27,3 (100)	2/2	61,7 (59,7, 65,5)	50/81	8,02 (0,63, > 999,99)
	24	Entecavir	66,7 (16,4 - 98,2)	2/3	68,2 (60,1 - 80,0)	15/22	4,29 (0,35 - 101,82)
		Tenofovir	58,3 (33,2, 81,0)	7/12	61,4 (54,3, 69,7)	27/44	2,22 (0,61, 8,61)
		Tutti	60,0 (36,6, 80,9)	9/15	63,6 (58,2, 70,0)	42/66	2,62 (0,84, 8,70)
HBeAg(-)	12	Entecavir	43,8 (25,1, 61,2)	7/16	50,0 (25,1, 74,9)	6/12	0,78 (0,17, 3,53)
		Tenofovir	52,9 (35,1, 72,2)	9/17	76,2 (61,2, 89,8)	16/21	3,60 (0,93, 15,39)
		Tutti	48,5 (36,0, 60,9)	16/33	66,7 (54,5, 78,6)	22/33	1,88 (0,70, 5,20)
	24	Entecavir	45,8 (36,0, 56,0)	11/24	75,0 (25,2, 98,7)	3/4	2,54 (0,28, 55,45)
		Tenofovir	42,9 (32,8, 53,1)	12/28	80,0 (53,0, 97,1)	8/10	3,00 (0,61, 22,34)
		Tutti	44,2 (37,8, 50,8)	23/52	78,6 (55,1, 95,0)	11/14	2,91 (0,80, 13,98)

IC = 95% dell'intervallo di confidenza basato sulla verosimiglianza/profilo, NC=non calcolabile

^a Per il calcolo dei rapporti di probabilità e dei relativi intervalli di confidenza, è stato aggiunto 0,5 a tutte le cellule ogni volta che almeno una cellula registrava un valore nullo.

Previsione della risposta sierologica alla settimana 48

Le correlazioni tra la risposta sierologica alla settimana 48 e la risposta virologica alla settimana 12 e alla settimana 24 sono riportate in Tabella 25.

Il valore delle risposte virologiche iniziali alle settimane 12 e 24, come fattore predittivo della risposta sierologica alla settimana 48, hanno registrato una variazione in funzione della settimana e del trattamento.

Tabella 25: VPP, VPN e rapporto di probabilità per la risposta sierologica prevista mediante risposta virologica iniziale durante il trattamento: Risposta virologica alla settimana 48 espressa come <10 IU/mL

Stato HBeAg	Settimana della risposta virologica iniziale	Trattamento	VPP (%)		VPN (%)		OPPURE
			Stima (IC al 95%)	n/N	Stima (IC al 95%)	n/N	Stima (IC al 95%) ^a
HBeAg(+)	12	Entecavir	100 (6,5, 100)	1/1	86,8 (84,2, 93,9)	33/38	18,27 (0,86, >999,99)
		Tenofovir	0,0 (0,0, 72,0)	0/2	82,9 (81,7, 86,0)	68/82	0,95 (<0,01; 12,45)
		Tutti	33,3 (1,8, 84,3)	1/3	84,2 (83,1, 86,8)	101/120	2,66 (0,12, 29,11)
	24	Entecavir	50,0 (6,4, 93,2)	2/4	88,2 (83,5, 95,4)	30/34	7,50 (0,74, 79,76)
		Tenofovir	18,8 (3,1; 39,1)	3/16	84,1 (80,6; 89,1)	58/69	1,22 (0,25, 4,59)
		Tutti	25,0 (8,5, 43,6)	5/20	85,4 (82,5, 89,4)	88/103	1,96 (0,57, 5,94)

IC = 95% dell'intervallo di confidenza basato sulla verosimiglianza/profilo

^a Per il calcolo dei rapporti di probabilità e dei reattivi intervalli di confidenza, è stato aggiunto 0,5 a tutte le cellule ogni volta che almeno una cellula registrava un valore nullo.

Previsione della risposta virologica alla settimana 48, definita in termini di DNA dell'HBV <50 IU/mL (Definizione alternativa)

Sono state inoltre valutate le definizioni alternative delle risposte virologiche iniziali (settimane 12 e 24) e alla settimana 48 (si vedano le definizioni di risposta alternativa sopra).

Le correlazioni tra gli endpoint di utilità clinica e la risposta virologica rispettivamente alla settimana 12 e 24, tramite l'utilizzo di queste definizioni alternative della risposta virologica, sono riportate nella Tabella 26 (risposta virologica), nella Tabella 27 (risposta biochimica) e nella Tabella 28 (risposta sierologica).

Tabella 26: VPP, VPN e rapporto di probabilità per la risposta virologica prevista in funzione della risposta virologica iniziale nel corso del trattamento: Risposta virologica alla settimana 48 espressa come <50 IU/mL

Stato HBeAg	Settimana della risposta virologica iniziale	Trattamento	VPP (%)		VPN (%)		OPPURE
			Stima (IC al 95%)	n/N	Stima (IC al 95%)	n/N	Stima (IC 95%) ^{a,b}
HBeAg(+)	12	Entecavir	34,2 (26,9, 39,2)	13/38	66,7 (16,1, 98,2)	2/3	1,04 (0,09, 23,60)
		Tenofovir	55,1 (51,9, 59,4)	43/78	83,3 (43,5, 99,2)	5/6	6,14 (0,93, 120,54)
		Tutti	48,3 (45,6, 51,3)	56/116	77,8 (45,3, 97,1)	7/9	3,27 (0,75, 22,54)
	24	Entecavir	65,0 (51,3, 81,2)	13/20	100 86,3 (100)	18/18	66,59 (7,20; >999,99)
		Tenofovir	72,4 (64,7, 80,6)	42/58	88,9 (74,6, 97,2)	24/27	21,00 (6,28, 97,36)
		Tutti	70,5 (63,5, 77,9)	55/78	93,3 (84,0, 98,3)	42/45	33,47 (10,81, 148,13)
HBeAg(-)	12	Entecavir	100 (NC)	52/52	NC (NC)	0/0	NC
		Tenofovir	93,0 (89,1, 97,5)	53/57	60,0 (21,3, 93,3)	3/5	19,87 (2,62, 191,49)
		Tutti	96,3 (94,4, 98,7)	105/109	60,0 (21,1, 93,3)	3/5	39,37 (5,24, 376,77)
	24	Entecavir	100 (NC)	47/47	0,0 (NC)	0/4	NC
		Tenofovir	93,9 (88,6, 98,3)	46/49	30,8 (6,7, 52,4)	4/13	6,81 (1,30, 39,97)
		Tutti	96,9 (93,8, 99,2)	93/96	23,5 (7,0, 39,8)	4/17	9,54 (1,91, 53,22)

IC = 95% dell'intervallo di confidenza basato sulla verosimiglianza/profilo, NC=non calcolabile

^a Lo sfondo grigio segnala la significatività statistica dei rapporti di probabilità.

^b Per il calcolo dei rapporti di probabilità e dei loro intervalli di confidenza, è stato aggiunto 0,5 a tutte le cellule ogni volta che almeno una cellula registrava un valore nullo, salvo l'assenza di risposte alla settimana 48 o salvo mancate risposte alla medesima settimana, il che ha determinato un rapporto di probabilità pari a NC.

Tabella27: VPP, VPN e rapporto di probabilità per la risposta biochimica prevista mediante risposta virologica iniziale durante il trattamento: Risposta virologica alla settimana 48 espressa come <50 IU/mL

Stato HBeAg	Settimana della risposta virologica iniziale	Trattamento	VPP		VPN		OPPURE
			Stima (IC al 95%)	n/N	Stima (IC al 95%)	n/N	Stima (IC 95%) ^{a,b}
HBeAg(+)	12	Entecavir	33,3 (25,1 - 39,0)	9/27	100 (6,7 - 100)	1/1	1,54 (0,07 - 233,77)
		Tenofovir	44,2 (39,6, 48,6)	23/52	66,7 (15,7, 98,2)	2/3	1,59 (0,14, 35,36)
		Tutti	40,5 (37,1, 43,7)	32/79	75,0 (23,9, 98,7)	3/4	2,04 (0,25, 42,30)
	24	Entecavir	50,0 (31,2 - 69,5)	7/14	81,8 (58,9 - 97,1)	9/11	4,50 (0,79 - 37,15)
		Tenofovir	52,5 (44,0, 61,8)	21/40	81,3 (60,1 - 96,7)	13/16	4,79 (1,30, 23,28)
		Tutti	51,9 (44,1, 60,2)	28/54	81,5 (66,4, 93,1)	22/27	4,74 (1,66, 15,82)
HBeAg(-)	12	Entecavir	46,4 (39,5, 52,6)	13/28	NC (NC)	0/0	0,87 (<0,01; 166,17)
		Tenofovir	40,0 (33,6, 46,3)	14/35	100 41,4 (100)	3/3	4,72 (0,41; 653,11)
		Tutti	42,9 (39,6; 46,7)	27/63	100 41,2 (100)	3/3	5,27 (0,48, 720,38)
	24	Entecavir	44,0 (34,4, 52,7)	11/25	66,7 (16,3 - 98,2)	2/3	1,57 (0,13, 36,42)
		Tenofovir	41,4 (31,3, 51,1)	12/29	77,8 (48,6, 97,1)	7/9	2,47 (0,49, 18,57)
		Tutti	42,6 (36,4, 48,9)	23/54	75,0 (48,8, 93,7)	9/12	2,23 (0,59, 10,87)

IC = 95% dell'intervallo di confidenza basato sulla verosimiglianza/profilo

^a Lo sfondo grigio segnala la significatività statistica dei rapporti di probabilità.

^b Per il calcolo dei rapporti di probabilità e dei relativi intervalli di confidenza, è stato aggiunto 0,5 a tutte le cellule ogni volta che almeno una cellula registrava un valore nullo.

Tabella28: VPP, VPN e rapporto di probabilità per la risposta sierologica prevista mediante risposta virologica iniziale durante il trattamento: Risposta virologica alla settimana 48 espressa come <50 IU/mL

Stato HBeAg	Settimana della risposta virologica iniziale	Trattamento	VPP		VPN		OPPURE
			Stima (IC al 95%)	n/N	Stima (IC al 95%)	n/N	Stima (IC 95%) ^{a,b}
HBeAg(+)	12	Entecavir	16,7 (10,4, 19,6)	6/36	100 44,1 (100)	3/3	1,49 (0,12, 209,89)
		Tenofovir	16,7 (12,9, 18,6)	13/78	83,3 (44,2, 99,2)	5/6	1,00 (0,14, 19,98)
		Tutti	16,7 (13,9, 18,1)	19/114	88,9 (58,8, 99,5)	8/9	1,60 (0,27, 30,56)
	24	Entecavir	30,0 16,5, 41,6)	6/20	100 86,3 (100)	18/18	16,59 (1,72; > 999,99)
		Tenofovir	22,4 (16,9, 26,8)	13/58	96,3 (84,7, 99,9)	26/27	7,51 (1,37, 140,31)
		Tutti	24,4 (20,0, 28,4)	19/78	97,8 (90,4, 99,9)	44/45	14,17 (2,77, 259,25)

IC = 95% dell'intervallo di confidenza basato sulla verosimiglianza/profilo

^a Lo sfondo grigio segnala la significatività statistica dei rapporti di probabilità.

^b Per il calcolo dei rapporti di probabilità e dei relativi intervalli di confidenza, è stato aggiunto 0,5 a tutte le cellule ogni volta che almeno una cellula registrava un valore nullo.

Conclusione

Nel complesso i risultati dimostrano che il test Aptima HB Quant Assay è in grado di quantificare i livelli di DNA dell'HBV al basale e nel corso del trattamento come ausilio nella valutazione della risposta del virus al trattamento. Questo studio ha dimostrato che le risposte virologiche iniziali alle settimane 12 e 24, come fattore predittivo della risposta virologica alla settimana 48, cambiano in base alla settimana e al trattamento.

Il test Aptima HBV Quant Assay può essere utilizzato come ausilio nella gestione dei pazienti colpiti da infezione da HBV cronica che seguono una terapia farmacologica antivirale per l'HBV.

Bibliografia

1. **Organizzazione Mondiale della Sanità.** Global progress report on HIV, viral hepatitis and sexually transmitted infections, 2021. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240027077>. Consultato il: Settembre 2022.
2. **Liaw YF, Chu CM.** Hepatitis B virus infection. *Lancet*. 2009;373(9663):582-592.
3. **European Association for the Study of the Liver (EASL).** 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 (IARC).** Hepatitis B Virus. *IARC Monographs* 2012; 100B: 93-133.
5. **Price, J.** An Update on Hepatitis B, D, and E Viruses. *Topics in Antiviral Medicine* 2014; 21(5): 157-163.
6. **Terrault NA, Bzowej NH, Chang KM, Hwang JP, Jonas MM, Murad MH; American Association for the Study of Liver Diseases.** AASLD guidelines for treatment of chronic hepatitis B. *Hepatology*. 2016 Gen;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; versione corrente.
9. **Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health.** Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL); versione corrente.
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; Linea guida approvata—Seconda edizione. *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; Linea guida approvata. *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>.

Informazioni di contatto e cronologia delle revisioni



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



Hologic BV
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

Sponsor australiano

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

Per l'indirizzo e-mail e il numero di telefono dell'Assistenza tecnica e del servizio di assistenza clienti specifici di ciascun Paese, visitare il sito web www.hologic.com/support.

Incidenti gravi verificatisi in relazione al dispositivo nell'Unione europea devono essere segnalati al fabbricante e all'autorità competente dello Stato membro in cui l'utilizzatore è stabilito e/o il paziente risiede.

Hologic, Aptima, Panther, Panther Fusion e i relativi loghi sono marchi commerciali e/o marchi registrati di Hologic, Inc. e/o delle imprese collegate negli Stati Uniti e/o in altri Paesi. Tutti gli altri marchi commerciali che possono apparire in questo foglietto illustrativo appartengono ai rispettivi proprietari.

Tutti gli altri marchi commerciali che possono apparire in questo foglietto illustrativo appartengono ai rispettivi proprietari.

Questo prodotto potrebbe essere protetto da uno o più brevetti negli Stati Uniti come riportato sul sito web www.hologic.com/patents.

© 2017-2025 Hologic, Inc. Tutti i diritti riservati.

AW-28215-701 Rev. 003

2025-10

Cronologia delle revisioni	Data	Descrizione
AW-28215-701 Rev. 001	Luglio 2025	<ul style="list-style-type: none">• Pubblicazione originale del nuovo Aptima HBV Assay IFU AW-28215 - Rev. 001 in ottemperanza al Regolamento sui dispositivi medico diagnostici in vitro (IVDR) e in sostituzione della revisione AW-13182.
AW-28215-701 Rev. 002	Agosto 2025	<ul style="list-style-type: none">• Aggiornamenti del marchio commerciale per soddisfare i requisiti BSI.
AW-28215-701 Rev. 003	Ottobre 2025	<ul style="list-style-type: none">• Aggiunta opzione per agitatore provette.• SDS aggiornati.