

## Aptima® HBV Quant тест

За употребу за *in vitro* дијагностику.  
Само за САД извоз

<b>Опште информације</b> .....	<b>2</b>
Наменска употреба .....	2
Резиме и објашњење теста .....	2
Принципи поступка .....	3
Упозорења и мере опреза .....	3
Захтеви за складиштење и руковање реагенсима .....	8
Сакупљање и складиштење узорака .....	9
Узорци на Panther систему .....	12
Транспорт узорака .....	12
<b>Panther System</b> .....	<b>13</b>
Обезбеђени реагенси и материјали .....	13
Потребни су материјали, али су доступни засебно .....	15
Опциони материјали .....	16
Panther System процедура тестирања .....	16
Процедуралне напомене .....	20
<b>Контрола квалитета</b> .....	<b>21</b>
Калибрација теста .....	21
Негативне и позитивне контроле .....	21
Интерни калибратор/интерна контрола .....	21
<b>Интерпретација резултата</b> .....	<b>22</b>
<b>Ограничења</b> .....	<b>23</b>
<b>Перформансе</b> .....	<b>24</b>
Граница детекције коришћењем 3. међународног стандарда WHO .....	24
Граница детекције код HBV генотипова .....	25
Линеарни опсег .....	26
Линеарност међу HBV генотиповима .....	27
Доња граница квантитације коришћењем 3. међународног стандарда WHO .....	27
Одређивање доње границе квантификације за HBV генотипове .....	29
Репродуцибилност .....	31
Потенцијално ометајуће супстанце .....	32
Специфичност .....	34
Аналитичка специфичност .....	35
Поновљивост клиничких узорака .....	36
Разблаживање узорка коришћењем разблаживача узорка .....	37
Корелација метода .....	39
Преношење .....	39
<b>Библиографија</b> .....	<b>40</b>

## Опште информације

### Наменска употреба

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

Плазма се може припремити у етилендиаминтетрасирћетној киселини (EDTA), раствору антикоагуланса цитрата декстрозе (ACD) и епруветама за припрему плазме (PPT-ови). Серум се може припремити у епруветама за серум и епруветама за одвајање серума (SST-ови). Узорци се тестирају коришћењем потпуно аутоматизованог Panther система за обраду узорака, појачање и квантификацију. Узорци који садрже HBV генотипове А, Б, Ц, Д, Е, Ф, Г и Х су валидирани за квантификацију у тесту.

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

Aptima HBV Quant тест није намењен за употребу као скрининг тест крви или крвних производа на HBV или као дијагностички тест за потврду присуства HBV инфекције.

### Резиме и објашњење теста

Вирус хепатитиса В (HBV), један од неколико вируса за које се зна да изазивају хепатитис, приписује се доживотној HBV инфекцији, цирози јетре, раку јетре, отказивању јетре и, потенцијално, смрти. Светска здравствена организација (WHO) наводи HBV као једну од најчешћих заразних болести у свету. Преваленција HBV инфекције и начин преношења увелико варирају широм света. Отприлике једна трећина светске популације има серолошке доказе о прошлој или садашњој HBV инфекцији са хроничном HBV инфекцијом која се јавља код више од 350 милиона људи широм света.<sup>1,2,3</sup> HBV инфекција доводи до повећаног ризика од декомпензације јетре, цирозе и хепатоцелуларног карцинома (HCC) са смртношћу од 0,5 до 1,2 милиона смртних случајева и 5—10% случајева трансплантације јетре широм света годишње.<sup>4,5</sup> Без одговарајућег лечења, интервенције и праћења након дијагнозе, кумулативна инциденција цирозе током 5 година креће се од 8—20%. Када се цироза развије, годишњи ризик од хепатоцелуларног карцинома (HCC) је 2—5%.<sup>6</sup>

HBV садржи кружни, делимично дволанчани ДНК геном од приближно 3200 основних парова, који кодирају четири делимично преклапајућа отворена оквира за читање (ORF) који експримирају полимеразу, површински, предјезгро/језгро и Х протеине. ORF полимеразе се преклапа са остала 3 ORF-а и кодира кључни протеин репликације вируса, полимеразу. Површински ORF изражава три протеина, који су неопходни за вирусну морфогенезу, улазак вируса у хепатоците и изазивање имунолошког одговора домаћина.<sup>7</sup> Постоји 8 HBV генотипова (А-Н), и они се обично налазе на различитим географским локацијама. Тренутно се квантификација HBV ДНК користи да би се одредило које пацијенте са хроничном инфекцијом треба лечити, да би се пратио одговор на терапију и да би се проценило повећање вирусног оптерећења које може указивати на резистенцију на лекове.<sup>5</sup>

Aptima HBV Quant тест је *in vitro* тест амплификације нуклеинске киселине који користи технологију амплификације посредоване транскрипцијом у реалном времену (TMA®) на

Panther систему за квантификацију HBV DNK, генотипова А, Б, Ц, Д, Е, Ф, Г и Х. Aptima HBV Quant тест циља два високо конзервирана региона у полимеразу и површинским генима (за повећану толеранцију на потенцијалне мутације). Тест је стандардизован према 3. међународном стандарду WHO за вирус хепатитиса В (NIBSC код: 10/264).

## Принципи поступка

Aptima HBV Quant тест укључује три главна корака, који се сви одвијају у једној епрувети на Panther систему: хватање циља, појачање циља помоћу TMA и детекцију продукта амплификације (ампликона) помоћу флуоресцентно обележених сонди (бакља).

Током хватања циља, DNK вируса се изолује из узорка. Узорак се третира детергентом да би се растворила вирусна овојница, денатурирани протеини и ослободила вирусна геномска DNK. Олигонуклеотиди за хватање се хибридују са високо конзервираним регионима HBV DNK, ако су присутни, у узорку за тестирање. Хибридизовани циљ се затим хвата на магнетне микрочестице које се одвајају од узорка у магнетном пољу. Кораца прања уклањају стране компоненте из реакционе епрувете.

Амплификација циља се дешава преко TMA, методе амплификације нуклеинске киселине посредована транскрипцијом која користи два ензима, реверзну транскриптазу вируса Moloney мишје леукемије (MMLV) и T7 RNK полимеразу. Реверзна транскриптаза се користи за генерисање копије DNK (која садржи низ промотера за T7 RNK полимеразу) циљне секвенце. T7 RNK полимеразу производи више копија RNK ампликона из шаблона DNK копије. Aptima HBV Quant тест користи TMA методу за амплификацију два региона HBV генома (ген за полимеразу и ген за површину). Амплификација ових региона се постиже коришћењем специфичних прајмера дизајнираних да амплификују HBV генотипове А, Б, Ц, Д, Е, Ф, Г и Х. Приступ двоструког циљног региона са дизајном прајмера који циља на високо очуване регионе обезбеђује тачну квантификацију HBV DNK.


Детекција се постиже коришћењем једноланчаних бакљи нуклеинске киселине које су присутне током амплификације мете и које обављају хибридизацију специфично са ампликоном у реалном времену. Свака бакља има флуорофор и квенчер. Када бакља није хибридизована са ампликоном, гаситељ је у непосредној близини флуорофора и потискује флуоресценцију. Када се бакља веже за ампликон, гаситељ се помера даље од флуорофора и он ће емитовати сигнал на одређеној таласној дужини када је побуђен извором светлости. Како се више бакље хибридују са ампликоном, генерише се виши флуоресцентни сигнал. Време потребно да флуоресцентни сигнал достигне одређени праг пропорционално је почетној концентрацији HBV. Свака реакција има интерни калибратор/ интерну контролу (IC) који контролише варијације у обради узорка, амплификацији и детекцији. Концентрацију узорка одређује софтвер система Panther користећи HBV и IC сигнале за сваку реакцију и упоређујући их са информацијама о калибрацији.

## Упозорења и мере опреза

- A. Само за употребу за *in vitro* дијагностику.
- B. За професионалну употребу.
- C. Да бисте смањили ризик од неважећих резултата, пажљиво прочитајте цело упутство за паковање и *Panther®/Panther Fusion® система* пре него што извршите овај тест.
- D. qHBV Target Enhancer Reagent (TER) је корозиван. Погледајте „Повезано са тестом” на страни 5. за комплетну листу упозорења.



## Повезано са лабораторијом

-  Е. ОПРЕЗ: Контроле за овај тест садрже људску плазму. Плазма је негативна на површински антиген хепатитиса В (HBsAg), антитела на HCV, антитела на HIV-1 и HIV-2 и HIV антиген када је тестирана према лиценцираним процедурама америчке Управе за храну и лекове. Поред тога, плазма је неуреактивна за HBV DNK, HCV RNK и HIV-1 RNK када се тестира лиценцираним тестовима нуклеинске киселине користећи обједињене узорке. Све материјале који потичу из људске крви треба сматрати потенцијално заразним и са њима треба руковати уз универзалне мере предострожности.<sup>8,9,10</sup>
- Ф. Само особље које је адекватно обучено за употребу Aptima HBV Quant теста и за руковање потенцијално инфективним материјалима треба да обавља ову процедуру. Ако дође до просипања, одмах дезинфикујте пратећи прикладне процедуре за локацију.
- Г. Користите само испоручени или специфицирани лабораторијски прибор за једнократну употребу.
- Н. Користите рутинске мере опреза за лабораторију. Не пипетирати устима. Немојте јести, пити нити пушити у областима предвиђеним за рад. Носите једнократне рукавице без пудера, заштиту за очи и лабораторијске мантиле када рукујете са узорцима и комплетима реагенаса. Оперите руке темељно након руковања узорцима и комплетима реагенаса.
- И. Радне површине, пипете и друга опрема мора се редовно деконтаминирати коришћењем раствора натријум хипохлорита концентрације од 2,5% до 3,5% (0,35 М до 0,5 М).
- Ј. Одложите све материјале који су дошли у контакт са узорцима и реагенсима у складу са локалним, државним и савезним прописима.<sup>8,9,10,11</sup> Темељно очистите и дезинфикујте све радне површине.
- К. Контроле садрже натријум-азид као конзерванс. Немојте користити металне епрувете за пренос реагенса. Ако се раствори који садрже једињења натријум-азид одлажу у водоводни систем, треба их разблажити и испрати великом количином текуће воде. Ове мере предострожности се препоручују да би се избегло накупљање наслага у металним цевима у којима би се могли развити експлозивни услови.
- Л. Добре стандардне праксе за молекуларне лабораторије укључују праћење животне средине. За праћење окружења у лабораторији, предлаже се следећи поступак:
1. Набавите штапић са памучним врхом и упарите га са Aptima Specimen Aliquot епруветом (SAT).
  2. Означите сваки SAT на одговарајући начин.
  3. Напуните сваки SAT са 1 mL Aptima разблаживачем узорка.
  4. Да бисте сакупили површинске узорке, лагано навлажите тампон дејонизованом водом без нуклеаза.
  5. Обришите површину која вас занима вертикалним покретима од врха до дна. Окрените брис за отприлике пола окрета док бришете локацију.
  6. Одмах ставите узорак бриса у епрувету и нежно завртите брис у разблаживачу да бисте извукли потенцијалне материјале за брис. Притисните штапић са стране транспортне епрувете да бисте извукли што је могуће више течности. Одбаците брис и затворите епрувету.
  7. Поновите кораке за преостале узорке брисева.
  8. Штапић за брис за тестирање са молекуларним тестом.


**Повезано са узорком**



- M. Узорци могу бити заразни. Користите универзалне мере предострожности<sup>8,9,10</sup> када изводите овај тест. Правилно руковање и методе одлагања треба да буду успостављене у складу са локалним прописима.<sup>11</sup> Само особље које је адекватно обучено за употребу Aptima HBV Quant теста и обучено за руковање инфективним материјалима треба да изврши ову процедуру.
- N. Одржавајте одговарајуће услове складиштења током транспорта узорака како бисте осигурали интегритет узорка. Стабилност узорка у условима транспорта другачијим од препоручених није процењена.
- O. Избегавајте унакрсну контаминацију током корака руковања узорком. Будите посебно опрезни да избегнете контаминацију ширењем аеросола када отпуштате или отворате узорке. Узорци могу садржати изузетно висок ниво других организама. Осигурајте да посуде за узорак не дођу у међусобни контакт и одбаците коришћене материјале без пребацавања преко отворених посуда. Замените рукавице ако дођу у контакт са узорком.




**Повезано са тестом**

- P. Немојте користити комплет реагенса, калибратор или контроле након истека рока трајања.
- Q. Немојте мењати, мешати или комбиновати реагенсе за анализу из комплекта са различитим главним бројевима серије. Течности за тестирање могу бити из различитих серија. Контроле и калибратор могу бити из различитих серија.
- R. Избегавајте микробиалне и нуклеазне контаминације реагенаса.
- S. Затворите и чувајте све реагенсе за анализу на одређеним температурама. На перформансе теста може утицати употреба непрописно ускладиштених реагенаса за анализу. За више информација погледајте *Захтеви за складиштење и руковање реагенсима* и *Panther System процедура тестирања*.
- T. Немојте комбиновати било које реагенсе за тестирање или течности без одређених инструкција. Не препуњавајте реагенсе или течности. Panther систем проверава нивое реагенса.
- U. Избегавајте контакт реагенса за побољшање циља са кожом, очима и слузокожом. Испрати водом ако дође до контакта са овим реагенсом. Ако дође до просипања овог реагенса, разблажите га водом и следите одговарајуће процедуре на месту.
- V. Неки реагенси у овом комплекту су означени са информацијама о опасностима.

**Напомена:** *Комуникација о опасностима одражава класификацију Северне Америке и EU безбедносног листа (SDS). За информације о комуникацији о опасностима специфичним за ваш регион, погледајте SDS специфичан за регион у библиотеци безбедносних листова на [www.hologic.com/package-inserts](http://www.hologic.com/package-inserts). За више информација о симболима, погледајте легенду симбола на [www.hologic.com/package-inserts](http://www.hologic.com/package-inserts).*

Информације за опасност за Северну Америку	
	<b>HBV VL комплет контрола</b>
	Људски серум/Људска плазма 95—100% Натријум-азид < 1%
	—
	—

 	<p><b>Реагенс за побољшање циља</b>  <b>Литијум хидроксид, монохидрат 5—10%</b></p>
	<p><b>ОПАСНОСТ</b>                  H302 — Штетно ако се прогута                  H314 — Изазива тешке опекотине коже и оштећење ока                  P264 — Оперите лице, руке и сву изложену кожу темељно након руковања                  P270 — Немојте јести, пити или пушити када користите овај производ                  P301 + P312 — АКО СЕ ПРОГУТА: Позовите ЦЕНТАР ЗА ТРОВАЊЕ или лекара ако се не осећате добро                  P330 — Испрати уста                  P501 — Одложите садржај/контејнер на одобрену локацију за одлагање отпада                  P260 — Не удисати прашину или маглу                  P280 — Носити заштитне рукавице/заштитну одећу/заштиту за очи/заштиту за лице                  P301 + P330 + P331 — АКО СЕ ПРОГУТА: испрати уста. НЕ изазивајте повраћање                  P303 + P361 + P353 — АКО ДОСПЕ НА КОЖУ (или косу): Уклоните одмах сву контаминирану одећу. Исперите кожу водом/туширајте се                  P304 + P340 — АКО СЕ УДАХНЕ: Изведите особу на свеж ваздух и оставите је у положају удобном за дисање                  P305 + P351 + P338 — АКО ДОЂЕ У ОЧИ: Пажљиво испрати водом неколико минута. Уклоните контактна сочива, ако их носите и ако је то лако урадити. Наставите са испирањем                  P310 — Одмах позвати ЦЕНТАР ЗА ТРОВАЊЕ или лекара                  P321 — Специфичан третман (погледајте додатна упутства за прву помоћ у SDS)                  P363 — Оперите контаминирану одећу пре поновне употребе                  P405 — Чувати закључано                  P280 — Носите заштиту за очи/заштиту за лице</p>
<p><b>Информације о опасностима за ЕУ</b></p>	
<p>—</p>	<p><b>Амплификациони реагенс</b>                  —                  —                  H412 — Штетно за водени свет са дуготрајним последицама.                  P273 — Избегавајте одлагање у животну средину.                  P501 — Одложите садржај/контејнер на одобрену локацију за одлагање отпада.</p>
<p>—</p>	<p><b>Раствор за амплификацију реконституције</b>                  —                  —                  EUN210 — Лист за безбедносне податке доступан на захтев.</p>
<p>—</p>	<p><b>Ензим реагенс</b>  <b>Triton X-100 0—10%</b>                  —                  —                  H412 — Штетно за водени свет са дуготрајним последицама.                  P273 — Избегавајте одлагање у животну средину.                  P501 — Одложите садржај/контејнер на одобрену локацију за одлагање отпада.</p>
<p>—</p>	<p><b>Раствор за реконституцију ензима</b>  <b>Glycerol 20—25%</b>  <b>Triton X-100 5—10%</b>  <b>HEPES 1—5%</b>                  —                  —                  H402 — Штетно за водени свет.                  P273 — Избегавајте одлагање у животну средину.                  P501 — Одложите садржај/контејнер на одобрену локацију за одлагање отпада.</p>
<p>—</p>	<p><b>Promoter реагенс</b>                  —                  —                  H412 — Штетно за водени свет са дуготрајним последицама.                  P273 — Избегавајте одлагање у животну средину.                  P501 — Одложите садржај/контејнер на одобрену локацију за одлагање отпада.</p>

—	<p><b>Promoter раствор за реконституцију</b></p> <p>—</p> <p>—</p> <p>EUN210 — Лист за безбедносне податке доступан на захтев.</p>
—	<p><b>Реагенс за хватање циља</b></p> <p><b>HEPES 15—20%</b></p> <p><b>Лаури сулфатна литијумска со 5—10%</b></p> <p><b>Јантарна киселина 1—5%</b></p> <p><b>Литијум хидроксид, монохидрат 1—5%</b></p> <p>—</p> <p>H402 — Штетно за водени свет.</p> <p>P273 — Избегавајте одлагање у животну средину.</p> <p>P501 — Одложите садржај/контејнер на одобрену локацију за одлагање отпада.</p>
—	<p><b>HBV VL комплет калибратора</b></p> <p><b>Лаури сулфатна литијумска со 0—10%</b></p> <p><b>Јантарна киселина 0—10%</b></p> <p>—</p> <p>H402 — Штетно за водени свет.</p>
	<p><b>HBV VL комплет контрола</b></p> <p><b>Људски серум/Људска плазма 95—100%</b></p> <p><b>Натријум-азид &lt; 1%</b></p> <p>—</p> <p>H412 — Штетно за водени свет са дуготрајним последицама.</p> <p>P273 — Избегавајте одлагање у животну средину.</p> <p>P501 — Одложите садржај/контејнер на одобрену локацију за одлагање отпада.</p>
 	<p><b>Реагенс за побољшање циља</b></p> <p><b>Литијум хидроксид, монохидрат 5—10%</b></p> <p><b>ОПАСНОСТ</b></p> <p>H302 — Штетно ако се прогута.</p> <p>H314 — Изазива тешке опекотине коже и оштећење ока.</p> <p>P264 — Оперите лице, руке и сву изложену кожу темељно након руковања.</p> <p>P270 — Немојте јести, пити или пушити када користите овај производ.</p> <p>P301 + P312 — АКО СЕ ПРОГУТА: Позовите ЦЕНТАР ЗА ТРОВАЊЕ или лекара ако се не осећате добро.</p> <p>P330 — Испрати уста.</p> <p>P501 — Одложите садржај/контејнер на одобрену локацију за одлагање отпада.</p> <p>P260 — Не удисати прашину/дим/гас/маглу/паре/спреј.</p> <p>P280 — Носити заштитне рукавице/заштитну одећу/заштиту за очи/заштиту за лице.</p> <p>P301 + P330 + P331 — АКО СЕ ПРОГУТА: Исперите уста. НЕ изазивајте повраћање.</p> <p>P303 + P361 + P353 — АКО ДОСПЕ НА КОЖУ (или косу): Уклоните одмах сву контаминирану одећу. Исперите кожу водом [или тушем].</p> <p>P304 + P340 — АКО СЕ УДАХНЕ: Изведите особу на свеж ваздух и оставите је у положају удобном за дисање.</p> <p>P305 + P351 + P338 — АКО ДОЂЕ У ОЧИ: Пажљиво испирати водом неколико минута. Уклоните контактна сочива, ако их носите и ако је то лако урадити. Наставите са испирањем.</p> <p>P310 — Одмах позвати ЦЕНТАР ЗА ТРОВАЊЕ или лекара.</p> <p>P321 — Специфичан третман (погледајте додатна упутства за прву помоћ у SDS).</p> <p>P363 — Оперите контаминирану одећу пре поновне употребе.</p> <p>P405 — Чувати закључано.</p>

## Захтеви за складиштење и руковање реагенсима

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

Реагенс	Неотворено складиштење	Отворени комплет (обављена реконституција)	
		Складиште	Стабилност
qHBV Амплификациони реагенс	2 °C до 8 °C		
qHBV Раствор за амплификацију реконституције	2 °C до 8 °C	2 °C до 8 °C	30 дана <sup>a</sup>
qHBV Ензим реагенс	2 °C до 8 °C		
qHBV Раствор за реконституцију ензима	2 °C до 8 °C	2 °C до 8 °C	30 дана <sup>a</sup>
qHBV Promoter реагенс	2 °C до 8 °C		
qHBV Promoter раствор за реконституцију	2 °C до 8 °C	2 °C до 8 °C	30 дана <sup>a</sup>
qHBV Реагенс за хватање циља	2 °C до 8 °C	2 °C до 8 °C	30 дана <sup>a</sup>
qHBV PCAL (позитивни калибратор)	-15 °C до -35 °C	15 °C до 30 °C	Бочица за једнократну употребу Употребите у року од 24 сата
qHBV NC CONTROL — (негативна контрола)	-15 °C до -35 °C	15 °C до 30 °C	Бочица за једнократну употребу Употребите у року од 24 сата
qHBV LPC CONTROL + (ниска позитивна контрола)	-15 °C до -35 °C	15 °C до 30 °C	Бочица за једнократну употребу Употребите у року од 24 сата
qHBV HPC CONTROL + (висока позитивна контрола)	-15 °C до -35 °C	15 °C до 30 °C	Бочица за једнократну употребу Употребите у року од 24 сата
qHBV реагенс за појачање циља	15 °C до 30 °C	15 °C до 30 °C	30 дана <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Када се реагенси уклоне из Panther система, они треба одмах да се врате на своје одговарајуће температуре за складиштење.

- B. Одбаците све неискоришћене, реконституисане реагенсе, реагенс за хватање циља (TCR) и реагенс за побољшање циља (TER) после 30 дана или после датума истека главне серије, шта год наступи прво.
- C. Реагенси који се чувају у систему Panther имају 72 сата стабилности. Реагенси могу да се убаце у Panther систем до 5 пута. Panther систем евидентира сваки пут када се реагенси учитају.
- D. Након одмрзавања калибратора, раствор мора бити бистар, односно да није замућен или да има талог.
- ⚠ E. Promoter реагенс и реконституисани Promoter реагенс су фотосензитивни. Заштитите ове реагенсе од светлости током складиштења и припреме за употребу.
- F. Реагенс qHBV Target Enhancer мора бити на 15 °C до 30 °C пре употребе.

## Сакупљање и складиштење узорка

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

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

**Напомена:** За складиштење се препоручују само пластичне секундарне цеви.

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

- Епрувете које садрже EDTA или ACD антикоагулансе
- Епрувете за припрему плазме (PPT-ови)
- Епрувете са серумом
- Епрувете за одвајање серума (SSTs)

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

### А. Прикупљање узорка

Пуна крв може да се чува на температури од 2 °C до 30 °C и мора да се центрифугира у року од 24 сата од узимања узорка. Одвојите плазму или серум од пелетираних црвених крвних зрнаца према упутствима произвођача за епрувету која се користи. Плазма или серум се могу тестирати на Panther систему у примарној епрувети или пренети у секундарну епрувету као што је Aptima Specimen Aliquot епрувета. Да би се добила реакциона запремина од 500 µL, минимална запремина плазме или серума за примарне епрувете је до 1200 µL, а за секундарне епрувете минимална запремина је 700 µL. Следећа табела идентификује захтеве за мртву запремину за сваки тип примарне и секундарне цеви.

Цев (величина и тип)	Мртва запремина на систему Panther
Aptima епрувета за аликвотни узорак (SAT)	0,2 mL
12 x 75 mm	0,5 mL
13 x 100 mm	0,5 mL
13 x 100 mm са гелом	0,3 mL
16 x 100 mm са гелом	0,7 mL

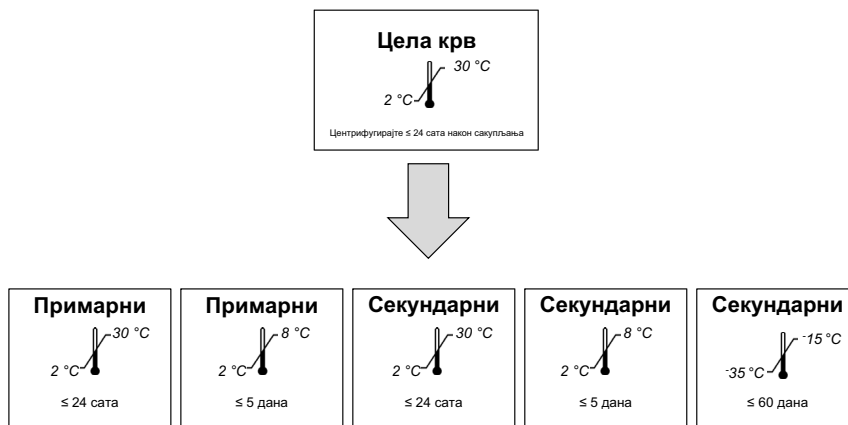
Ако се одмах не тестирају, плазма и серум се могу чувати у складу са спецификацијама у наставку. Ако се пренесе у секундарну епрувету, плазма или серум могу бити замрзнути на -20 °C. Немојте прекорачити 3 циклуса замрзавања-одмрзавања. Немојте замрзавати узорке у EDTA, ACD или примарним епруветама за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

В. Услови складиштења узорака

1. EDTA и ACD узорци плазме

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

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

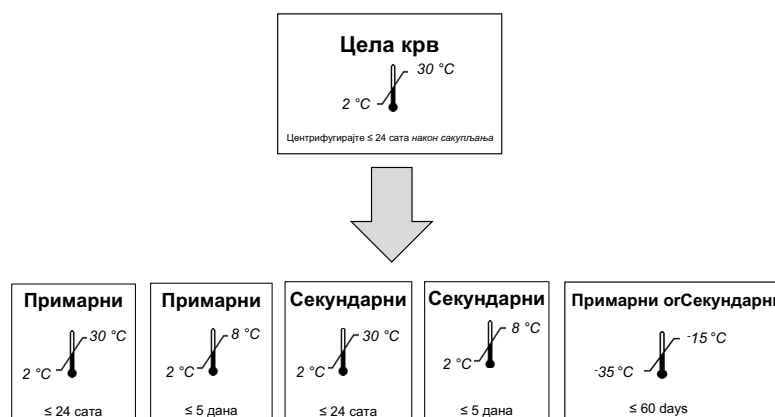


Слика 1. Услови складиштења EDTA/ACD епрувета

2. PPT узорци

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

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

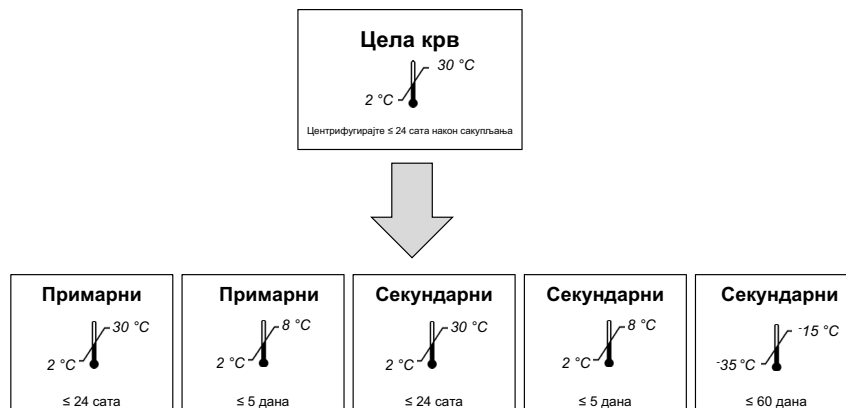


Слика 2. Услови складиштења за PPT-ове

## 3. Узорци епрувете серума

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

- У епрувети са серумом или секундарној епрувети на 2 °C до 30 °C до 24 сата,
- У епрувети са серумом или секундарној епрувети на 2 °C до 8 °C 12 до 5 дана, или
- У секундарној епрувети на -20 °C до 60 дана.

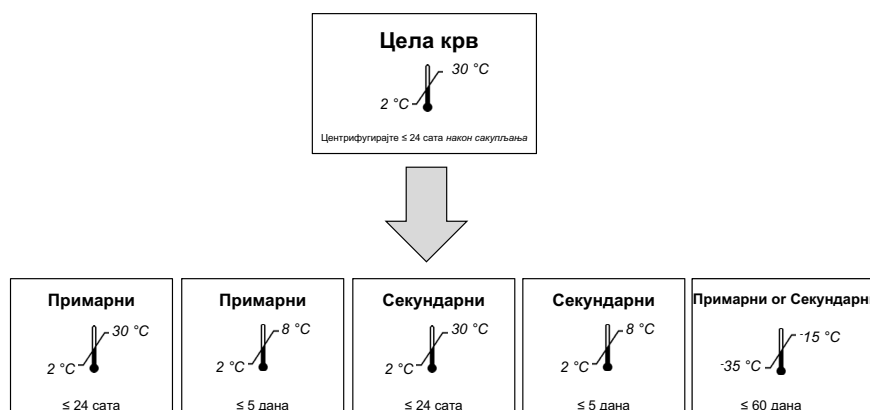


Слика 3. Услови складиштења епрувета са серумом

## 4. SST узорци

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

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



Слика 4. Услови складиштења за SST-ова

**C. Дуготрајно замрзнуто складиштење**

Узорци плазме или серума могу се чувати на  $-65\text{ }^{\circ}\text{C}$  до  $-85\text{ }^{\circ}\text{C}$  до 60 дана у SAT-овима.

**D. Разблаживање узорака плазме и серума**

Узорци плазме и серума могу се разблажити у SAT или секундарној епрувети за тестирање на Panther систему. За више информација погледајте *Panther System процедура тестирања*, корак Е.5.

**Напомена:** Ако је узорак разблажен, треба га тестирати одмах након разблажења. Не замрзавајте разређени узорак.

**Узорци на Panther систему**

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

**Транспорт узорака**

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

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

## Panther System

Реагенси за Aptima HBV Quant тест су наведени испод за Panther систем. Символи за идентификацију реагенса су такође наведени поред назива реагенса.

### Обезбеђени реагенси и материјали

**Aptima HBV Quant комплет за тест**, 100 тестова (кат. бр. PRD-03424)  
(1 кутија за анализу, 1 комплет за калибрацију, 1 комплет за контролу и 1 кутија за реагенс за побољшање циља)

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

#### Кутија за Aptima HBV Quant тест

(складиштити на температури од 2 °C до 8 °C након пријема)

Симбол	Компонента	Количина
<b>A</b>	<b>qHBV Амплификациони реагенс</b> <i>Неинфективне нуклеинске киселине осушене у пуферском раствору.</i>	1 бочица
<b>E</b>	<b>qHBV Ензим реагенс</b> <i>Реверзна транскриптаза и RNK полимераза осушене у HEPES пуферираном раствору.</i>	1 бочица
<b>PRO</b>	<b>qHBV Promoter реагенс</b> <i>Неинфективне нуклеинске киселине осушене у пуферском раствору.</i>	1 бочица
<b>AR</b>	<b>qHBV Раствор за амплификацију реконституције</b> <i>Водени раствор који садржи глицерол и конзервансе.</i>	1 x 7,2 mL
<b>ER</b>	<b>qHBV Раствор за реконституцију ензима</b> <i>HEPES пуферисани раствор који садржи сурфактант и глицерол.</i>	1 x 5,8 mL
<b>PROR</b>	<b>qHBV Promoter раствор за реконституцију</b> <i>Водени раствор који садржи глицерол и конзервансе.</i>	1 x 4,5 mL
<b>TCR</b>	<b>qHBV Реагенс за хватање циља</b> <i>Нуклеинске киселине у пуферованом раствору соли који садржи чврсту фазу, неинфективне нуклеинске киселине и интерни калибратор.</i>	1 x 72,0 mL
	<b>Реконституционе огрлице</b>	3
	<b>Лист са бар кодом за главну серију</b>	1 лист

**Aptima HBV Quant комплет калибратора** (кат. бр. PRD-03425)  
(складиштити на температури од -15 °C до -35 °C након пријема)

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

**Aptima HBV Quant комплет контрола** (кат. бр. PRD-03426)  
(складиштити на температури од -15 °C до -35 °C након пријема)

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

**Aptima HBV Quant Target Enhancer кутија за реагенс**  
(складиштити на температури од 15 °C до 30 °C након пријема)

Симбол	Компонента	Количина
TER	<b>qHBV реагенс за појачање циља</b> <i>Концентровани раствор раствора литијум хидроксида</i>	1 x 46,0 mL

## Потребни су материјали, али су доступни засебно

**Напомена:** Материјали доступни код компаније Hologic имају наведене каталожке бројеве, осим ако није другачије назначено.

Материјал	Кат. Бр.
Panther® System	303095
Panther Fusion® System	PRD-04172
Panther® System континуална течност и отпад (Panther Plus)	PRD-06067
Aptima® HBV Quant комплет калибратора	PRD-03425
Aptima® HBV Quant комплет контрола	PRD-03426
Panther Run Kit за тестове у реалном времену (само за тестове у реалном времену)	PRD-03455 (5000 тестова)
<i>Aptima® Assay Fluids комплет (такође познат као Universal Fluids комплет)</i>	303014 (1000 тестова)
<i>садржи Aptima® раствор за прање, Aptima® пуфер за деактивацију течности и Aptima® уљни реагенс</i>	
<i>Јединице са више епрувета (MTU-ови)</i>	104772-02
<i>Panther® комплет за корпу за смеће</i>	902731
<i>Panther® поклопац корпе за смеће</i>	504405
Или, Panther System Run Kit	
<i>(када се раде ТМА тестови који нису у реалном времену паралелно са ТМА тестовима у реалном времену)</i>	303096 (5000 тестова)
<i>садржи MTU-ове, кесе за отпад, поклопце за канте за отпатке, течности за тестове и аутоматске детекторе</i>	
Наставци, 1000 µL проводљиви, са сензором течности	901121 (10612513 Tecan)
<i>Нису сви производи доступни у свим регионима.</i>	903031 (10612513 Tecan)
<i>Контактирајте свог представника за информације специфичне за регион.</i>	MME-04134 (30180117 Tecan)
	MME-04128
Избељивач, 5% до 7% (0,7 М до 1,0 М) раствор натријум хипохлорида	—
Рукавице за једнократну употребу, без пудера	—
Заменски поклопци за реагенс	
<i>Бочице за реконституцију реагенса за појачање, ензим и Promoter реагенс</i>	CL0041 (100 поклопаца)
<i>TCR боца</i>	CL0040 (100 поклопаца)
<i>TER боца</i>	501604 (100 поклопаца)
Поклопци лабораторијских клупа са пластичним подлогама	—
Марамнице без длачица	—
Пипетор	—
Врхови	—
Опције примарне сабирне епрувете:	
<i>13 mm x 100 mm</i>	—
<i>13 mm x 75 mm</i>	—
<i>16 mm x 100 mm</i>	—
Центрифуга	—
Вртложни миксер	—

## Опциони материјали

Материјал	Кат. Бр.
Опције за секундарне епрувете:	
12 mm x 75 mm	—
13 mm x 100 mm	—
16 mm x 100 mm	—
Aptima® Specimen Aliquot епрувете (SAT) (100 паковања)	FAB-18184
Поклопац транспортне цеви (100 паковања) <i>капа за SAT</i>	504415
Aptima® разблаживач узорака	PRD-03003
Aptima® комплет разблаживача узорака <i>садржи разблаживач за узорке, 100 SAT и 100 капи</i>	PRD-03478
Пипете за пренос	—
Комерцијално доступни панели, на пример: <i>HBV панели из контроле квалитета за молекуларну дијагностику (QCMD)</i>	—
Памучни штапићи за брисеве	—
Клацкалица за епрувету	—

## Panther System процедура тестирања

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

### A. Припрема радног подручја

1. Очистите радне површине на којима ће се припремати реагенси. Обришите радне површине са 2,5% до 3,5% (0,35 M до 0,5 M) раствором натријум хипохлорита. Оставите раствор натријум хипохлорита да дође у контакт са површинама најмање 1 минут, а затим исперите дејонизованом (ДИ) водом. Не дозволите да се раствор натријум хипохлорита осуши. Покријте површину клупе чистим упијајућим поклопцима лабораторијских клупа са пластичном подлогом.
2. Очистите посебну радну површину на којој ће се припремати узорци. Користите горе описану процедуру (корак А.1).
3. Очистите све пипеторе. Користите горе описану процедуру за чишћење (корак А.1).

### B. Припрема калибратора и контрола

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

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

**Опција.** Калибратор и контролне епрувете се могу поставити на клацкалицу за епрувету да се добро промешају. Уверите се да је садржај епрувете потпуно одмрзнут пре употребе.

**Напомена:** Избегавајте стварање претеране пене приликом окретања калибратора и контрола. Пена компромитује сензор нивоа од стране Panther система.

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

C. Реконституција реагенса/припрема новог комплета

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

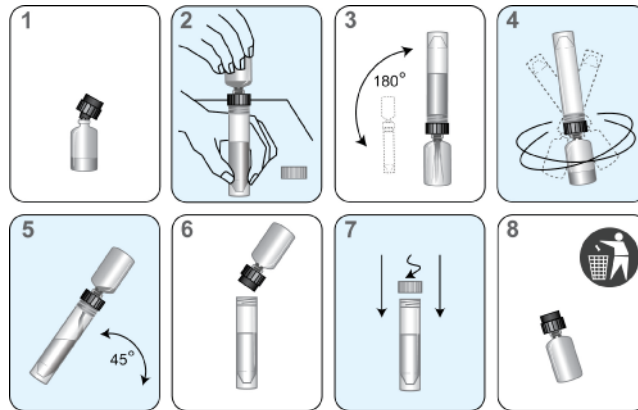
1. Да бисте припремили реагенс за хватање циља (TCR), урадите следеће:
  - a. Уклоните TCR из складишта (2 °C до 8 °C). Проверите број серије на TCR боци да бисте били сигурни да се поклапа са бројем серије на главном листу са бар кодом.
  - b. Одмах снажно протресите TCR боцу 10 пута. Оставите TCR боцу да остане на температури од 15 °C до 30 °C да се загреје најмање 45 минута. Током овог периода, вртите и окрените TCR боцу бар на сваких 10 минута.

**Опција.** TCR боца се може припремити на клацкалицу за епрувету праћењем ових упутстава: Уклоните TCR из складишта (2 °C до 8 °C) и одмах снажно протресите 10 пута. Поставите TCR боцу на клацкалицу и оставите TCR на температуру од 15 °C до 30 °C да се загреје најмање 45 минута.

- c. Уверите се да је сав талог у раствору и да су магнетне честице суспендоване пре употребе.
2. Да бисте реконституисали реагенсе за појачавање, ензим и Promoter реагенс, урадите следеће:
    - a. Уклоните лиофилизоване реагенсе и одговарајуће растворе за реконституцију из складишта (2 °C до 8 °C). Упарите сваки раствор за реконституцију са његовим лиофилованим реагенсом.
    - b. Уверите се да раствор за реконституцију и лиофиловани реагенс имају одговарајуће боје на етикети. Проверите бројеве серија на листи бар кодова главне серије да бисте били сигурни да су одговарајући реагенси упарени.
      - i. Отворите бочицу са лиофилованим реагенсом уклањањем металне заптивке и гуменог чепа.
      - ii. Чврсто уметните урезани крај крагне за реконституцију (црни) у бочицу (Слика 5, корак 1).
      - iii. Отворите одговарајућу боцу раствора за реконституцију и поставите поклопац на чисту, покривену радну површину.
      - iv. Поставите боцу са раствором за реконституцију на стабилну површину (тј. клупу). Затим окрените бочицу са лиофилованим реагенсом преко бочице са раствором за реконституцију и чврсто причврстите оватник на бочицу са раствором за реконституцију (Слика 5, корак 2).
      - v. Полако преокрените састављене боце (бочицу причвршћену за бочицу са раствором) да бисте омогућили да раствор исцури у стаклену бочицу (Слика 5, корак 3).
      - vi. Покупите састављене боце и вртите их најмање 10 секунди (Слика 5, корак 4).
      - vii. Сачекајте најмање 30 минута да лиофиловани реагенс пређе у раствор.
      - viii. Након што је лиофиловани реагенс отишао у раствор, мешајте састављене боце најмање 10 секунди, а затим лагано љуљајте раствор у стакленој бочици напред-назад да се добро промеша.

- c. Полако поново нагните састављене боце како бисте омогућили да се сав раствор исцеди назад у боцу са раствором за реконституцију (Слика 5, корак 5).
- d. Пажљиво уклоните огрлицу за реконституцију и стаклену бочицу (Слика 5, корак 6).
- e. Поново затворите боцу. Забележите иницијале оператера и датум реконституције на етикети (Слика 5, корак 7).
- f. Одбаците огрлицу за реконституцију и стаклену бочицу (слика 5, корак 8).

**Warning:** *Избегавајте стварање превелике пене приликом реконституисања реагенса. Пена компромитује сензор нивоа од стране Panther система.*



**Слика 5. Процес реконституције реагенса**

3. Уклоните qHBV Target Enhancer Reagent из складишта (15 °C до 30 °C). Забележите иницијале оператера и датум отварања на етикети. Проверите број серије на TER боци да бисте се уверили да се поклапа са бројем серије на главном листу бар кодова.
- D. Припрема реагенса за претходно припремљене реагенсе
1. Уклоните претходно припремљене реагенсе из складишта (2 °C до 8 °C). Претходно припремљени реагенси за амплификацију, ензим и Promoter реагенс и TCR морају достићи 15 °C до 30 °C пре почетка теста.
  2. Уклоните TER из складишта (15 °C до 30 °C).
  3. За претходно припремљен TCR, извршите корак C.1 изнад пре учитавања у систем.
  4. Окрените и изврните реагенсе за амплификацију, ензим и Promoter реагенс да се добро измешају пре убацивања у систем. Избегавајте стварање пене приликом извртања реагенса.
  5. Не препуњавајте боце за реагенсе. Panther систем ће препознати и одбацили боце које су препуњене.
- E. Руковање узорцима
1. Уверите се да су обрађени узорци у примарним епруветама или неразређени узорци у секундарним епруветама правилно ускладиштени по „Сакупљање и складиштење узорака” на страни 9.
  2. Уверите се да су смрзнути узорци добро одмрзнути. Одмрзнуте узорке мешајте 3 до 5 секунди да се добро измешају.

3. Оставите узорке да достигну температуру од 15 °C до 30 °C пре обраде. Погледајте *Узорци на Panther систему* за додатне информације о периоду током убацивања.
4. Уверите се да свака примарна епрувета за сакупљање садржи до 1200 µL узорка или да сваки SAT садржи најмање 700 µL узорка. Погледајте приложену табелу у *Прикупљање узорка* на страни 9 да бисте идентификовали захтеве мртве запремине за сваки тип примарне и секундарне епрувете. Ако је потребно разблаживање узорка, погледајте корак Е.5 у наставку за додатне информације.
5. Разблажите узорак 1:3 у SAT или 1:100 у секундарној епрувети.

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

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

- a. Разблаживање узорака мале запремине

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

- i. Ставите 240 µL узорка у SAT.
- ii. Додајте 480 µL Aptima разблаживач узорка.
- iii. Затворите епрувету.
- iv. Лагано окрените 5 пута да се измеша.

Узорци разблажени 1:3 могу се тестирати коришћењем опције 1:3 на систему Panther (погледајте *Упутство за оператора Panther/Panther Fusion система* за више информација). Софтвер ће аутоматски извести уредан резултат применом фактора разблажења. Ови узорци ће бити означени као разблажени узорци.

- b. Разблаживање узорака високе титрације

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

- i. Ставите 30 µL узорка у SAT или секундарну епрувету.
- ii. Додајте 2970 µL Aptima разблаживач узорка.
- iii. Затворите епрувету.
- iv. Лагано окрените 5 пута да се измеша.

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

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

6. Непосредно пре него што ставите узорке у сталак за узорке, центрифугирајте сваки узорак на 1000 до 3000g 10 минута. Не скидајте поклопце. Мехурићи у епрувети могу да угрозе детекцију нивоа од стране Panther система.

Погледајте *Припрема система*, корак F.2 у наставку, за информације о пуњењу сталка и уклањању поклопаца.

## F. Припрема система

1. Подесите систем према упутствима у *приручнику за оператера Panther/Panther Fusion система и Процедуралне напомене*. Уверите се да се користе полице за реагенсе одговарајуће величине и TCR адаптери.
2. Убаците узорке у сталак за узорке. Извршите следеће кораке за сваку епрувету за узорке (узорак и, када је потребно, калибратор и контроле):
  - a. Отпустите један поклопац епрувете за узорак, али га још увек немојте скидати.

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

- b. Ставите епрувету за узорке у сталак за узорке.
- c. Поновите кораке 2.a и 2.b за сваки преостали узорак.
- d. Након што су узорци убачени у сталак за узорке, уклоните и одбаците сваки поклопац епрувете за узорке у једну сталак за узорке. Да бисте избегли контаминацију, немојте стављати поклопац преко других носача за узорке или епрувета за узорке.
- e. Ако је потребно, користите нову пипету за једнократну употребу да бисте уклонили мехуриће или пену.
- f. Када се уклони последњи поклопац, убаците сталак за узорке у одељак за узорке.

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

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

## Процедуралне напомене

## A. Калибратор и контроле

1. qHBV позитивни калибратор, qHBV ниска позитивна контрола, qHBV високо позитивна контрола и qHBV негативне контролне епрувете могу да се уметну у било којој позицији у сталак за узорке и у било којој траци за одлагање узорака на систему Panther. Пипетирање узорка ће почети када се испуни један од следећа два услова:
  - a. Систем тренутно обрађује калибратор и контроле.
  - b. Важећи резултати за калибратор и контроле се региструју у систему.
2. Када се калибратор и контролне епрувете пипетирају и обрађују за комплет реагенса за Aptima HBV Quant тест, узорци се могу тестирати са повезаним реконституисаним комплетом до 24 сата **осим ако су**:
  - a. Резултати калибратора или контроле су неважећи.
  - b. Повезани комплет реагенса за анализу се уклања из система.
  - c. Повезани комплет реагенса за анализу је премашио границе стабилности.
3. Калибратор и свака контролна епрувета се могу користити једном. Покушаји употребе епрувете више пута могу довести до грешака у обради.

## B. Пудер са рукавица

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

## Контрола квалитета

Оператер може поништити резултат теста или узорка ако се уоче техничке потешкоће, потешкоће оператера или инструмента током извођења анализе и документују. У овом случају, узорци морају бити поново тестирани.

### Калибрација теста

За добијање валидних резултата мора се обавити калибрација теста. Један позитивни калибратор се изводи у три примерка сваки пут када се комплет реагенса убаци у Panther систем. Када се успостави, калибрација важи до 24 сата. Софтвер на Panther систему упозорава оператера када је потребна калибрација. Оператер скенира коефицијент калибрације који се налази на листи бар кодова главне серије која се испоручује са сваким комплетом реагенса.

Током обраде, критеријуми за прихватање калибратора се аутоматски верификују софтвером на Panther систему. Ако су мање од две реплике калибратора валидне, софтвер аутоматски поништава тај круг покретања. Узорци у неважећем циклусу морају бити поново тестирани коришћењем калибратора и свеже припремљених контрола.

### Негативне и позитивне контроле

За добијање валидних резултата мора се обавити тестирање контрола за тест. Једна реплика негативне контроле, ниска позитивна контрола и висока позитивна контрола морају се тестирати сваки пут када се комплет реагенса убаци у Panther систем. Када се успостави, контроле важе до 24 сата. Софтвер на Panther систему упозорава оператера када су потребне контроле.

Током обраде, критеријуми за прихватање контрола се аутоматски верификују софтвером на Panther систему. Да би се генерисали валидни резултати, негативна контрола мора дати резултат „Није откривена”, а позитивне контроле морају дати резултате у оквиру (LPC номинални циљ:  $2,7 \text{ Log}_{10} \text{ IU/mL}$ , НРС номинални циљ:  $4,6 \text{ Log}_{10} \text{ IU/mL}$ ). Ако било која од контрола има неважећи резултат, софтвер аутоматски поништава покретање. Узорци у неважећем циклусу морају бити поново тестирани коришћењем калибратора и свеже припремљених контрола.

### Интерни калибратор/интерна контрола

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

Софтвер Panther система је дизајниран да тачно верификује процесе када се процедуре изводе пратећи упутства дата у овом упутству за пакет и *Упутству за оператера Panther/Panther Fusion система*.

## Интерпретација резултата

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

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

Табела 1: Тумачење резултата

Пријављени резултати Aptima HBV Quant теста		Интерпретација
IU/mL	Log <sub>10</sub> Value <sup>a</sup>	
Није откривено	Није откривено	HBV DNK није откривен.
< 10 детектовано	< 1,0	HBV DNK је откривена, али на нивоу испод LLoQ
10 до 1 000 000 000	1,0 до 9,0	Концентрација HBV DNK је у линеарном опсегу од 10 до 1 000 000 000 IU/mL
> 1 000 000 000	> 9,0	Концентрација HBV DNK је изнад ULoQ
Неважеће <sup>b</sup>	Неважеће <sup>b</sup>	Дошло је до грешке у генерисању резултата. Узорак треба поново тестирати

<sup>a</sup> Вредност је скраћена на једну децималу.

<sup>b</sup> Неважећи резултати су приказани плавим фонтом.

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

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

**Напомена:** Опсег опоравка који је наведен у наставку се помера на основу додељене вредности сваке одређене партије. Погледајте додељену концентрацију наведену на уметку Control Barcode Sheet испорученог уз сваку контролну кутију.

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

Компонента	Опсег опоравка за ваљана покретања
Негативна контрола	н/д
Ниска позитивна контрола	+/- 0,55 $\log_{10}$ IU/mL
Високо позитивна контрола	+/- 0,5 $\log_{10}$ IU/mL

**Ограничења**

- A. Употреба овог теста је ограничена на особље које је обучено за ову процедуру. Непоштовање упутстава датих у овом упутству може довести до погрешних резултата.
- B. Поуздани резултати зависе од адекватног сакупљања, транспорта, складиштења и обраде узорака.
- C. Иако ретке, мутације унутар високо очуваних региона вирусног генома покривених прајмерима и/или сондама у Aptima HBV Quant тесту могу довести до подквантификације или неуспеха у откривању вируса.

## Перформансе

### Граница детекције коришћењем 3. међународног стандарда WHO

Граница детекције (LoD) теста је дефинисана као концентрација HBV DNK која се детектује са 95% или већом вероватноћом према CLSI EP17-A2.<sup>12</sup>

LoD је одређен панелима за тестирање 3. међународног стандарда WHO за DNK вируса хепатитиса В (NIBSC 10/264) разблажених у HBV негативној хуманој плазми и серуму. Минимално 36 понављања сваког разблажења је тестирано са сваком од три серије реагенса за најмање 108 понављања по разблажењу. Пробит анализа је извршена да би се генерисале предвиђене границе детекције. Вредности LoD приказане у Табела 3 су резултати из серије реагенса са највишом предвиђеном границом детекције. LoD за Aptima HBV Quant тест коришћењем 3. међународног стандарда WHO је 5,58 IU/mL за плазму и 4,29 IU/mL за серум.

Табела 3: Граница детекције коришћењем 3. међународног стандарда WHO за HBV

Предвиђено ограничење за детекцију	Концентрација (IU/mL)	
	Плазма	Серум
10%	0,16	0,19
20%	0,27	0,30
30%	0,39	0,42
40%	0,55	0,56
50%	0,75	0,73
60%	1,02	0,96
70%	1,42	1,29
80%	2,09	1,81
90%	3,58	2,91
95%	5,58	4,29

### Граница детекције код HBV генотипова

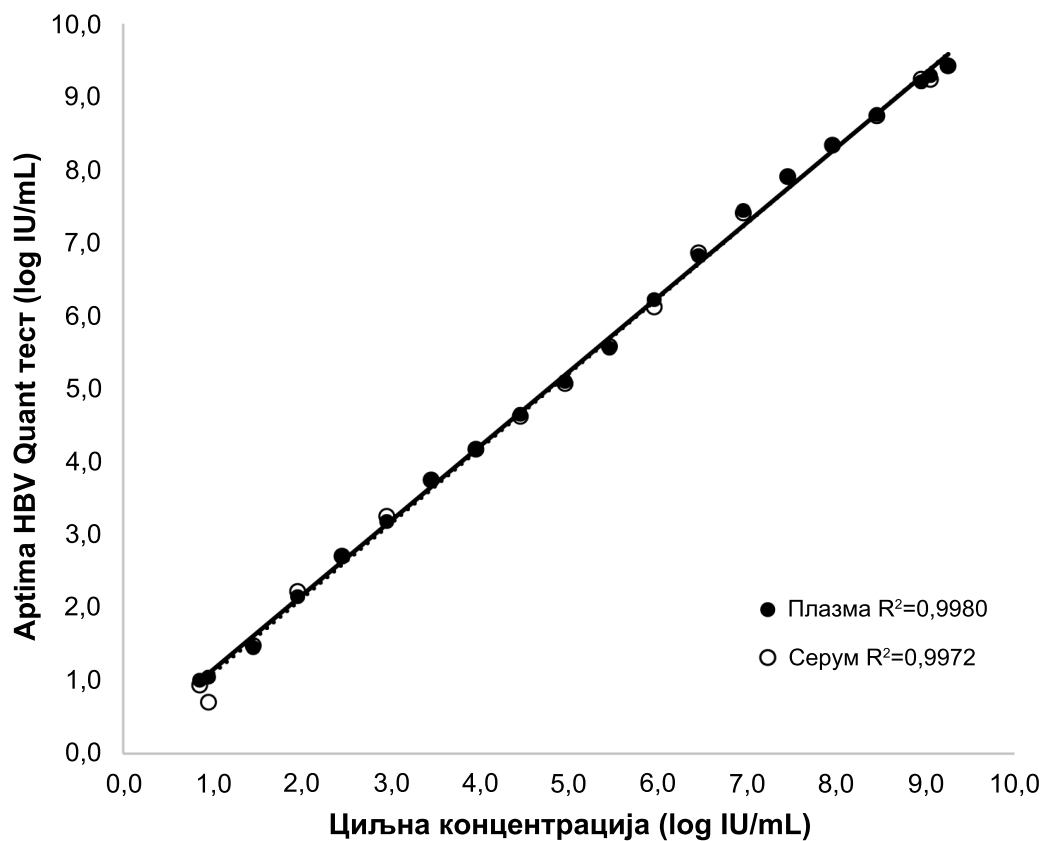
LoD је одређен тестирањем разблажења HBV позитивних клиничких узорака за генотипове А, Б, Ц, Д, Е, Ф, Г и Х у HBV негативној хуманој плазми и серуму. Концентрације су одређене коришћењем СЕ ознаке и компаративног теста који је лиценциран Health Canada. Најмање 24 понављања сваког члана панела је тестирано са сваком од две серије реагенса за најмање 48 понављања по члану панела. Пробит анализа је извршена да би се генерисале 50% и 95% предвиђених граница детекције. Вредности LoD приказане у Табела 4 су резултати из серије реагенса са највишом предвиђеном границом детекције.

Табела 4: Граница детекције код HBV генотипова коришћењем клиничких узорака

Генотип	Предвиђено ограничење за детекцију	Концентрација (IU/mL)	
		Плазма	Серум
А	50%	0,48	0,88
	95%	3,05	3,95
Б	50%	0,59	0,69
	95%	3,00	4,97
Ц	50%	0,79	0,93
	95%	5,32	4,78
Д	50%	0,82	1,37
	95%	4,61	7,29
Е	50%	0,93	1,01
	95%	4,80	4,90
Ф	50%	0,75	0,69
	95%	3,13	3,30
Г	50%	0,52	0,62
	95%	2,86	3,05
Х	50%	1,05	1,36
	95%	6,44	6,31

## Линеарни опсег

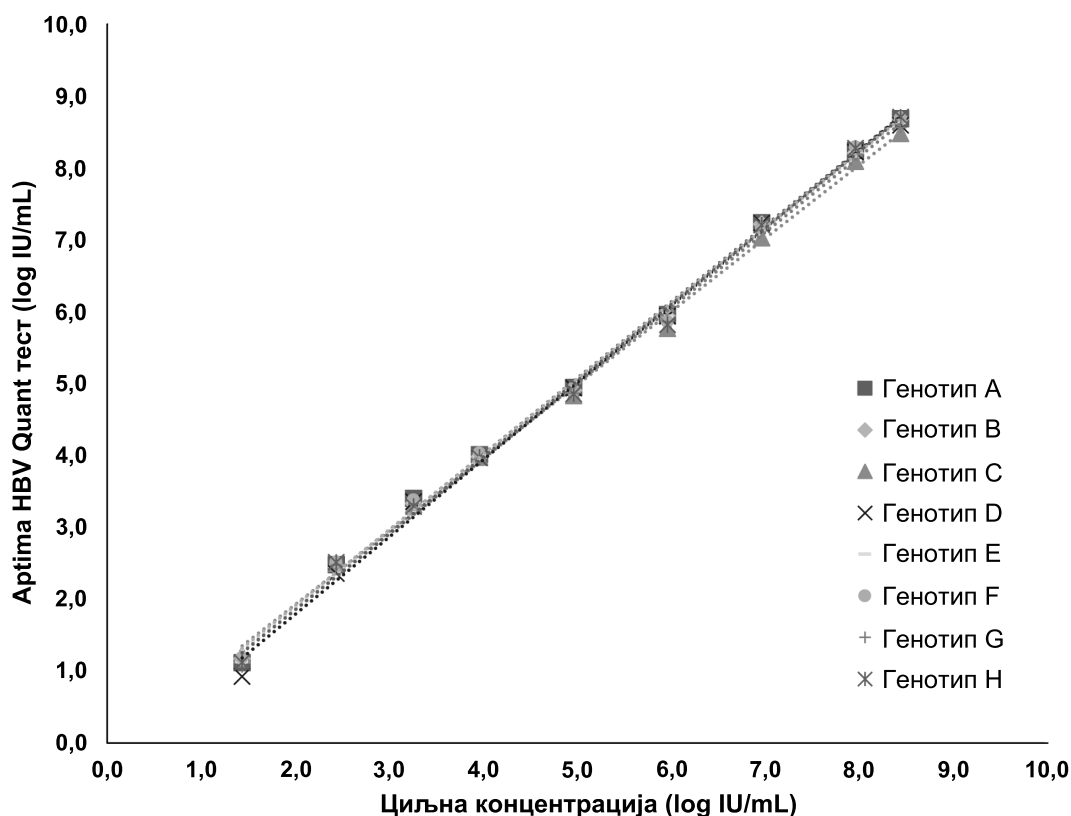
Линеарни опсег је утврђен тестирањем панела HBV DNK разблажене у HBV негативној хуманој плазми и серуму према CLSI EP06-A.<sup>13</sup> Панели су се кретали у концентрацији од 0,86 log IU/mL до 9,26 log IU/mL. Aptima HBV Quant тест је показао линеарност у целом тестираном опсегу, са горњом границом квантитације (ULoQ) од 9 log IU/mL као што је приказано у Слика 6.



Слика 6. Линеарност у плазми и серуму

## Линеарност међу HBV генотиповима

Линеарни одговор за генотипове А, Б, Ц, Д, Е, Ф, Г и Х потврђен је панелима за тестирање HBV DNK разблажене у пуферу у концентрацијама у распону од 1,44 log IU/mL до 8,44 log IU/mL. Линеарност је демонстрирана у читавом опсегу тестираном за све тестиране генотипове као што је приказано у Слика 7.



Слика 7. Линеарност Међу HBV генотиповима А до Х

## Доња граница квантитације коришћењем 3. међународног стандарда WHO

Доња граница квантификације (LLoQ) је дефинисана као најнижа концентрација при којој се HBV DNK поуздано квантификује у оквиру укупне грешке, према CLSI EP17-A2.<sup>12</sup> Укупна грешка је процењена помоћу две методе: Укупна аналитичка грешка (TAE) = |пристрасност| + 2SD, и Укупна грешка (TE) = SQRT(2) x 2SD. Да би се осигурала тачност и прецизност мерења, укупна грешка Aptima HBV Quant теста је постављена на 1 log IU/mL (тј., на LLoQ, разлика између два мерења од више од 1 log IU/mL је статистички значајна).

LLoQ је одређен панелима за тестирање 3. међународног стандарда WHO за DNK вируса хепатитиса (NIBSC 10/264)<sup>14</sup> разблаженог у HBV негативној хуманој плазми и серуму. Минимално 45 понављања сваког разблажења је тестирано са сваком од три серије реагенса за најмање 135 понављања по разблажењу. Резултати из серије реагенса са највећом концентрацијом која задовољава TE и TAE захтеве су приказани у Табела 7. Израчунати LLoQ за трећи међународни стандард WHO за вирус хепатитиса В је 4,80 IU/mL за плазму и 6,34 IU/mL за серум.

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

Серија реагенса	Циљана концентрација		Aptima HBV Quant	SD	Пристрасност	Израчунати ТЕ	Израчунати TAE
	(IU/mL)	(log IU/mL)	(log IU/mL)	(log IU/mL)	(log IU/mL)	(log IU/mL)	(log IU/mL)
1	7	0,85	0,63	0,27	0,22	0,75	0,75
	8	0,90	0,68	0,28	0,22	0,78	0,77
	9	0,95	0,79	0,25	0,17	0,70	0,66
2	7	0,85	0,48	0,20	0,37	0,57	0,77
	8	0,90	0,47	0,18	0,44	0,51	0,79
	9	0,95	0,61	0,19	0,34	0,54	0,73
3	7	0,85	0,53	0,21	0,32	0,59	0,74
	8	0,90	0,52	0,21	0,38	0,61	0,81
	9	0,95	0,70	0,23	0,25	0,65	0,71

SD=стандардна девијација.

Табела 6: Одређивање LLoQ-а коришћењем 3. међународног стандарда WHO за HBV разблажен у серуму

Серија реагенса	Циљана концентрација		Aptima HBV Quant	SD	Пристрасност	Израчунати ТЕ	Израчунати TAE
	(IU/mL)	(log IU/mL)	(log IU/mL)	(log IU/mL)	(log IU/mL)	(log IU/mL)	(log IU/mL)
1	7	0,85	0,77	0,38	0,08	1,06	0,83
	8	0,90	0,80	0,31	0,10	0,88	0,72
	9	0,95	0,91	0,27	0,05	0,77	0,59
2	7	0,85	0,57	0,20	0,28	0,57	0,68
	8	0,90	0,70	0,22	0,20	0,63	0,64
	9	0,95	0,69	0,23	0,27	0,66	0,73
3	7	0,85	0,65	0,24	0,20	0,67	0,67
	8	0,90	0,65	0,24	0,25	0,68	0,73
	9	0,95	0,67	0,22	0,28	0,63	0,73

SD=стандардна девијација.

Табела 7: Резиме израчунатог LLoQ-а коришћењем 3. међународног стандарда WHO за HBV

Серија реагенса	Плазма LLoQ		Серум LLoQ	
	(log IU/mL)	(IU/mL)	(log IU/mL)	(IU/mL)
1	0,68	4,80	0,80	6,34
2	0,61	4,09	0,57	3,72
3	0,52	3,34	0,65	4,51

SD=стандардна девијација.

### Одређивање доње границе квантификације за HBV генотипове

LLoQ је одређен тестирањем разблажења HBV позитивних клиничких узорака за генотипове А, Б, Ц, Д, Е, Ф, Г и Х у HBV негативној хуманој плазми и серуму. Најмање 36 понављања сваког члана панела је тестирано са сваком од две серије реагенса за најмање 72 понављања по члану панела. Резултати из серије реагенса са највећом концентрацијом која испуњава захтеве ТЕ и ТАЕ приказани су у Табела 8 за плазму и Табела 9 за серум. Израчунати LLoQ за генотипове А, Б, Ц, Д, Е, Ф, Г и Х у плазми и серуму су сумирани у Табела 10. Ово је утврдило укупни LLoQ за тест као 10 IU/mL.

Табела 8: Одређивање LLoQ међу генотиповима у плазми

Генотип	Циљана концентрација		Aptima HBV Quant	SD	Пристрасност	Израчунати ТЕ	Израчунати ТАЕ
	(IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/ml)
А	7	0,85	0,86	0,71	0,02	2,01	1,44
	8	0,90	0,76	0,34	0,14	0,96	0,82
	9	0,95	0,95	0,27	0,01	0,76	0,55
Б	7	0,85	0,85	0,36	0,01	1,01	0,72
	8	0,90	0,93	0,24	0,03	0,67	0,51
	9	0,95	0,94	0,23	0,01	0,64	0,46
Ц	7	0,85	0,62	0,22	0,23	0,62	0,67
	8	0,90	0,65	0,25	0,25	0,70	0,75
	9	0,95	0,70	0,21	0,26	0,59	0,67
Д	8	0,90	0,47	0,19	0,43	0,53	0,81
	9	0,95	0,58	0,17	0,38	0,48	0,72
	10	1,00	0,64	0,24	0,36	0,69	0,85
Е	7	0,85	0,59	0,19	0,25	0,53	0,63
	8	0,90	0,59	0,23	0,31	0,66	0,78
	9	0,95	0,68	0,28	0,27	0,80	0,83
Ф	7	0,85	0,92	0,26	0,07	0,74	0,59
	8	0,90	1,09	0,29	0,18	0,83	0,77
	9	0,95	1,04	0,31	0,09	0,89	0,72
Г	7	0,85	0,81	0,27	0,04	0,75	0,57
	8	0,90	0,91	0,26	0,01	0,72	0,52
	9	0,95	0,83	0,26	0,12	0,74	0,64
Х	7	0,85	0,65	0,25	0,19	0,71	0,69
	8	0,90	0,67	0,24	0,23	0,68	0,71
	9	0,95	0,62	0,21	0,33	0,59	0,75

SD=стандардна девијација.

Табела 9: Одређивање LLoQ међу генотиповима у серуму

Генотип	Циљана концентрација		Aptima HBV Quant	SD	Пристрасност	Израчунати ТЕ	Израчунати ТАЕ
	(IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/ml)
А	7	0,85	0,67	0,28	0,18	0,79	0,74
	8	0,90	0,80	0,34	0,10	0,96	0,78
	9	0,95	0,83	0,26	0,12	0,74	0,65
Б	7	0,85	0,56	0,19	0,29	0,54	0,67
	8	0,90	0,71	0,22	0,20	0,62	0,63
	9	0,95	0,59	0,21	0,36	0,59	0,78
Ц	7	0,85	0,64	0,27	0,20	0,77	0,75
	8	0,90	0,75	0,25	0,15	0,70	0,64
	9	0,95	0,79	0,21	0,16	0,58	0,57
Д	8	0,90	0,42	0,14	0,48	0,40	0,76
	9	0,95	0,47	0,18	0,49	0,51	0,84
	10	1,00	0,60	0,23	0,40	0,64	0,85
Е	7	0,85	0,56	0,24	0,29	0,69	0,78
	8	0,90	0,63	0,18	0,27	0,50	0,63
	9	0,95	0,67	0,25	0,28	0,70	0,78
Ф	7	0,85	0,88	0,21	0,03	0,60	0,46
	8	0,90	0,90	0,29	0,01	0,81	0,58
	9	0,95	0,98	0,24	0,02	0,67	0,49
Г	7	0,85	0,82	0,24	0,03	0,67	0,50
	8	0,90	0,90	0,25	0,01	0,70	0,50
	9	0,95	1,01	0,23	0,05	0,64	0,51
Х	8	0,90	0,69	0,29	0,21	0,81	0,78
	9	0,95	0,77	0,26	0,19	0,74	0,71
	10	1,00	0,78	0,28	0,22	0,80	0,79

SD=стандардна девијација.

Табела 10: Резиме LLoQ-а међу генотиповима у плазми и серуму

Генотип	Плазма LLoQ		Серум LLoQ	
	(log IU/mL)	(IU/mL)	(log IU/mL)	(IU/mL)
А	0,95	8,90	0,83	6,79
Б	0,93	8,60	0,56	3,59
Ц	0,62	4,14	0,64	4,38
Д	0,64	4,32	0,60	4,01
Е	0,59	3,91	0,56	3,60
Ф	0,92	8,25	0,88	7,56
Г	0,81	6,42	0,82	6,55
Х	0,62	4,20	0,78	6,01

## Репродуцибилност

Да би се проценила репродуктивност, панел од 28 чланова је направљен разблаживањем HBV позитивних клиничких узорака (генотип А и Ц) или додавањем HBV DNK (генотип А и Ц) у HBV негативну плазму и серум. Панел су тестирала три оператора користећи три серије реагенса на три Panther система током 20 или више дана тестирања.

Табела 11 и Табела 12 показују поновљивост резултата теста (у log IU/mL) између инструмената, између оператора, између серија, између серија, унутар циклуса и свеукупно. Укупна варијабилност је првенствено била последица варијабилности унутар серије (тј. случајна грешка).

Табела 11: Репродуцибилност Aptima HBV Quant теста за генотип А

Матрица	N	Средња концентрација (log IU/mL)	Интер-оператер		Интер-инструмент		Inter-серија		Inter-покретање		Intra-покретање		Укупно	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Плазма	161	1,24	0,02	1,96	0,02	1,75	0,10	7,88	0,02	1,50	0,21	16,80	0,23	18,80
Плазма	162	1,97	0,01	0,75	0,01	0,71	0,08	3,84	0,02	0,76	0,14	7,36	0,17	8,40
Плазма	162	3,23	0,01	0,29	0,01	0,24	0,04	1,39	0,01	0,22	0,08	2,47	0,09	2,87
Плазма	162	4,14	0,03	0,76	0,01	0,28	0,04	0,90	0,01	0,15	0,06	1,38	0,08	1,84
Плазма	162	5,75	0,02	0,39	0,01	0,20	0,06	0,97	0,01	0,13	0,09	1,51	0,11	1,85
Плазма	162	6,98	0,05	0,79	0,03	0,48	0,06	0,91	0,01	0,11	0,09	1,35	0,13	1,87
Плазма	162	7,69	0,03	0,38	0,02	0,23	0,01	0,15	0,01	0,12	0,10	1,30	0,11	1,39
Серум	160	1,17	0,02	1,93	0,02	1,71	0,06	5,54	0,02	1,64	0,20	17,07	0,21	18,21
Серум	162	1,82	0,02	1,15	0,01	0,79	0,10	5,43	0,01	0,72	0,15	8,13	0,18	9,90
Серум	162	3,16	0,01	0,26	0,02	0,62	0,09	2,78	0,02	0,59	0,11	3,38	0,14	4,47
Серум	162	4,06	0,01	0,19	0,01	0,22	0,04	0,99	0,01	0,15	0,07	1,68	0,08	1,98
Серум	162	5,60	0,02	0,36	0,01	0,24	0,06	1,15	0,01	0,22	0,13	2,40	0,15	2,70
Серум	162	6,30	0,03	0,49	0,03	0,42	0,01	0,17	0,01	0,16	0,11	1,77	0,12	1,90
Серум	162	7,48	0,05	0,62	0,03	0,36	0,02	0,25	0,02	0,23	0,08	1,09	0,10	1,35

CV=коэффициент варијације, SD=стандардна девијација.

**Напомена:** Варијабилност неких фактора може бити бројчано негативна, што се може десити ако је варијабилност због тих фактора веома мала. Када се то догоди, SD и CV се приказују као 0.

Табела 12: Репродуцибилност Aptima HBV Quant теста за генотип C

Матрица	N	Средња концентрација (log IU/mL)	Интер-оператер		Интер-инструмент		Inter-серија		Интер-покретање		Intra-покретање		Укупно	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Плазма	161	1,28	0,02	1,73	0,02	1,40	0,07	5,39	0,02	1,28	0,18	14,32	0,20	15,52
Плазма	162	1,98	0,02	0,79	0,01	0,68	0,08	4,02	0,01	0,61	0,14	6,91	0,16	8,08
Плазма	162	3,23	0,01	0,31	0,01	0,39	0,05	1,49	0,01	0,18	0,06	1,97	0,08	2,52
Плазма	162	4,13	0,01	0,18	0,01	0,29	0,04	0,90	0,01	0,15	0,07	1,69	0,08	1,95
Плазма	162	5,78	0,01	0,14	0,02	0,41	0,06	1,04	0,01	0,16	0,10	1,70	0,12	2,05
Плазма	162	6,83	0,01	0,20	0,03	0,42	0,03	0,42	0,01	0,08	0,06	0,93	0,08	1,13
Плазма	162	7,75	0,03	0,33	0,02	0,19	0,02	0,24	0,01	0,08	0,07	0,94	0,08	1,04
Серум	160	1,20	0,02	1,54	0,02	1,55	0,05	4,24	0,02	1,78	0,18	14,74	0,19	15,59
Серум	162	1,90	0,02	1,20	0,02	0,87	0,05	2,73	0,01	0,72	0,15	8,10	0,17	8,71
Серум	162	3,19	0,03	0,93	0,03	0,92	0,05	1,68	0,00	0,05	0,07	2,34	0,10	3,16
Серум	162	4,04	0,01	0,14	0,01	0,31	0,04	0,94	0,00	0,12	0,05	1,30	0,07	1,64
Серум	162	5,69	0,01	0,16	0,02	0,36	0,05	0,88	0,01	0,13	0,09	1,50	0,10	1,78
Серум	162	6,32	0,04	0,64	0,03	0,45	0,04	0,66	0,01	0,14	0,10	1,57	0,12	1,87
Серум	162	7,23	0,04	0,55	0,02	0,25	0,05	0,68	0,01	0,13	0,10	1,42	0,12	1,69

CV=коэффициент варијације, SD=стандардна девијација.

**Напомена:** Варијабилност неких фактора може бити бројчано негативна, што се може десити ако је варијабилност због тих фактора веома мала. Када се то догоди, SD и CV се приказују као 0.

## Потенцијално ометајуће супстанце

Процењена је осетљивост Aptima HBV Quant теста на интерференције повишених нивоа ендогених супстанци или лекова који се обично преписују особама зараженим HBV. Тестирани су HBV негативни узорци плазме и узорци са HBV до концентрације од 4,3 log IU/mL HBV DNK.

У присуству албумина (90 mg/mL), хемоглобина (5 mg/mL), триглицерида (30 mg/mL) или некоњугованог билирубина (0,2 mg/mL) није примећена сметња у перформансама теста.

Клинички узорци плазме пацијената са повишеним нивоима дефинисаних супстанци или пацијената са болестима наведеним у Табела 13 су тестирани Aptima HBV Quant тестом. Није примећено сметње у извођењу теста.

Табела 13: Тестирани типови клиничких узорака

Врсте клиничких узорака	
1	Антинуклеарна антитела (ANA)
2	Реуматоидни фактор (RF)
3	Алкохолна цироза (AC)
4	Алкохолни хепатитис
5	Безалкохолни хепатитис
6	Аутоимунски хепатитис
7	Повишена аланин аминотрансфераза (ALT)
8	Хепатоцелуларни карцином (HCC)
9	Мултипла склероза (MS)
10	Системски еритематозни лупус (SLE)
11	Хиперглобулинемија
12	Пеуматоидни артритис (RA)
13	Anti-Jo1 антитело (JO-1)
14	Вишеструки мијелом (MM)
15	Хемолизован (повишен хемоглобин)
16	Иктерични (повећани билирубин)
17	Липемички (повећани липид)
18	Повишени протеини
19	HBV антитела (вакцинисана)
20	HCV антитела
21	HIV-1 и HIV-2 антитела

У присуству егзогених супстанци наведених у Табела 14 концентрацијама које су најмање три пута веће од  $C_{\max}$  (људска плазма) није примећена сметња у извођењу теста.

Табела 14: Егзогене супстанце

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

### Специфичност

Специфичност је одређена коришћењем 292 свежа и 747 смрзнутих HBV негативних клиничких узорака. Тестирано је укупно 521 узорак плазме и 518 серума. Специфичност је израчуната као проценат HBV негативних узорака са резултатима „Није откривено”. HBV DNK није откривена у 1038 узорака. Специфичност је била 99,9% (1038/1039, 95% CI: 99,5—100%).

Табела 15: Специфичност клиничких узорака плазме и серума

	Свежа плазма	Замрзнута плазма	Укупна плазма	Свежи серум	Замрзнути серум	Укупни серум	Комбиновано
Валидни репликати (n)	145	376	521	147	371	518	1039
Није откривено	145	376	521	147	370	517	1038
<b>Специфичност (95% CI)</b>	100% (97,4—100)	100% (99,0—100)	100% (99,3—100)	100% (97,5—100)	99,7% (98,5—100)	99,8% (98,9—100)	99,9% (99,5—100)

CI=интервал поузданости.

### Аналитичка специфичност

Потенцијална унакрсна реактивност на патогене наведене у Табела 16 је процењена у HBV негативној хуманој плазми у присуству или одсуству 4,3 log IU/mL HBV DNK. Није примећена унакрсна реактивност или интерференција у бактеријски контаминираној плазми или у узорцима од субјеката инфицираних другим патогенима који се преносе крвљу или оних који су примили вакцине против HBV и грипа.

Табела 16: Патогени тестирани на аналитичку специфичност

Микроорганизам/Патоген	Извор	Микроорганизам/Патоген	Извор
Вирус хепатитиса С	Клинички узорак	Хумани херпес вирус типа 8	Течност културе
Вирус хепатитиса А	Клинички узорак	Вирус јапанског енцефалитиса	Асцитичка течност
HBV вакцинисан	Клинички узорак	Murray Valley вирус енцефалитис	Ћелијски лизат
HIV-1 и -2	Клинички узорак	St. Louis вирус енцефалитис	Течност културе
Лимфотропни људски вирус Т ћелије вирус типа 1 и 2	Клинички узорак	Vaccinia вирус	Ћелијски лизат
Parvovirus B19	Клинички узорак	Вирус жуте грознице	Течност културе
Цитомегаловирус	Клинички узорак	<i>Candida albicans</i>	Култура
Денга вирус типа 1-4	Клинички узорак	<i>Chlamydia trachomatis</i>	Култура
Epstein-Barr вирус	Клинички узорак	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	Култура
Вакцинисан од грипа	Клинички узорак	<i>Mycobacterium gordonae</i>	Култура
Људски папилома вирус	Клинички узорак	<i>Mycobacterium smegmatis</i>	Култура
Херпес симплекс вирус 1 и 2	Клинички узорак	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Култура
Рубела вирус	Клинички узорак	<i>Propionibacterium acnes</i>	Култура
Варичела Зостер вирус	Клинички узорак	<i>Staphylococcus aureus</i>	Култура
Вирус са Западног Нила	Клинички узорак	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Култура
ВК људски полимавирус	Ћелијски лизат	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Култура
Људски херпес вирус 6В	Течност културе	<i>Trichomonas vaginalis</i>	Култура

### Поновљивост клиничких узорака

Поновљивост је процењена тестирањем три понављања природно инфицираних HBV позитивних клиничких узорака плазме и серума. Просечна концентрација и стандардна девијација за тестиране узорке плазме и серума приказани су у Табеле 17 и 18, респективно.

Табела 17: Поновљивост клиничких узорака плазме

Узорак плазме	Просечна концентрација (log IU/mL)	SD
1	2,08	0,09
2	2,98	0,01
3	2,45	0,09
4	2,32	0,06
5	2,58	0,08
6	3,60	0,06
7	3,45	0,04
8	3,95	0,04
9	3,81	0,05
10	4,26	0,03
11	5,65	0,07
12	6,32	0,06
13	6,79	0,06
14	7,40	0,05
15	8,17	0,02

SD=стандардна девијација.

Табела 18: Поновљивост клиничких узорака серума

Узорак серума	Просечна концентрација (log IU/mL)	SD
1	1,93	0,17
2	2,29	0,09
3	2,78	0,05
4	1,98	0,06
5	2,53	0,07
6	3,53	0,06
7	3,38	0,03
8	3,77	0,02
9	3,45	0,17
10	4,26	0,04
11	6,31	0,02
12	5,45	0,04
13	5,74	0,08
14	7,44	0,04
15	8,47	0,03

SD=стандардна девијација.

## Разблаживање узорка коришћењем разблаживача узорка

Да би се проценио опоравак HBV DNK у узорцима разблаженим са Aptima разблаживачем узорка, узорци плазме и серума који су обухватили линеарни опсег су разблажени 1:3 са Aptima разблаживачем узорка. Поред тога, природно инфицирани клинички узорци високог титра и узорци са додацима HBV DNK са концентрацијама изнад ULoQ су разблажени 1:100 са Aptima разблаживачем узорка. Сваки узорак је тестиран чист и разблажен (1:3 или 1:100) у три примерка. Разлике између просечне пријављене концентрације (фактора разблажења примењеног на резултат разблаженог узорка) и просечне чисте концентрације приказане су у Табела 19 за плазму и Табела 20 за серум. Концентрације узорка су тачно добијене у разблаженим узорцима.

Табела 19: Разблаживање узорка са Aptima разблаживачем узорка у плазми

Разблаживање	Просечна чиста концентрација (log IU/mL)	Просечна пријављена концентрација <sup>a</sup> (log IU/mL)	Разлика (log IU/mL)
1:3	2,08	1,71	-0,37
	2,98	3,02	0,04
	2,45	2,30	-0,15
	2,32	2,06	-0,26
	2,58	2,46	-0,12
	3,60	3,62	0,02
	3,45	3,36	-0,09
	3,95	3,91	-0,04
	3,81	3,72	-0,09
	4,26	4,24	-0,02
	5,65	5,50	-0,15
	6,32	6,08	-0,24
	6,79	6,40	-0,39
	7,40	7,06	-0,34
	8,17	8,05	-0,12
1:100	8,17	7,82	-0,35
	> 9,00 <sup>b</sup> (10,20 <sup>c</sup> )	10,40	0,20

<sup>a</sup>Пријављена концентрација је вредност израчуната након примене фактора разблажења.

<sup>b</sup>Шилјаста узорак.

<sup>c</sup>Вредност циљне концентрације која је изнад ULoQ.

Табела 20: Разблаживање узорка са Aptima разблаживачем узорка у серуму

Разблаживање	Просечна чиста концентрација (log IU/mL)	Просечна пријављена концентрација <sup>a</sup> (log IU/mL)	Разлика (log IU/mL)
1:3	1,93	1,50	-0,43
	2,29	2,00	-0,29
	2,78	2,45	-0,33
	1,98	1,50	-0,48
	2,53	2,23	-0,30
	3,53	3,59	0,06
	3,38	3,21	-0,17
	3,77	3,68	-0,09
	3,45	3,35	-0,10
	4,26	4,16	-0,10
	6,31	5,98	-0,33
	5,45	5,24	-0,21
	5,74	5,62	-0,12
	7,44	7,19	-0,25
1:100	8,47	8,31	-0,16
	8,47	8,19	-0,28
	> 9,00 <sup>b</sup> (10,20 <sup>c</sup> )	10,43	0,23

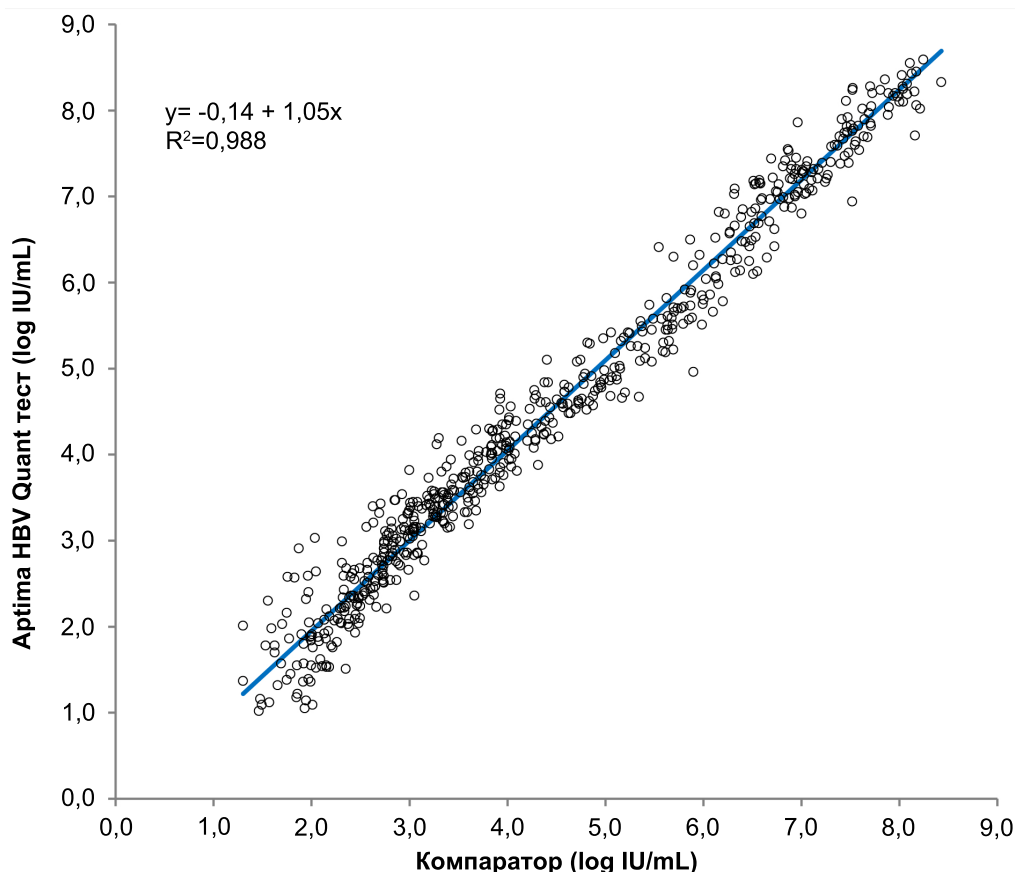
<sup>a</sup>Пријављена концентрација је вредност израчуната након примене фактора разблажења.

<sup>b</sup>Шилџасти узорак.

<sup>c</sup>Вредност циљне концентрације која је изнад ULoQ.

## Корелација метода

Учинак Aptima HBV Quant теста је процењен у односу на СЕ-ознаку и компараторну анализу лиценциране Health Canada тестирањем неразблажених клиничких узорака пацијената инфицираних HBV-ом. Укупно 614 клиничких узорака унутар линеарног опсега заједничког за оба теста коришћено је за линеарну регресију као што је приказано у Слика 8.



Слика 8. Корелација између Aptima HBV Quant теста и компараторног теста

## Преношење

Да би се утврдило да Panther систем минимизира ризик од лажно позитивних резултата који произилазе из контаминације преношења, спроведена је студија коришћењем панела са шилџима на три Panther система. Преношење је процењено коришћењем узорака плазме са високим титаром HBV DNK (8 log IU/mL) измешаних између HBV негативних узорака у шаблону. Тестирање је обављено у петнаест циклуса. Укупна стопа преноса била је 0,0% (0/705).

## Библиографија

1. **Lok AS, McMahon BJ.** AASLD Practice Guideline Update. Chronic Hepatitis B: Update 2009. *Hepatology*. 2009; 50(3):661-662;1-36.
2. **Aspinall EJ, Hawkins G, Fraser A, Hutchinson SJ, Goldberg D.** Hepatitis B prevention, diagnosis, treatment and care: a review. *Occupational Medicine* 2011; 61(8):531-540.
3. **Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health.** Early Identification and Linkage to Care of Persons with Chronic Hepatitis B Virus Infection - Three U.S. Sites, 2012-2014. May 9, 2014, 63(18);399-401.
4. **Liaw YF, Chu CM.** Hepatitis B virus infection. *Lancet*. 2009;373(9663):582-92.
5. **European Association for the Study of the Liver.** EASL Clinical Practice Guidelines: Management of chronic hepatitis B virus infection. *Journal of Hepatology* 2012; 57:167-185.
6. **International Agency for Research on Cancer.** Hepatitis B Virus. IARC Monographs 2012; 100B: 93-133.
7. **Price, J.** An Update on Hepatitis B, D, and E Viruses. *Topics in Antiviral Medicine* 2014; 21(5): 157-163.
8. **Clinical and Laboratory Standards Institute.** 2005. Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods; Approved Guideline. CLSI Document MM13-A. Wayne, PA.
9. **29 CFR Part 1910.1030.** Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens; current version.
10. **Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health.** Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL); current version.
11. **Clinical and Laboratory Standards Institute.** 2002. Clinical Laboratory Waste Management. CLSI Document GP5-A2. Villanova, PA.
12. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2012. Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline—Second Edition. CLSI Document EP17-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
13. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2003. Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline. CLSI document EP06-A. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
14. **NIBSC - Confidence in Biological Medicines.** 2014. Medicines & Healthcare products Regulatory Agency. 3rd WHO International Standard for Hepatitis B Virus for Nucleic Acid Amplification Techniques, NIBSC code: 10/264, Potters Bar, Hertfordshire, ENG.



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



**Hologic BV**  
Da Vincilaan 5  
1930 Zaventem  
Belgium

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

За број телефона и адресу е-поште за техничку подршку и корисничку подршку за специфичну државу, посетите [www.hologic.com/support](http://www.hologic.com/support).

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

Овај производ може бити покривен једним или више америчких патената идентификованих на [www.hologic.com/patents](http://www.hologic.com/patents).

© 2016—2024 Hologic, Inc. Сва права задржана.  
AW-13182-3901 рев. 001  
2024-07