

Aptima™ HBV Quant Assay

Til *in vitro* diagnostisk brug.

Kun til eksport fra USA

| | |
|--|-----------|
| Generel information | 2 |
| Tilsligtet anvendelse | 2 |
| Resumé og forklaring af testen | 2 |
| Funktionsprincipper | 3 |
| Advarsler og forholdsregler | 3 |
| Krav til opbevaring og håndtering af reagenser | 6 |
| Indsamling og opbevaring af prøver | 8 |
| Prøver på Panther System | 11 |
| Prøvetransport | 11 |
| Panther System | 12 |
| Vedlagte reagenser og materialer | 12 |
| Nødvendige materialer, der skal anskaffes separat | 14 |
| Valgfri materialer | 15 |
| Testprocedure til Panther System | 15 |
| Bemærkninger til fremgangsmåden | 19 |
| Kvalitetskontrol | 20 |
| Kalibrering af assay | 20 |
| Negative og positive kontroller | 20 |
| Intern kalibrator/intern kontrol | 20 |
| Fortolkning af resultater | 21 |
| Begrænsninger | 21 |
| Præstation | 22 |
| Detektionsgrænse ved brug af WHO's 3. internationale standard | 22 |
| Detektionsgrænse på tværs af HBV-genotyper | 23 |
| Lineært område | 24 |
| Linearitet på tværs af HBV-genotyper | 25 |
| Nedre kvantiteringsgrænse ved brug af WHO's 3. internationale standard | 25 |
| Bestemmelse af den nedre kvantiteringsgrænse på tværs af HBV-genotyper | 27 |
| Reproducerbarhed | 29 |
| Potentielt interfererende stoffer | 31 |
| Specificitet | 32 |
| Analytisk specificitet | 33 |
| Repeterbarhed af kliniske prøver | 34 |
| Fortynding af prøve ved brug af prøvafortynder | 35 |
| Korrelation mellem metoder | 37 |
| Overførsel | 37 |
| Bibliografi | 38 |

Generel information

Tilsigtet anvendelse

Aptima HBV Quant Assay (Aptima HBV kvantitativ analyse) er en *in vitro* nukleinsyreamplifikationstest til kvantitering af hepatitis B virus (HBV) DNA i humant plasma og serum på det helautomatiske Panther™ System.

Plasma kan klargøres i ethylenediaminetetraacetisk syre (EDTA), antikoagulant citrat dextrose (ACD) opløsning og rør til klargøring af plasma (PPT'er). Serum kan klargøres i serumrør og serumseparatorrør (SSTs). Prøver testes på det helautomatiske Panther System til prøvebehandling, amplifikation og kvantitering. Prøver, som indeholder HBV-genotyper A, B, C, D, E, F, G og H, er godkendt til kvantitering i assayet.

Aptima HBV Quant Assay er beregnet til brug som en hjælp ved håndteringen af patienter med kroniske HBV-infektioner, som behandles med HBV-antivirale lægemidler. Assayet kan anvendes til at måle HBV DNA-niveauer ved baseline og under behandling for at hjælpe med at vurdere viralt respons på behandlingen. Resultaterne fra Aptima HBV Quant Assay skal fortolkes inden for konteksten af alle relevante kliniske resultater og laboratorieresultater.

Aptima HBV Quant Assay er ikke beregnet til brug som en screeningtest i blod eller blodprodukter for HBV eller som en diagnostisk test for at bekræfte forekomsten af HBV-infektion.

Resumé og forklaring af testen

Hepatitis B virus (HBV), ét af flere virus, som er kendt for at forårsage hepatitis, er blevet tillagt livslang HBV-infektion, levercirrhose, levercancer, leversvigt og potentielt dødsfald. Verdenssundhedsorganisationen (WHO) angiver HBV som én af verdens mest almindelige infektionssygdomme. Prævalensen af HBV-infektion og overførselsmetoden varierer i høj grad rundt om i verden. Ca. en tredjedel af verdens befolkning har tegn på tidligere eller nuværende HBV-infektion med kronisk HBV-infektion hos mere end 350 millioner personer i hele verden.^{1,2,3} HBV-infektion medfører øget risiko for hepatisk dekomensation, cirrhose og hepatocellulært karcinom (HCC) med en dødelighed på 0,5 til 1,2 millioner dødsfald og 5-10 % tilfælde af levertransplantation årligt i hele verden.^{4,5} Uden passende behandling, indgreb og monitorering efter diagnosen er den 5-årige kumulative incidens af cirrhose fra 8-20 %. Når der er udviklet cirrhose, er den årlige risiko for hepatocellulært karcinom (HCC) 2-5 %.⁶

HBV indeholder et cirkulært, delvist dobbeltstregnet DNA-genom på ca. 3.200 basepar, som koder for fire delvist overlappende åbne læserammer (ORF) og udtrykker polymerasen, overflade, præ-kerne/kerne og X-proteiner. Den åbne polymerase-læseramme overlapper de øvrige 3 åbne læserammer (ORF'er) og koder for et vigtigt viralt replikations-protein, polymerase. Den åbne overflade-læseramme (ORF) udtrykker tre proteiner, som er essentielle for viral morfogenese, viral indgang i hepatocytter og udløser værtsens immunrespons.⁷ Der er 8 HBV-genotyper (A-H), og de findes typisk i distinkte geografiske områder. På nuværende tidspunkt anvendes kvantitering af HBV DNA til at bestemme, hvilke patienter med kronisk infektion, der skal behandles, til at monitorere respons på behandling og til at vurdere rebounds i viral load, som muligvis kan indicere resistens over for lægemidler.⁵

Aptima HBV Quant Assay er en *in vitro* nukleinsyreamplifikationstest, som anvender realtids transkriptionsmedieret amplifikationsteknologi (TMA) på Panther System til at kvantitere HBV DNA, genotyper A, B, C, D, E, F, G og H. Aptima HBV Quant Assay fokuserer på to stærkt bevarede regioner i polymerase- og overfladegener (for øget tolerance over for potentielle mutationer). Assayet er standardiseret i henhold til WHO's 3. internationale standard for Hepatitis B virus (NIBSC-kode: 10/264).

Funktionsprincipper

Aptima HBV Quant Assay omfatter tre primære trin, som alle finder sted i et enkelt rør på Panther System: target capture, targetamplifikation med transkriptionsmedieret amplifikation (TMA) og detektion af amplifikationsprodukterne (amplikon) med fluorescensmærkede prober (torches).

Under target capture isoleres virus DNA fra prøverne. Prøven behandles med detergent for at opløse viruskappen, denaturere proteiner og frigøre viralt genomisk DNA. Capture oligonukleotider hybridiserer til stærkt bevarede regioner af HBV DNA, hvis til stede, i testprøven. Det hybridiserede target indfanges derefter på magnetiske mikropartikler, der separeres fra prøven i et magnetisk felt. Vasketrinene fjerner uvedkommende komponenter fra reaktionsrøret.

Targetamplifikation sker via TMA, som er en transkriptionsbaseret nukleinsyreamplifikationsmetode, der benytter to enzymer, Moloney murint leukæmivirus (MMLV) reverse transkriptase og T7 RNA-polymerase. Reverse transkriptase bruges til at danne en DNA-kopi (indeholdende en promotersekvens for T7 RNA-polymerase) af targetsekvensen. T7 RNA-polymerase producerer flere kopier af RNA-amplikon fra DNA-kopiskabelonen. Aptima HBV Quant Assay anvender TMA-metoden til at amplificere to regioner af HBV-genomet (polymerasegen og overfladegen). Amplifikation af disse regioner opnås ved at anvende specifikke primere, udviklet til amplifikation af HBV-genotyper A, B, C, D, E, F, G og H. Dobbelt target-regionsmetoden med primer-design, der er målrettet mod de højest bevarede regioner, sikrer nøjagtig kvantitering af HBV DNA.


Detektion opnås ved brug af enkeltstrengede nukleinsyre-torches, som er til stede under amplifikation af target, og som hybridiserer specifikt til amplikonet i realtid. Hver torch har en fluorofor og en quencher. Når torch'en ikke er hybridiseret til amplikonet, ligger quencheren tæt på fluoroforen og undertrykker fluorescensen. Når torch'en bindes til amplikonet, bevæger quencheren sig længere væk fra fluoroforen og udsender et signal ved en bestemt bølgelængde, når den aktiveres af en lyskilde. Samtidig med at flere torches hybridiserer til amplikonet, dannes der et højere fluorescenssignal. Den tid, det tager fluorescenssignalet at nå en bestemt tærskel, er proportional med den indledende HBV-koncentration. Hver reaktion har en intern kalibrator/intern kontrol (IC), der kontrollerer variationer i prøvebehandling, amplifikation og detektion. En prøves koncentration bestemmes af Panther System softwaren ved at sammenligne HBV- og IC-signalerne for hver reaktion med kalibreringsoplysninger.

Advarsler og forholdsregler

- A. Kun til *in vitro* diagnostisk brug.
- B. For at reducere risikoen for ugyldige resultater skal hele indlægssedlen og *Brugervejledning til Panther System* læses omhyggeligt igennem, før assayet anvendes.
- C. qHBV Target Enhancer-reagens (TER) er ætsende. Se "Vedrørende assay" på side 5 for komplet liste med advarsler.



Vedrørende laboratoriet

-  D. **FORSIGTIG:** Kontrollerne til dette assay indeholder humant plasma. Plasmaet er negativt for hepatitis B overfladeantigen (HBsAg), antistoffer mod HCV, antistoffer mod HIV-1- og HIV-2- og HIV-antigen ved testning med procedurer godkendt af USA's Food and Drug Administration. Plasmaet er endvidere ikke-reaktivt over for HBV DNA, HCV RNA og HIV-1 RNA ved testning med godkendte nukleinsyretests, der benytter poolede prøver. Alle materialer, der stammer fra humant blod, skal anses for at være potentielt smittefarligt og skal håndteres i overensstemmelse med generelle forholdsregler.^{8,9,10}
- E. Kun personale med tilstrækkelig uddannelse i brugen af Aptima HBV Quant Assay og i håndtering af potentielt smittefarlige materialer må udføre denne procedure. Hvis der forekommer spild, skal området straks desinficeres ifølge gældende procedurer på stedet.
- F. Brug kun medfølgende eller specificerede laboratorieartikler til engangsbrug.
- G. Rutinemæssige laboratorieforholdsregler skal følges. Der må ikke pipetteres med munden. Der må hverken spises, drikkes eller ryges i arbejdsområdet. Brug engangshandsker uden pudder, beskyttelsesbriller og laboratoriekittel ved håndtering af prøver og kitreagenser. Vask hænderne grundigt efter håndtering af prøver og kitreagenser.
- H. Arbejdsflader, pipetter og andet udstyr skal regelmæssigt dekontamineres med 2,5 % til 3,5 % (0,35 M til 0,5 M) natriumhypochloritopløsning.
- I. Alle materialer, der har været i kontakt med prøver og reagenser, skal bortskaffes i overensstemmelse med nationale, internationale og regionale bestemmelser.^{8,9,10,11} Rengør og desinficér alle arbejdsflader grundigt.
- J. Kontrollerne indeholder natriumazid som konserveringsmiddel. Brug ikke metalrør til overførsel af reagens. Hvis opløsninger, der indeholder natriumazidforbindelser, skal bortskaffes i en vvs-installation, skal de fortyndes og skylles med rigelige mængder vand fra hanen. Disse forholdsregler anbefales for at undgå ophobning af aflejringer i metalrør, hvor der kan opstå eksplosionsfarlige forhold.
- K. God standardpraksis for molekylærlaboratorier inkluderer miljøovervågning. Til overvågning af miljøet på laboratoriet anbefales følgende:
1. Benyt en podedepind med vatspids og Aptima rør til prøvealiquot (SAT).
 2. Forsyn hvert SAT med en etiket.
 3. Fyld hvert SAT med 1 ml Aptima-prøvefortynder.
 4. Til indsamling af overfladeprøver fugtes en podedepind let med nukleasefrit demineraliseret vand.
 5. Pod den pågældende overflade med en lodret bevægelse fra top til bund. Drej podedepinden ca. en halv omgang, samtidig med at stedet podes.
 6. Placer straks prøven i røret, og hvirvl forsigtigt podedepinden i fortynderen for at ekstrahere potentielt podede materialer. Klem podedepinden op imod siden af transportrøret for at klemme så meget væske ud af den som muligt. Bortskaf podedepinden, og sæt hætte på røret.
 7. Gentag disse trin for de resterende podninger.
 8. Test podningen med et molekylært assay.

Vedrørende prøver

- L. Prøver kan være infektiøse. Overhold de generelle forholdsregler^{8,9,10} ved udførelse af dette assay. Korrekte håndterings- og bortskaffelsesmetoder bør etableres i overensstemmelse med gældende nationale, internationale og regionale bestemmelser.¹¹ Kun personale med tilstrækkelig uddannelse i brugen af Aptima HBV Quant Assay og i håndtering af potentielt smittefarlige materialer må udføre denne procedure.
- M. Under forsendelse af prøver skal korrekte opbevaringsforhold bevares for at sikre prøvens integritet. Prøvestabilitet under forsendelsesforhold, der er anderledes end de anbefalede forhold, er ikke blevet vurderet.
- N. Undgå krydskontaminering under prøvehåndteringstrinnene. Udvis især forsigtighed for at undgå kontaminering fra spredning af aerosoler ved løsning eller fjernelse af hætter fra prøver. Prøver kan indeholde meget høje niveauer af organismer. Pas på, at prøvebeholdere ikke rører hinanden, og bortskaf brugte materialer uden at føre dem hen over åbne beholdere. Skift handsker, hvis de kommer i kontakt med prøvemateriale.

Vedrørende assay

- O. Brug ikke reagenskittet, kalibratoren eller kontrollerne efter udløbsdatoen.
- P. Assayreagenser fra kit med forskellige hovedlotnumre må ikke byttes om med hinanden, blandes eller kombineres. Assayvæsker kan være fra forskellige lotnumre. Kontroller og kalibratoren kan være fra forskellige lotnumre.
- Q. Undgå mikrobiel og nukleasekontaminering af reagenser.
- R. Sæt hætte på, og opbevar alle assayreagenser ved de specificerede temperaturer. Assayets præstation kan påvirkes, hvis der anvendes forkert opbevarede assayreagenser. Se *Krav til opbevaring og håndtering af reagenser* og *Testprocedure til Panther System* for flere oplysninger.
- S. Kombinér ikke assayreagenser og væsker uden specifikke anvisninger. Tilføj ikke yderligere reagens eller væske. Panther System verificerer reagensniveauerne.
- T. Undgå, at target enhancer-reagenset kommer i kontakt med huden, øjnene og slimhinderne. Vask med vand, hvis kontakt med dette reagens forekommer. Fortynd med vand, og følg gældende procedurer på stedet, hvis der forekommer spild af dette reagens.
- U. Visse af reagenserne i dette kit er mærket med risiko- og faresymboler.

Bemærk: Farekommunikation afspejler EU-sikkerhedsdatabladenes (SDS) klassificeringer. For fareoplysninger, der er specifikke for en given region, henvises der til de regionsspecifikke sikkerhedsdatablade i Safety Data Sheet Library (Sikkerhedsdatabladsbiblioteket) på www.hologicsts.com.



HBV VL Kit Controls

Natriumazid 0,2 %
Human Serum 95-100 %



ADVARSEL

H312 – skadeligt ved kontakt med huden
H412 – skadeligt for vandlevende organismer, med langvarige virkninger
P273 – undgå udledning til miljøet
P280 – bær beskyttelseshandsker/beskyttelsestøj/øjenbeskyttelse/ansigtsbeskyttelse

| | |
|--|---|
|   | <p>Target Enhancer Reagent <i>Lithium Hydroxide, Monohydrate 5-10 %</i></p> |
| | <p>FARE H302 – farlig ved indtagelse H314 – forårsager svære hudforbrændinger og øjenskader P260 – undgå indånding af støv/røg/gas/tåge/dampe/spray P280 – bær beskyttelseshandsker/beskyttelsestøj/øjebeskyttelse/ansigtsbeskyttelse P303 + P361 + P353 – HVIS DET KOMMER PÅ HUDEN (eller i håret): Fjern/tag straks alt kontamineret tøj af. Skyl huden under rindende vand P305 + P351 + P338 – HVIS DET KOMMER I ØJNENE: Skyl forsigtigt med vand i flere minutter. Fjern kontaktlinser, hvis de stadig er i øjnene og er nemme at fjerne. Fortsæt med at skylle. P310 – ring omgående til GIFTLINJEN, eller søg læge</p> |

Krav til opbevaring og håndtering af reagenser

A. Følgende tabel viser opbevaringsbetingelser og stabilitet for reagenser, kontroller og kalibrator.

| Reagens | Opbevaring i uåbnet stand | Åbnet kit (rekonstitueret) | |
|--|---------------------------|----------------------------|--|
| | | Opbevaring | Stabilitet |
| qHBV-amplifikationsreagens | 2 °C til 8 °C | | |
| qHBV-amplifikationsrekonstitueringsopløsning | 2 °C til 8 °C | 2 °C til 8 °C | 30 dage ^a |
| qHBV-enzymreagens | 2 °C til 8 °C | | |
| qHBV-enzymrekonstitueringsopløsning | 2 °C til 8 °C | 2 °C til 8 °C | 30 dage ^a |
| qHBV-promoterreagens | 2 °C til 8 °C | | |
| qHBV-promoterrekonstitueringsopløsning | 2 °C til 8 °C | 2 °C til 8 °C | 30 dage ^a |
| qHBV-target capture reagens | 2 °C til 8 °C | 2 °C til 8 °C | 30 dage ^a |
| qHBV PCAL (positiv kalibrator) | -15 °C til -35 °C | 15 °C til 30 °C | Hætteglas til engangsbrug Bruges inden 24 timer |
| qHBV NC CONTROL – (negativ kontrol) | -15 °C til -35 °C | 15 °C til 30 °C | Hætteglas til engangsbrug Bruges inden 24 timer |
| qHBV LPC CONTROL + (lav positiv kontrol) | -15 °C til -35 °C | 15 °C til 30 °C | Hætteglas til engangsbrug Bruges inden 24 timer |
| qHBV HPC CONTROL + (høj positiv kontrol) | -15 °C til -35 °C | 15 °C til 30 °C | Hætteglas til engangsbrug Bruges inden 24 timer |
| qHBV Target Enhancer-reagens | 15 °C til 30 °C | 15 °C til 30 °C | 30 dage ^a |

^a Når reagenserne fjernes fra Panther System, skal de straks returneres til deres korrekte opbevaringstemperaturer.

- B. Bortskaf alle ubrugte rekonstituerede reagenser, target capture reagens (TCR) og target enhancer-reagens (TER) efter 30 dage eller efter hovedlottets udløbsdato, alt efter hvilket, der kommer først.
- C. Reagenser opbevaret i Panther System er stabile i 72 timer i systemet. Reagenser kan sættes i Panther System op til 5 gange. Panther System registrerer hver gang, der isættes reagenser.
- D. Efter kalibratoren er optøet, skal opløsningen være klar, dvs. den må ikke være uklar eller have udfældninger.
- ⚠ E. Promoterreagens og rekonstitueret promoterreagens er lysfølsomme. Beskyt disse reagenser mod lys under opbevaring og klargøring til brug.
- F. qHBV Target Enhancer-reagenset skal være fra 15 °C til 30 °C før brug.

Indsamling og opbevaring af prøver

Bemærk: Håndtér alle prøver, som om de indeholder potentielt smitsomme stoffer. Overhold de generelle forholdsregler.

Bemærk: Udvis forsigtighed for at undgå krydskontaminering under prøvehåndtering. Bortskaf fx brugte materialer uden at føre dem hen over åbne rør.

Bemærk: Der må kun bruges sekundærplastrør til opbevaring.

Helblodsprøver opsamlet i følgende typer glas- eller plastrør må anvendes:

- Rør, der indeholder EDTA eller ACD-antikoagulans
- Plasma-forberedelsesglas (Plasma Preparation Tubes, PPT'er)
- Serumrør
- Serumseparatorrør (SST'er)

Ved serum skal der være dannet koagel, inden behandlingen fortsættes.

A. Indsamling af prøver

Helblod kan lagres ved 2 °C til 30 °C og skal centrifugeres inden for 24 timer fra prøvetagningen. Plasma eller serum skal separeres fra de pelletterede røde blodlegemer ifølge brugsanvisningen fra producenten af det anvendte rør. Plasma eller serum kan testes på Panther-systemet i et primærrør eller overføres til et sekundærrør, f.eks. et Aptima-rør til prøvealiquot (SAT). Den minimale volumen af serum eller plasma for primærprøvetagningsrør er 1200 µl, og for sekundærprøvetagningsrør er den minimale volumen 700 µl for at kunne opnå et reaktionsvolumen på 500 µl. Nedenstående tabel angiver kravene til dødvolumen for hver type primær- og sekundærrør.

| Rør (størrelse og type) | Dødvolumen på Panther |
|-----------------------------------|-----------------------|
| Aptima-rør til prøvealiquot (SAT) | 0,2 ml |
| 12 x 75 mm | 0,5 ml |
| 13 x 100 mm | 0,5 ml |
| 13 x 100 mm med gel | 0,3 ml |
| 16 x 100 mm med gel | 0,7 ml |

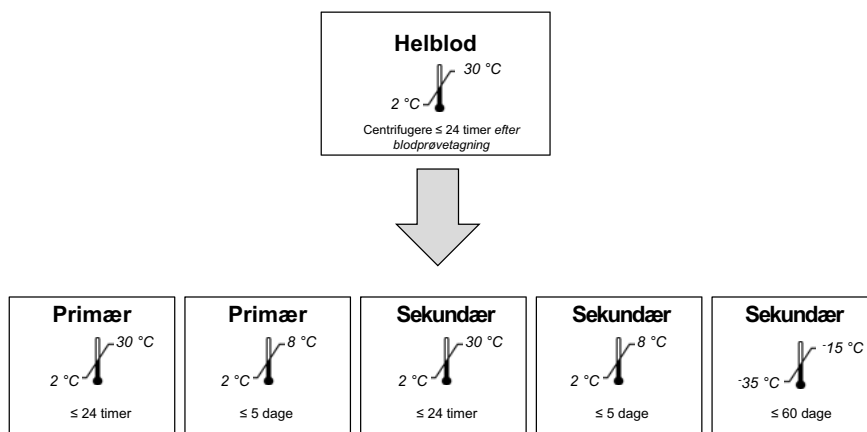
Hvis det ikke skal testes med det samme, kan plasma og serum lægges til opbevaring i overensstemmelse med nedenstående specifikationer. Hvis plasma eller serum overføres til et sekundærrør, kan det nedfryses til -20 °C. Overstig ikke 3 nedfrysings-/optøningscyklusser. Nedfrys ikke prøver i EDTA, ACD eller primære prøvetagningsrør til serum.

B. Betingelser for opbevaring af prøver

1. Plasmaprøver i EDTA og ACD

Helblod kan lagres ved 2 °C til 30 °C og skal centrifugeres inden for 24 timer fra prøvetagningen. Plasma kan derefter opbevares under én af de følgende betingelser:

- I primærprøvetagningsrør eller sekundærrør ved 2 °C til 30 °C i op til 24 timer
- I primærprøvetagningsrør eller sekundærrør ved 2 °C til 8 °C i op til 5 dage eller
- I sekundærrør ved -20 °C i op til 60 dage.

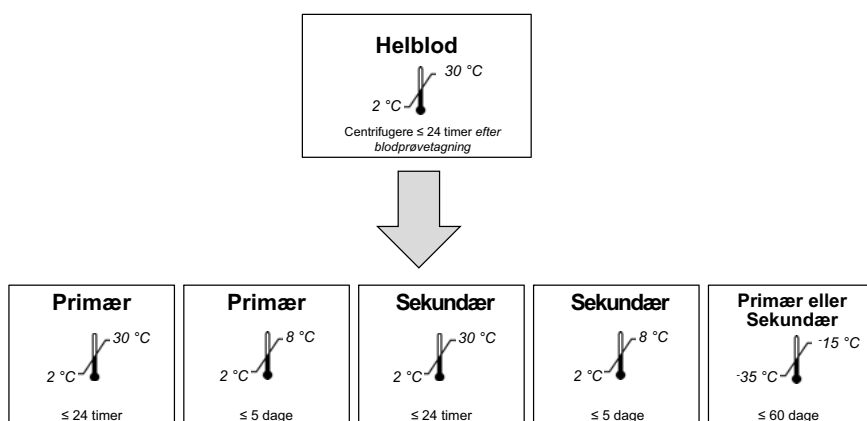


Figur 1. Betingelser for opbevaring af EDTA-/ACD-rør

2. PPT-prøver

Helblod kan lagres ved 2 °C til 30 °C og skal centrifugeres inden for 24 timer fra prøvetagningen. Plasma kan derefter opbevares under én af de følgende betingelser:

- I PPT eller sekundærrør ved 2 °C til 30 °C i op til 24 timer
- I PPT eller sekundærrør ved 2 °C til 8 °C i op til 5 dage eller
- I PPT eller sekundærrør ved -20 °C i op til 60 dage.

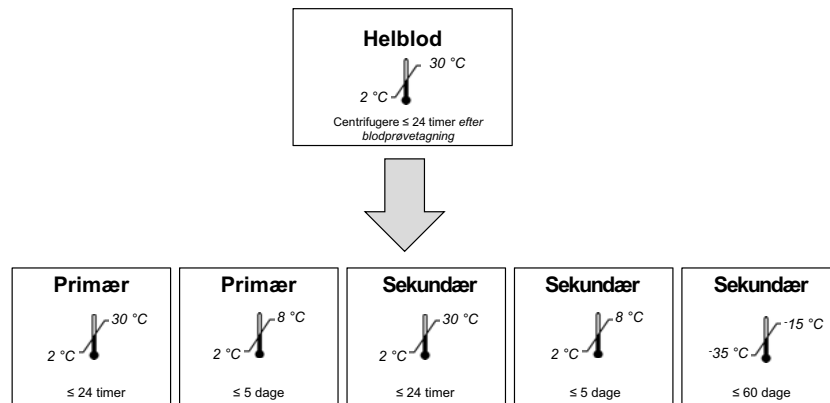


Figur 2. Opbevaringsbetingelser for PPT'er

3. Prøver i serumrør

Helblod kan lagres ved 2 °C til 30 °C og skal centrifugeres inden for 24 timer fra prøvetagningen. Serum kan derefter opbevares under én af de følgende betingelser:

- I serumrøret eller sekundærrør ved 2 °C til 30 °C i op til 24 timer
- I serumrøret eller sekundærrør ved 2 °C til 8 °C i op til 5 dage eller
- I sekundærrør ved -20 °C i op til 60 dage.

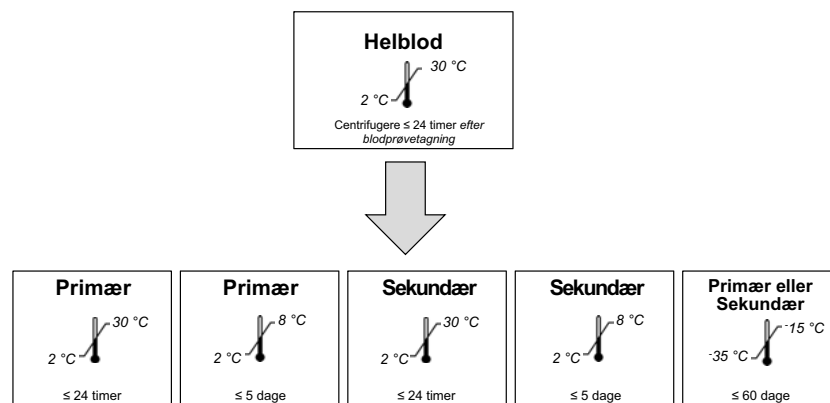


Figur 3. Opbevaringsbetingelser for serumrør

4. SST-prøver

Helblod kan lagres ved 2 °C til 30 °C og skal centrifugeres inden for 24 timer fra prøvetagningen. Serum kan derefter opbevares under én af de følgende betingelser:

- I SST eller sekundærrør ved 2 °C til 30 °C i op til 24 timer
- I SST eller sekundærrør ved 2 °C til 8 °C i op til 5 dage eller
- I SST eller sekundærrør ved -20 °C i op til 60 dage.



Figur 4. Opbevaringsbetingelser for SSTs

C. Langtidsopbevaring i frossen tilstand

Plasma- eller serumprøver kan opbevares ved -65 °C til -85 °C i op til 60 dage i SAT'er.

D. Fortynding af plasma- og serumprøver

Plasma- og serumprøver kan fortyndes i SAT eller et sekundærrør med henblik på testning på Panther-systemet. Se *Testprocedure til Panther System*, paragraf E "Håndtering af prøver", trin 6 herunder for flere oplysninger.

Bemærk: Hvis en prøve fortyndes, skal den testes straks efter fortyndingen. En fortyndet prøve må ikke nedfryses.

Prøver på Panther System

Prøver kan efterlades på Panther System uden hætte i op til 8 timer i alt. Prøver kan fjernes fra Panther System og testes, så længe den samlede tid på systemet ikke overstiger 8 timer, før Panther System pipetterer prøven.

Prøvetransport

Overhold betingelserne for opbevaring af prøver, som beskrevet i *Indsamling og opbevaring af prøver*.

Bemærk: Prøver skal forsendes i henhold til gældende nationale, internationale og regionale transportregulativer.

Panther System

Reagenserne til Aptima HBV Quant Assay er angivet herunder for Panther System. Reagensidentifikationssymbolerne er ligeledes angivet ved siden af reagensbetegnelsen.

Vedlagte reagenser og materialer

Bemærk: For oplysninger om enhver fare og sikkerhedserklæringer, der kan være tilknyttet reagenser, henvises til Safety Data Sheet Library (Arkivet med sikkerhedsdataark) på www.hologic.com/sds.

Aptima HBV Quant Assay Kit, 100 tests (kat. nr. PRD-03424)
(1 assayæske, 1 kalibratorkit og 1 kontrolkit og 1 æske med Target Enhancer-reagens)

Der kan bestilles ekstra kalibratorer og kontroller separat. Se de enkelte katalognumre nedenfor.

Aptima HBV Quant Assay-æske
(opbevares ved 2 °C til 8 °C ved modtagelsen)

| Symbol | Komponent | Kvantitet |
|-------------|--|-------------|
| A | qHBV-amplifikationsreagens <i>Ikke-infektiose nukleinsyrer tørret i bufferopløsning.</i> | 1 hætteglas |
| E | qHBV-enzymreagens <i>Reverse transkriptase og RNA-polymerase tørret i HEPES-bufferopløsning.</i> | 1 hætteglas |
| PRO | qHBV-promoterreagens <i>Ikke-infektiose nukleinsyrer tørret i bufferopløsning.</i> | 1 hætteglas |
| AR | qHBV-amplifikationsrekonstitueringsopløsning <i>Vandig opløsning indeholdende glycerol og konserveringsmidler.</i> | 1 x 7,2 ml |
| ER | qHBV-enzymrekonstitueringsopløsning <i>HEPES-bufferopløsning, der indeholder et overfladeaktivt stof og glycerol.</i> | 1 x 5,8 ml |
| PROR | qHBV-promoterrekonstitueringsopløsning <i>Vandig opløsning indeholdende glycerol og konserveringsmidler.</i> | 1 x 4,5 ml |
| TCR | qHBV-target capture reagens <i>Nukleinsyrer i en buffersaltopløsning indeholdende fastfase, ikke-infektiose nukleinsyrer og intern kalibrator.</i> | 1 x 72,0 ml |
| | Rekonstitueringsmanchetter | 3 |
| | Stregkodeliste for hovedlot | 1 liste |

Aptima HBV Quant kalibratorkit (kat. nr. PRD-03425)

(opbevares ved -15 °C til -35 °C ved modtagelsen)

| Symbol | Komponent | Kvantitet |
|--------|--|------------|
| PCAL | qHBV-positiv kalibrator <i>Plasmid DNA i bufferopløsning</i> | 5 x 2,5 ml |
| | Kalibratorens stregkode | — |

Aptima HBV Quant kontrolkit (kat. nr. PRD-03426)

(opbevares ved -15 °C til -35 °C ved modtagelsen)

| Symbol | Komponent | Kvantitet |
|--------|--|------------|
| NC | qHBV-negativ kontrol <i>HBV-negativt defibrineret humant plasma indeholdende gentamicin og 0,2 % natriumazid som konserveringsmidler.</i> | 5 x 0,8 ml |
| LPC | qHBV lav positiv kontrol <i>Inaktiveret HBV-positivt plasma i defibrineret humant plasma indeholdende gentamicin og 0,2 % natriumazid som konserveringsmidler.</i> | 5 x 0,8 ml |
| HPC | qHBV høj positiv kontrol <i>Inaktiveret HBV-positivt plasma i defibrineret humant plasma indeholdende gentamicin og 0,2 % natriumazid som konserveringsmidler.</i> | 5 x 0,8 ml |
| | Kontrollens stregkode | — |

Aptima HBV Quant Æske med Target Enhancer-reagens

(opbevares ved 15 °C til 30 °C ved modtagelsen)

| Symbol | Komponent | Kvantitet |
|--------|---|-------------|
| TER | qHBV Target Enhancer-reagens <i>En koncentreret opløsning af lithiumhydroxidopløsning</i> | 1 x 46,0 ml |

Nødvendige materialer, der skal anskaffes separat

Bemærk: For materialer, der fås fra Hologic, er katalognummeret anført, medmindre andet er angivet.

| Materiale | Kat. nr. |
|---|------------------------|
| Panther System | — |
| Panther Run Kit for Real Time Assays (Panther-kørselskit til realtids assays) (kun til realtids assays) | PRD-03455 (5000 tests) |
| <i>Aptima Assay Fluids Kit (også kendt som Universal Fluids Kit)</i> <i>indeholder Aptima Wash Solution, Aptima buffer for Deactivation Fluid og</i> <i>Aptima Oil Reagent</i> | 303014 (1000 tests) |
| <i>Multireagensglasenheder (Multi-tube units, MTU'er)</i> | 104772-02 |
| <i>Panther affaldspose kit</i> | 902731 |
| <i>Panther afdækningsstykke til affaldsbeholder</i> | 504405 |
| Eller Panther System Run Kit (Panther System kørselskit) <i>(ved kørsel af ikke-realtids TMA assays parallelt med realtids TMA assays)</i> <i>indeholder MTU'er, affaldsposer, afdækningsstykker til affaldsbeholder,</i> <i>automatisk detektion og assayvæsker</i> | 303096 (5000 tests) |
| Spidser, 1000 µl ledende, væskeregistrerende | 10612513 (Tecan) |
| 5 % til 7 % (0,7 M til 1,0 M) natriumhypochloritopløsning | — |
| Handsker uden pudder, til engangsbrug | — |
| Udskiftningshætter til reagens <i>Flasker til rekonstituering af amplifikations-, enzym- og promoterreagens CL0041 (100 hætter)</i> | |
| <i>TCR-flaske</i> | CL0040 (100 hætter) |
| <i>TER-flaske</i> | 501604 (100 hætter) |
| Beskyttelsepapir til laboratoriebænk med plastikbagside | — |
| Fnugfri servietter | — |
| Pipette | — |
| Spidser | — |
| Der kan anvendes følgende primærprøvetagningsrør: | |
| <i>13 mm x 100 mm</i> | — |
| <i>13 mm x 75 mm</i> | — |
| <i>16 mm x 100 mm</i> | — |
| Centrifuge | — |
| Vortexmixer | — |

Valgfri materialer

| Materiale | Kat. nr. |
|---|-----------|
| Der kan anvendes følgende sekundærrør: | |
| 12 mm x 75 mm | — |
| 13 mm x 100 mm | — |
| 16 mm x 100 mm | — |
| Aptima-rør til prøvealiquot (SATs) (100 stk.) | 503762 |
| Hætte til transportrør (100 stk.) hætte til SAT | 504415 |
| Aptima prøvfortynder | PRD-03003 |
| Aptima prøvfortynderkit indeholder prøvfortynding, 100 SAT'er og 100 hætter | PRD-03478 |
| Overførselspipetter | — |
| Kommercielt tilgængelige paneler, fx: HBV-paneler fra Quality Control for Molecular Diagnostics (Kvalitetskontrol for molekylær diagnostik (QCMD)) | — |
| Podepinde med vatspids | — |
| Vendeapparat | — |

Testprocedure til Panther System

Bemærk: Se Brugervejledning til Panther System for yderligere oplysninger om proceduren.

A. Klargøring af arbejdsområde

1. Rengør de arbejdsoverflader, hvor reagenser skal klargøres. Tør arbejdsoverfladerne af med 2,5 % til 3,5 % (0,35 M til 0,5 M) natriumhypochloritopløsning. Lad natriumhypochloritopløsningen blive på overfladerne i mindst 1 minut, og skyl dernæst efter med deioniseret (DI) vand. Natriumhypochloritopløsningen må ikke tørre. Dæk bordoverfladen med rene, absorberende afdækningsstykker med plastbagbeklædning til laboratorieborde.
2. Rengør en separat arbejdsflade, hvor prøverne skal klargøres. Følg proceduren, beskrevet herover (trin A.1).
3. Rengør eventuelle pipetter. Følg rengøringsproceduren, beskrevet herover (trin A.1).

B. Klargøring af kalibrator og kontroller

Lad kalibratoren og kontrollerne nå 15 °C til 30 °C før følgende behandling:

1. Fjern kalibrator og kontroller fra opbevaring (-15 °C til -35 °C), og placér dem i temperaturer fra 15 °C til 30 °C. Vend forsigtigt op og ned på hvert rør under optøningen, så de blandes grundigt. Sørg for, at rørenes indhold er tørt helt op inden brug.

Valgmulighed. Kalibrator og kontrolrør kan lægges i et vendeapparat, så de blandes grundigt. Sørg for, at rørenes indhold er tørt helt op inden brug.

Bemærk: Sørg for, at der ikke dannes for kraftigt skum, når kalibratoren og kontrollerne vendes op og ned. Skum påvirker niveauregistreringen i Panther System.

2. Når rørets indhold er tøet op, skal ydersiden af røret tørres af med en ren og tør engangsserviet.
3. Åbn ikke rørene endnu for at undgå kontamination.

C. Reagensrekonstituering/klargøring af et nyt kit

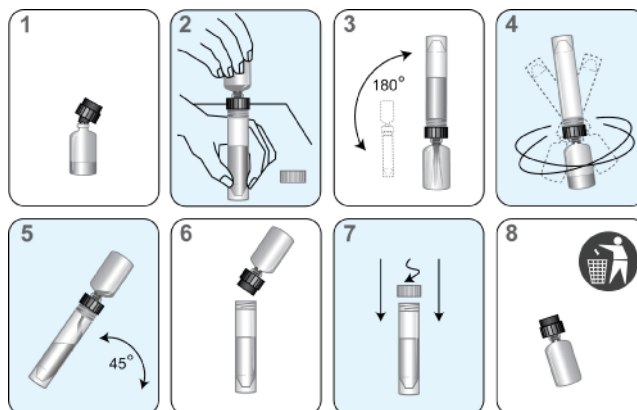
Bemærk: Rekonstituering af reagenser bør udføres, inden der påbegyndes arbejde på Panther System.

1. Target capture reagens (TCR) klargøres på følgende måde:
 - a. Fjern TCR fra opbevaring (2 °C til 8 °C). Kontrollér lotnummeret på TCR-flasken for at sikre, at det stemmer overens med lotnummeret på stregkodelisten for hovedlot.
 - b. Omryst straks TCR-flasken kraftigt 10 gange. Lad TCR-flasken blive i temperaturer på 15 °C til 30 °C for at varme flasken op i mindst 45 minutter. Inden for dette tidsrum skal TCR-flasken vendes op og ned mindst hver 10 minutter.

Valgmulighed. TCR-flasken kan klargøres på et vendeapparat på følgende måde: Fjern TCR fra opbevaring (2 °C til 8 °C), og ryst straks omhyggeligt 10 gange. Placér TCR-flasken i et vendeapparat, og efterlad TCR-flasken ved 15 °C til 30 °C til opvarmning i mindst 45 minutter.
 - c. Sørg for, at alle udfældninger opløses, og at de magnetiske partikler suspenderes før brug.
2. Til rekonstituering af amplifikations-, enzym- og promoterreagens gøres følgende:
 - a. Fjern de frysetørrede reagenser og tilhørende rekonstitueringsopløsninger fra opbevaring (2 °C til 8 °C). Anbring hver enkelt rekonstitueringsopløsning parvist med det tilhørende frysetørrede reagens.
 - b. Kontrollér, at rekonstitueringsopløsningen og det frysetørrede reagens har matchende etiketfarver. Kontrollér lotnumrene på stregkodelisten for hovedlot for at sikre, at de korrekte reagenser er grupperet.
 - i. Åbn hætteglasset med frysetørret reagens ved at fjerne metalforseglingen og gummiproppen.
 - ii. Indsæt enden af rekonstitueringsmanchetten (sort) med fordybningen med et fast tryk på hætteglasset (Figur 5, trin 1).
 - iii. Åbn den tilhørende flaske med rekonstitueringsopløsning, og læg låget på et rent, afdækket arbejdsbord.
 - iv. Placér flasken med rekonstitueringsopløsning på en stabil flade (dvs. et arbejdsbord). Vend derpå hætteglasset med frysetørret reagens over flasken med rekonstitueringsopløsning, og sæt manchetten fast på flasken med rekonstitueringsopløsning (Figur 5, trin 2).
 - v. Vend langsomt de samlede flasker (hætteglas sat på flasken med opløsning), så opløsningen kan løbe ned i hætteglasset (Figur 5, trin 3).
 - vi. Tag fat i de samlede flasker, og hvirvl dem rundt i mindst 10 sekunder (Figur 5, trin 4).
 - vii. Vent i mindst 30 minutter på, at det frysetørrede reagens blandes med opløsningen.
 - viii. Efter det frysetørrede reagens er blevet blandet med opløsningen, hvirvles de samlede flasker i mindst 10 sekunder, og derpå vippes opløsningen let frem og tilbage i hætteglasset, så indholdet blandes grundigt.

- c. Vend langsomt de samlede flasker igen, så hele opløsningen kan løbe tilbage i flasken med rekonstitueringsopløsning (Figur 5, trin 5).
- d. Fjern forsigtigt rekonstitueringsmanchetten og hætteglasset (Figur 5, trin 6).
- e. Sæt låget på flasken igen. Registrér operatørinitialer og rekonstitueringsdato på etiketten (Figur 5, trin 7).
- f. Bortskaf rekonstitueringsmanchetten og hætteglasset (Figur 5, trin 8).

Advarsel: Undgå, at der dannes kraftigt skum, når reagenserne rekonstitueres. Skum påvirker niveauregistreringen i Panther System.



Figur 5. Reagensets rekonstitueringsproces

3. Tag qHBV Target Enhancer-reagenset ud fra opbevaring (15 °C til 30 °C). Skriv operatørinitialer og åbningsdato på etiketten. Kontrollér lotnummeret på TER-flasken for at sikre, at det stemmer overens med lotnummeret på strekkodelisten for hovedlot.
- D. Klargøring af reagens for tidligere klargjorte reagenser
1. Tag de tidligere klargjorte reagenser ud fra opbevaring (2 °C til 8 °C). Tidligere klargjort amplifikation, enzym, promoterreagenser og TCR skal nå 15 °C til 30 °C før start af assayet.
 2. Tag TER ud fra opbevaring (15 °C til 30 °C).
 3. For tidligere klargjort TCR udføres trin C.1 ovenfor før isætning i systemet.
 4. Hvirvl og vend amplifikations-, enzym- og promoterreagens op og ned for at blande det grundigt før isætning i systemet. Undgå, at der dannes kraftigt skum, når reagenserne vendes op og ned.
 5. Der må ikke tilføjes reagens til reagensflaskerne. Panther System registrerer og afviser flasker, der har fået tilføjet reagens.
- E. Håndtering af prøver
1. Kontrollér, at de behandlede prøver i primærrør eller ufortyndede prøver i sekundærrør er opbevaret korrekt i henhold til Indsamling og opbevaring af prøver på side 8.
 2. Sørg for, at frosne prøver er tøet helt op. Bland de optøede prøver i vortexmixer i 3 til 5 sekunder, så de blandes omhyggeligt.
 3. Lad prøverne nå 15 °C til 30 °C før behandlingen. Se *Prøver på Panther System* for yderligere oplysninger.

4. Kontrollér, at hvert primærprøvetagningsrør indeholder op til 1200 µl prøve, eller at hvert SAT indeholder mindst 700 µl prøve. Se tabellen i *Indsamling af prøver* på side 8 vedrørende kravene til dødvolumen for hver type primær- og sekundærrør. Hvis fortynding af prøven er nødvendigt, se trin E.6 herunder for yderligere oplysninger.
5. Umiddelbart inden isætning af prøverne i et prøvestativ centrifugeres hver prøve ved 1000 til 3000 g i 10 minutter. Tag ikke hættterne af. Bobler i rørene kan påvirke niveaumålingen i Panther-systemet.

Se *Klargøring af systemet*, trin F.2 herunder for oplysninger om isætning af prøver i stativet og fjernelse af hætter.

6. Fortynd en prøve i forholdet 1:3 i et SAT eller i forholdet 1:100 i et sekundærrør. En prøve kan fortyndes i et sekundærrør med henblik på testning på Panther-systemet.

Bemærk: Hvis en prøve fortyndes, skal den testes straks efter fortyndingen.

- a. Fortynding af prøver med lavt volumen

Volumenet af prøver kan øges til det påkrævede minimumsvolumen (700 µl) ved brug af Aptima prøvefortynder. Prøver med mindst 240 µl kan fortyndes med to dele prøvefortynder (1:3) på følgende måde:

- i. Placer 240 µl prøve i et SAT.
- ii. Tilsæt 480 µl Aptima-prøvefortynder.
- iii. Sæt hætte på røret.
- iv. Vend røret forsigtigt op og ned 5 gange.

Prøver, der er fortyndet 1:3, kan testes ved brug af 1:3 valgmuligheden på Panther System (se *Brugervejledning til Panther System* for flere oplysninger). Softwaren rapporterer automatisk de ufortyndede resultater med denne fortyndingsfaktor. Disse prøver markeres som værende fortyndede prøver.

- b. Fortynding af prøver med høj titer

Hvis en prøves resultat ligger over den øvre kvantiteringsgrænse (ULoQ), kan den fortyndes med 99 dele Aptima prøvefortynder (1:100) på følgende måde:

- i. Placer 30 µl prøve i et SAT eller et sekundærrør.
- ii. Tilsæt 2970 µl Aptima-prøvefortynder.
- iii. Sæt hætte på røret.
- iv. Vend røret forsigtigt op og ned 5 gange.

Prøver, der er fortyndet i 1:100 kan testes umed valgmuligheden 1:100 på Panther System (se *Brugervejledning til Panther System* for yderligere oplysninger). Softwaren rapporterer automatisk det ufortyndede resultat ved at anvende fortyndingsfaktoren. Disse prøver markeres som fortyndede prøver.

Bemærk: For fortyndede prøver med ufortyndede koncentrationer større end ULoQ rapporteres resultaterne ved hjælp af et videnskabeligt notat.

F. Klargøring af systemet

1. Sæt systemet op ifølge anvisningerne i *Brugervejledning til Panther System* og *Bemærkninger til fremgangsmåden*. Sørg for, at der anvendes reagensstativer og TCR-adaptorer af passende størrelse.
2. Sæt prøverne i prøvestativet. Udfør de følgende trin for hvert prøverør (prøve og, hvor nødvendigt, kalibrator og kontroller):
 - a. Løsn én prøverørshætte, men tag den ikke helt af.
Bemærk: *Vær især forsigtig med at undgå kontamination fra spredning af aerosoler. Løsn forsigtigt hættene på prøverne.*
 - b. Sæt prøverøret i prøvestativet.
 - c. Gentag trin 2.a og 2.b for hver resterende prøve.
 - d. Når prøverne er sat i prøvestativet, fjernes og bortskaffes hvert prøverørs hætte i ét prøvestativ. For at undgå kontamination må en hætte ikke føres hen over andre prøvestativer eller prøverør.
 - e. Brug om nødvendigt en ny engangs overførselspipette til at fjerne eventuelle bobler eller skum.
 - f. Når den sidste hætte er fjernet, skal prøvestativet sættes i prøvebåsen.
Bemærk: *Hvis der køres andre assays og prøvetyper på samme tid, skal prøveholderen (retainer) sikres, før prøvestativet sættes i prøvebåsen.*
 - g. Gentag trin 2.a og 2.f for det næste prøvestativ.

Bemærkninger til fremgangsmåden

A. Kalibrator og kontroller

1. Rørene til qHBV positiv kalibrator, qHBV lav positiv kontrol, qHBV høj positiv kontrol og qHBV negativ kontrol kan sættes i en vilkårlig position i prøvestativet og i et vilkårligt prøvebåsspor på Panther System. Pipettering af prøver begynder, når ét af de to følgende forhold er blevet opfyldt:
 - a. Kalibratoren og kontrollerne behandles aktuelt af systemet.
 - b. Gyldige resultater for kalibratoren og kontrollerne er blevet registreret på systemet.
2. Når kalibrator- og kontrolrørene er blevet pipetteret og behandles til Aptima HBV Quant Assay-reagenskittet, kan prøver testes med det tilhørende, rekonstituerede kit i op til 24 timer, **medmindre:**
 - a. Kalibratorresultatet eller kontrolresultaterne er ugyldige.
 - b. Det tilknyttede assay-reagenskit fjernes fra systemet.
 - c. Det tilhørende assay-reagenskit har overskredet stabilitetsgrænserne.
3. Kalibratoren og hvert kontrolrør kan anvendes én gang. Forsøg på at anvende røret mere end én gang kan føre til fejl i behandlingen.

B. Handskepudder

Som i alle reagenssystemer kan for meget pudder på visse handsker forårsage kontaminering af åbnede rør. Det anbefales at bruge handsker uden pudder.

Kvalitetskontrol

En kørsel eller et prøveresultat kan blive ugyldiggjort af en operatør, hvis der observeres tekniske problemer, problemer hos operatøren eller med instrumentet under udførelsen af assayet, og de er dokumenteret. Hvis det er tilfældet, skal prøverne gentestes.

Kalibrering af assay

For at få gyldige resultater skal en assaykalibrering være afsluttet. En enkelt, positiv kalibrator køres i tripliket, hver gang et reagenskit sættes i Panther System. Når kalibreringen er fastsat, gælder den op til 24 timer. Software i Panther System giver operatøren en meddelelse, når en kalibrering er nødvendig. Operatøren scanner en kalibreringskoefficient fundet på stregkodelisten for hovedlot, der følger med hvert reagenskit.

Under behandlingen verificeres kriterierne for godkendelse af kalibratoren automatisk af softwaren i Panther System. Hvis færre end to kalibratorreplikater er gyldige, ugyldiggør softwaren automatisk kørslen. Prøver i en ugyldiggjort kørsel skal testes igen med en netop klargjort kalibrator og netop klargjorte kontroller.

Negative og positive kontroller

For at danne gyldige resultater er det nødvendigt at teste et sæt assaykontroller. Ét replikat af den negative kontrol, af den lave positive kontrol og af den høje positive kontrol skal testes hver gang et reagenskit sættes i Panther System. Når kontrollerne er fastsat, gælder de op til 24 timer. Software i Panther System giver operatøren en meddelelse, når der kræves kontroller.

Under behandlingen verificeres kriterierne for godkendelse af kontrollerne automatisk af softwaren i Panther System. For at opnå gyldige resultater skal den negative kontrol udvise resultatet "Not Detected" (Ikke detekteret), og de positive kontroller skal udvise resultater, der ligger inden for de foruddefinerede parametre (LPC nominel mål: 2,7 Log₁₀ IE/ml, HPC nominel mål: 4,6 Log₁₀ IE/ml). Hvis en af kontrollerne udviser et ugyldigt resultat, ugyldiggør softwaren automatisk kørslen. Prøver i en ugyldiggjort kørsel skal testes igen med en netop klargjort kalibrator og netop klargjorte kontroller.

Intern kalibrator/intern kontrol

Hver prøve indeholder en intern kalibrator/intern kontrol (IC). Under behandlingen verificeres IC-godkendelseskriterierne automatisk af Panther System softwaren. Hvis et IC-resultat er ugyldigt, bliver prøveresultatet ugyldiggjort. Hver prøve med et ugyldigt IC-resultat skal testes igen for at opnå et gyldigt resultat.

Panther System softwaren er udviklet til verificere processerne nøjagtigt, når procedurerne udføres efter anvisningerne på denne indlægsseddel og i *Brugervejledning til Panther System*.

Fortolkning af resultater

Panther System bestemmer automatisk koncentrationen af HBV DNA for prøver og kontroller ved at sammenligne resultaterne med en kalibreringskurve. HBV DNA koncentrationer rapporteres i IE/ml og \log_{10} IE/ml. Fortolkningen af resultater er vist i Tabel 1. Hvis fortyndingsmuligheden bruges til fortyndede prøver, beregner Panther System automatisk HBV koncentrationen for den ufortyndede prøve ved at gange den fortyndede koncentration med fortyndingsfaktoren, og de fortyndede prøver markeres som værende fortyndet.

Bemærk: For fortyndede prøver kan resultater, vist som "Not detected" (Ikke detekteret) eller "< 10 detected" (10 detekteret) blive genereret ved fortynding af en prøve med en koncentration over, men tæt på LoD (detektionsgrænse) eller LLoQ (nedre kvantiteringsgrænse). Det anbefales at indsamle og teste en anden ufortyndet prøve, hvis et kvantitativt resultat ikke kan opnås.

Tabel 1: Fortolkning af resultater

| Rapporteret Aptima HBV Quant Assay-resultat | | Fortolkning |
|---|--------------------------------------|--|
| IE/ml | Log ₁₀ værdi ^a | |
| Ikke detekteret | Ikke detekteret | HBV DNA ikke detekteret. |
| < 10 detekteret | < 1,0 | HBV DNA detekteres, men på et niveau, der ligger under den nedre kvantiteringsgrænse (LLoQ). |
| 10 til 1.000.000.000 | 1,0 til 9,0 | HBV DNA koncentrationen ligger inden for det lineære område på 10 til 1.000.000.000 IE/ml. |
| > 1.000.000.000 | > 9,0 | HBV DNA koncentration er over ULoQ. |
| Ugyldig ^b | Ugyldig ^b | Der opstod en fejl under udarbejdelsen af resultatet. Prøven skal testes igen. |

^a Værdien er afkortet til to decimaler.

^b Ugyldige resultater vises med blå skrift.

Bemærk: For fortyndede prøver med ufortyndede koncentrationer større end ULoQ rapporteres resultaterne ved hjælp af et videnskabeligt notat.

Begrænsninger

- Kun personale, som er oplært i fremgangsmåden, må anvende dette assay. Hvis anvisningerne på denne indlægsseddel ikke følges, kan det føre til fejlagtige resultater.
- Pålidelige resultater er afhængige af tilstrækkelig prøvetagning og korrekt transport, opbevaring og behandling af prøver.
- Selv om det er sjældent, kan mutationer i de højt konserverede regioner af virusgenomet, der er dækket af primere og/eller prober i Aptima HBV Quant Assay, resultere i underkvantificering af eller manglende evne til at detektere virusset.

Præstation

Detektionsgrænse ved brug af WHO's 3. internationale standard

Detektionsgrænsen (LoD) for dette assay defineres som koncentrationen af HBV DNA, der detekteres med 95 % eller større sandsynlighed ifølge CLSI EP17-A2.¹²

LoD blev bestemt ved testning af paneler i henhold til WHO's 3. internationale standard for hepatitis B virus DNA (NIBSC 10/264), fortyndet i HBV-negativt humant plasma og serum. Der blev testet mindst 36 replikater af hver fortynding med hvert af tre reagenslot for mindst 108 replikater for hver fortynding. Der blev udført probit-analyser for at generere de forventede detektionsgrænser. LoD-værdierne, som vises i Tabel 2, er resultaterne fra det reagenslot, der har den højeste forventede detektionsgrænse. LoD for Aptima HBV Quant Assay ved brug af WHO's 3. internationale standard er 5,58 IE/ml for plasma og 4,29 IE/ml for serum.

Tabel 2: Detektionsgrænse ved brug af WHO's 3. internationale standard for HBV

| Forventet detektionsgrænse | Koncentration (IE/ml) | |
|-------------------------------|-----------------------|-------|
| | Plasma | Serum |
| 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 |

Detektionsgrænse på tværs af HBV-genotyper

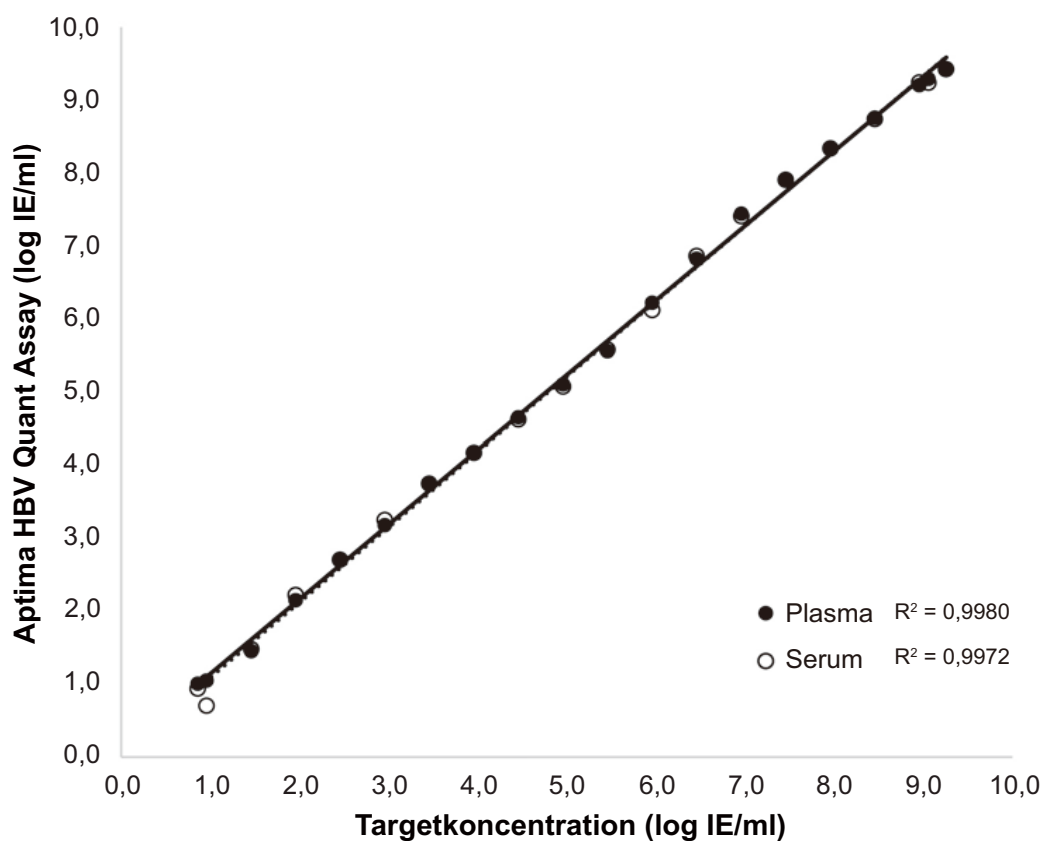
LoD blev bestemt ved at teste fortyndinger af HBV-positive kliniske prøver for genotyper A, B, C, D, E, F, G og H i HBV-negativt humant plasma og serum. Koncentrationerne blev bestemt med et komparatorassay med CE-mærke og en Health Canada-licens. Der blev testet mindst 24 replikater for hvert panelmedlem med hvert af to reagenslot for mindst 48 replikater pr. panelmedlem. En probitanalyse blev foretaget for at skabe 50 % og 95 % forventede detektionsgrænser. LoD-værdierne, som vises i Tabel 3, er resultaterne fra det reagenslot, der har den højeste forventede detektionsgrænse.

Tabel 3: Detektionsgrænse på tværs af HBV-genotyper ved brug af kliniske prøver

| Genotype | Forventet detektionsgrænse | Koncentration (IE/ml) | |
|----------|----------------------------|-----------------------|-------|
| | | Plasma | Serum |
| A | 50 % | 0,48 | 0,88 |
| | 95 % | 3,05 | 3,95 |
| B | 50 % | 0,59 | 0,69 |
| | 95 % | 3,00 | 4,97 |
| C | 50 % | 0,79 | 0,93 |
| | 95 % | 5,32 | 4,78 |
| D | 50 % | 0,82 | 1,37 |
| | 95 % | 4,61 | 7,29 |
| E | 50 % | 0,93 | 1,01 |
| | 95 % | 4,80 | 4,90 |
| F | 50 % | 0,75 | 0,69 |
| | 95 % | 3,13 | 3,30 |
| G | 50 % | 0,52 | 0,62 |
| | 95 % | 2,86 | 3,05 |
| H | 50 % | 1,05 | 1,36 |
| | 95 % | 6,44 | 6,31 |

Lineært område

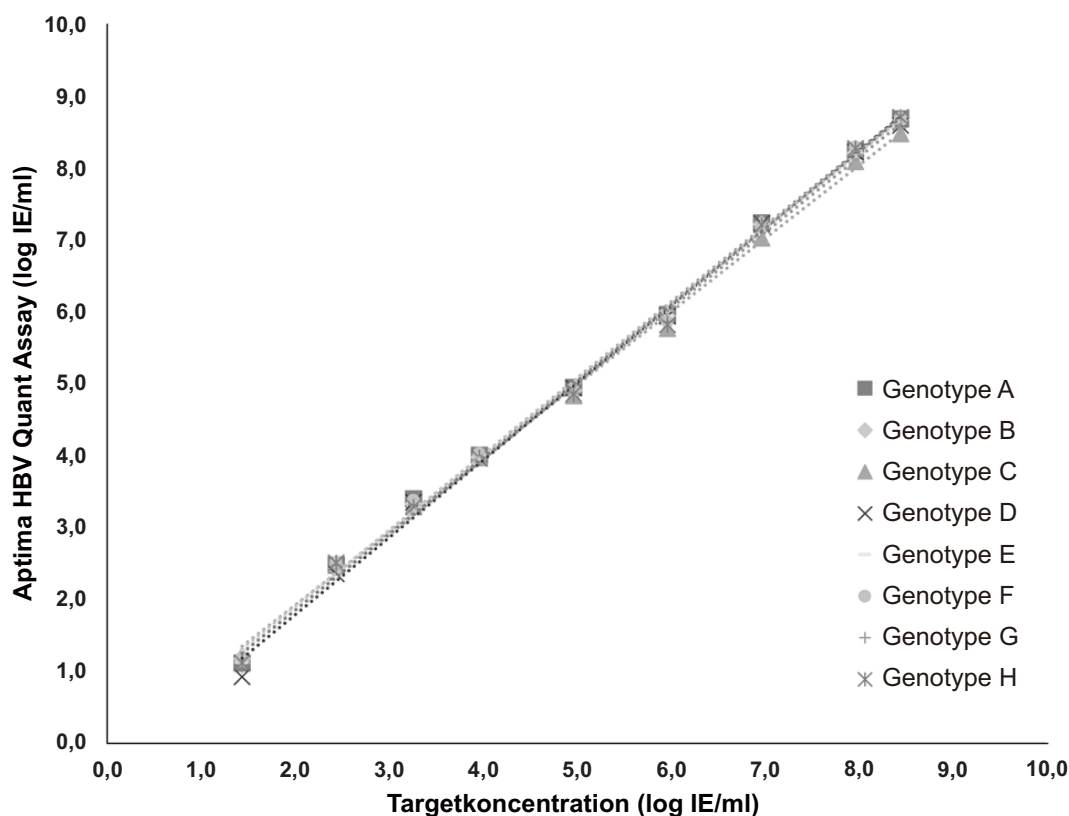
Det lineære område blev fastlagt ved testning af paneler, bestående af HBV DNA fortyndet i HBV-negativt humant plasma og serum ifølge CLSI EP06-A.¹³ Paneler varierede i koncentration fra 0,86 log IE/ml til 9,26 log IE/ml. Aptima HBV Quant Assay udviste linearitet på tværs af det testede område med en øvre kvantiteringsgrænse (ULoQ) på 9 log IE/ml, som vist i Figur 6.



Figur 6. Linearitet i plasma og serum

Linearitet på tværs af HBV-genotyper

Det lineære respons for genotyper A, B, C, D, E, F, G og H blev bekræftet ved testning af paneler, der bestod af HBV DNA, fortyndet i buffer ved koncentrationer fra 1,44 log IE/ml til 8,44 log IE/ml. Linearitet blev påvist på tværs af det testede område for alle genotyper, som vist i Figur 7.



Figur 7. Linearitet på tværs af HBV-genotyper A til H

Nedre kvantiteringsgrænse ved brug af WHO's 3. internationale standard

Den nedre kvantiteringsgrænse (LLoQ) defineres som den laveste koncentration ved hvilken, HBV DNA på pålidelig vis kan kvantiteres inden for grænserne for analytisk usikkerhed ifølge CLSI EP17-A2.¹² Total fejl blev beregnet ved hjælp af to metoder: Total Analytical Error (TAE) (analytisk usikkerhed) = |bias| + 2SD og Total Error (TE) (Total fejl) = SQRT(2) x 2SD. For at sikre nøjagtighed og præcision af målinger blev analytisk usikkerhed for Aptima HBV Quant Assay sat til 1 log IE/ml (dvs. at ved LLoQ er forskellen mellem to målinger på mere end 1 log IE/ml statistisk signifikant).

LLoQ blev bestemt ved testning af paneler i henhold til WHO's 3. internationale standard for hepatitis B virus RNA (NIBSC 10/264), fortyndet i HBV-negativt humant plasma og serum. Der blev testet mindst 45 replikater af hver fortynding med hvert af tre reagenslot for mindst 135 replikater for hver fortynding. Resultaterne for de tre reagenslots vises i Tabel 4 for plasma og Tabel 5 for serum. Resultaterne for den lavest observerede koncentration, som opfyldte målet for nøjagtighed (TE ≤ 1 log IE/ml og TAE ≤ 1 log IE/ml) med 100 % detektion, er skraverede i begge tabeller og sammenfattet i Tabel 6.

Den beregnede LLoQ for WHO's 3. internationale standard for hepatitis B virus er 4,80 IE/ml for plasma og 6,34 IE/ml for serum. Den er baseret på den højeste beregnede koncentration blandt de tre reagenslots. Eftersom den beregnede LLoQ er lavere end den beregnede LoD på 5,58 IE/ml, er LLoQ for plasma 5,58 IE/ml for WHO's 3. internationale standard i overensstemmelse med EP 17-A2.

Tabel 4: Bestemmelse af LLoQ ved brug af WHO's 3. internationale standard for HBV fortyndet i plasma

| Reagenslot | Targetkoncentration | | Aptima HBV Quant | SD | Bias | Beregnet TE | Beregnet TAE |
|------------|---------------------|-------------|------------------|-------------|-------------|-------------|--------------|
| | (IE/ml) | (log IE/ml) | (log IE/ml) | (log IE/ml) | (log IE/ml) | (log IE/ml) | (log IE/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 = standardafvigelse

Tabel 5: Bestemmelse af LLoQ ved brug af WHO's 3. internationale standard for HBV fortyndet i serum

| Reagenslot | Targetkoncentration | | Aptima HBV Quant | SD | Bias | Beregnet TE | Beregnet TAE |
|------------|---------------------|-------------|------------------|-------------|-------------|-------------|--------------|
| | (IE/ml) | (log IE/ml) | (log IE/ml) | (log IE/ml) | (log IE/ml) | (log IE/ml) | (log IE/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 = standardafvigelse

Tabel 6: Oversigt over den beregnede LLoQ ved brug af WHO's 3. internationale standard for HBV

| Reagenslot | Plasma LLoQ | | Serum LLoQ | |
|------------|-------------|---------|-------------|---------|
| | (log IE/ml) | (IE/ml) | (log IE/ml) | (IE/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 = standardafvigelse

Bestemmelse af den nedre kvantiteringsgrænse på tværs af HBV-genotyper

LLoQ blev bestemt ved at teste fortyndinger af HBV-positive kliniske prøver for genotyper A, B, C, D, E, F, G og H i HBV-negativt humant plasma og serum. Der blev testet mindst 36 replikater for hvert panelmedlem med hvert af to reagenslot for mindst 72 replikater pr. panelmedlem. Resultaterne fra reagenslottet med den højeste koncentration, som opfylder målet for nøjagtighed ($TE \leq 1 \log \text{IE/ml}$ og $TAE \leq 1 \log \text{IE/ml}$) med 100 % detektion, vises i Tabel 7 for plasma og Tabel 8 for serum. Resultaterne for den laveste koncentration, som opfyldte målet for nøjagtighed med 100 % detektion, er skraverede i begge tabeller og sammenfattet i Tabel 9. Den beregnede LLoQ for genotyper A, B, C, D, E, F, G og H i plasma og serum sammenfattes i Tabel 9. Disse fastsatte den samlede LLoQ for assayet som 10 IE/ml.

Tabel 7: Bestemmelse af LLoQ på tværs af genotyper i plasma

| Genotype | Targetkoncentration | | Aptima HBV Quant | SD | Bias | Beregnet TE | Beregnet TAE |
|----------|---------------------|-------------|---------------------|-------------|-------------|-------------|--------------|
| | (IE/ml) | (log IE/ml) | (log IE/ml) | (log IE/ml) | (log IE/ml) | (log IE/ml) | (log IE/ml) |
| A | 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 |
| B | 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 |
| C | 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 |
| D | 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 |
| E | 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 |
| F | 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 |
| G | 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 |
| H | 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 = standardafvigelse

Tabel 8: Bestemmelse af LLoQ på tværs af genotyper i serum

| Genotype | Targetkoncentration | | Aptima HBV Quant | SD | Bias | Beregnet TE | Beregnet TAE |
|----------|---------------------|-------------|---------------------|-------------|-------------|-------------|--------------|
| | (IE/ml) | (log IE/ml) | (log IE/ml) | (log IE/ml) | (log IE/ml) | (log IE/ml) | (log IE/ml) |
| A | 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 |
| B | 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 |
| C | 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 |
| D | 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 |
| E | 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 |
| F | 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 |
| G | 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 |
| H | 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 = standardafvigelse

Tabel 9: Oversigt over LLoQ på tværs af genotyper i plasma og serum

| Genotype | Plasma LLoQ | | Serum LLoQ | |
|----------|-------------|---------|-------------|---------|
| | (log IE/ml) | (IE/ml) | (log IE/ml) | (IE/ml) |
| A | 0,95 | 8,90 | 0,83 | 6,79 |
| B | 0,93 | 8,60 | 0,56 | 3,59 |
| C | 0,62 | 4,14 | 0,64 | 4,38 |
| D | 0,64 | 4,32 | 0,60 | 4,01 |
| E | 0,59 | 3,91 | 0,56 | 3,60 |
| F | 0,92 | 8,25 | 0,88 | 7,56 |
| G | 0,81 | 6,42 | 0,82 | 6,55 |
| H | 0,62 | 4,20 | 0,78 | 6,01 |

Reproducerbarhed

Til evaluering af reproducerbarheden blev der fremstillet et panel med 28 medlemmer ved at fortynde HBV-positive kliniske prøver (genotype A og C) eller tilsætte HBV DNA (genotype A og C) i HBV-negativ plasma og serum. Panelet blev testet af tre operatører ved brug af tre reagenslot på tre Panther System i løbet af 20 eller flere testdage.

Tabel 10 og Tabel 11 viser reproducerbarheden af assay-resultaterne (i log IE/ml) mellem instrumenter, mellem operatører, mellem lot, mellem kørsler, inden for kørsler og i alt. Samlet variabilitet var primært pga. inden for kørsel-variabilitet (dvs. tilfældig fejl).

Tabel 10: Reproducerbarhed af Aptima HBV Quant Assay for genotype A

| Matrix | N | Middelkoncentration (log IE/ml) | Mellem-operatør | | Mellem-instrument | | Mellem-lot | | Mellem-kørsel | | Inden for-kørsel | | I alt | |
|--------|-----|------------------------------------|-----------------|--------|-------------------|--------|------------|--------|---------------|--------|------------------|--------|-------|--------|
| | | | SD | CV (%) | SD | CV (%) | SD | CV (%) | SD | CV (%) | SD | CV (%) | SD | CV (%) |
| Plasma | 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 |
| Plasma | 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 |
| Plasma | 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 |
| Plasma | 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 |
| Plasma | 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 |
| Plasma | 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 |
| Plasma | 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 |
| Serum | 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 |
| Serum | 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 |
| Serum | 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 |
| Serum | 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 |
| Serum | 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 |
| Serum | 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 |
| Serum | 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 = variationskoefficient, SD = standardafvigelse

Bemærk: Variabilitet pga. visse faktorer kan være numerisk negativ, hvilket kan forekomme, hvis variabiliteten pga. disse faktorer er meget lille. Når dette forekommer, vises SD og CV som 0.

Tabel 11: Reproducerbarhed af Aptima HBV Quant Assay for genotype C

| Matrix | N | Middelkoncentration (log IE/ml) | Mellem- operatør | | Mellem- instrument | | Mellem-lot | | Mellem-kørsel | | Inden for-kørsel | | I alt | |
|--------|-----|------------------------------------|---------------------|--------|-----------------------|--------|------------|--------|---------------|--------|------------------|--------|-------|--------|
| | | | SD | CV (%) | SD | CV (%) | SD | CV (%) | SD | CV (%) | SD | CV (%) | SD | CV (%) |
| Plasma | 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 |
| Plasma | 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 |
| Plasma | 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 |
| Plasma | 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 |
| Plasma | 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 |
| Plasma | 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 |
| Plasma | 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 |
| Serum | 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 |
| Serum | 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 |
| Serum | 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 |
| Serum | 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 |
| Serum | 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 |
| Serum | 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 |
| Serum | 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 = variationskoefficient, SD = standardafvigelse

Bemærk: Variabilitet pga. visse faktorer kan være numerisk negativ, hvilket kan forekomme, hvis variabiliteten pga. disse faktorer er meget lille. Når dette forekommer, vises SD og CV som 0.

Potentielt interfererende stoffer

Følsomheden af Aptima HBV Quant Assay for interferens fra eleverede niveauer af endogene stoffer og fra lægemidler, der normalt ordineres til HBV-inficerede personer, blev evalueret. HBV-negative plasmaprøver og prøver med tilsætning af HBV op til en koncentration på 4,3 log IE/ml HBV DNA blev testet.

Ingen interferens i præstationen af assayet blev observeret ved tilstedeværelse af albumin (90 mg/ml), hæmoglobin (5 mg/ml), triglycerider (30 mg/ml) eller ukonjugeret bilirubin (0,2 mg/ml).

Kliniske plasmaprøver fra patienter med eleverede niveauer af definerede stoffer eller fra patienter med de sygdomme, som angives i Tabel 12, blev testet med Aptima HBV Quant Assay. Der blev ikke observeret interferens af assayets præstation.

Tabel 12: Testede kliniske prøvetyper

| Kliniske prøvetyper | |
|---------------------|--|
| 1 | Antinukleært antistof (ANA) |
| 2 | Rheumatoidfaktor (RF) |
| 3 | Alkoholisk cirrhose (AC) |
| 4 | Alkoholisk hepatitis |
| 5 | Ikke-alkoholisk hepatitis |
| 6 | Autoimmun hepatitis |
| 7 | Eleveret alanin-aminotransferase (ALT) |
| 8 | Hepatocellulært karcinom (HCC) |
| 9 | Multipel sklerose (MS) |
| 10 | Systemisk Lupus Erythematosus (SLE) |
| 11 | Hyperglobulinæmi |
| 12 | Rheumatoid arthritis (RA) |
| 13 | Anti-Jo1 antistof (JO-1) |
| 14 | Multipelt myelom (MM) |
| 15 | Hæmolyseret (eleveret hæmoglobin) |
| 16 | Ikterisk (eleveret bilirubin) |
| 17 | Lipæmisk (eleveret lipid) |
| 18 | Eleveret protein |
| 19 | HBV-antistoffer (vaccineret) |
| 20 | HCV-antistoffer |
| 21 | HIV-1- og HIV-2-antistoffer |

Der blev ikke observeret interferens af assayets præstation ved tilstedeværelse af de eksogene stoffer, vist i Tabel 13 ved koncentrationer mindst tre gange højere end $C_{maks.}$ (humant plasma).

Tabel 13: Eksogene stoffer

| Pool af eksogene stoffer | Testede eksogene stoffer |
|--------------------------|---|
| 1 | Saquinavir, ritonavir, amprenavir, indinavir, lopinavir, nelfinavir mesylat |
| 2 | Clarithromycin, valganciclovir hydrochlorid, efavirenz, nevirapin |
| 3 | Paroxetin HCl, enfuvirtid, zidovudin, didanosin, abacavir sulfat |
| 4 | Ribavirin, entecavir, adefovir dipivoxil, tenofovir disoproxil fumarat, lamivudin, ganciclovir, acyclovir |
| 5 | Stavudin, ciprofloxacin, fluoxetine, azithromycin, valacyclovir, sertralin, zalcitabin |
| 6 | Interferon alfa-2a, interferon alfa-2b, pegyleret interferon alfa-2b |

Specificitet

Specificiteten blev bestemt ved brug af 292 friske og frosne 747 HBV-negative kliniske prøver. Der blev i alt testet 521 plasma- og 518 serumprøver. Specificiteten blev beregnet som procentdelen af HBV-negative prøver med resultater for "Ikke detekteret". HBV DNA blev ikke detekteret i 1038 prøver. Specificiteten var 99,9 % (1038/1039, 95 % CI: 99,5-100 %).

Tabel 14: Specificitet af kliniske plasma- og serumprøver

| | Friskt plasma | Frossent plasma | Totalt plasma | Friskt serum | Frossent serum | Totalt serum | Kombineret |
|-------------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| Gyldige replikater (n) | 145 | 376 | 521 | 147 | 371 | 518 | 1.039 |
| Ikke detekteret | 145 | 376 | 521 | 147 | 370 | 517 | 1.038 |
| Specificitet (95 % CI) | 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 = confidence interval (konfidensinterval)

Analytisk specificitet

Potentiel krydsreaktivitet over for patogener, som vises i Tabel 15, blev evalueret i HBV-negativt humant plasma ved tilstedeværelse eller fravær af 4,3 log IE/ml HBV DNA. Der blev observeret ikke-krydsreaktivitet eller interferens i bakterielt kontamineret plasma eller i prøver fra forsøgspersoner, inficeret med andre blodbårne patogener eller fra de, der havde fået HBV- og influenzavacciner.

Tabel 15: Patogener testet for analytisk specificitet

| Mikroorganisme/patogen | Kilde | Mikroorganisme/patogen | Kilde |
|--|---------------|------------------------------------|--------------|
| Hepatitis C virus | Klinisk prøve | Human herpesvirus type 8 | Kulturvæske |
| Hepatitis A virus | Klinisk prøve | Japansk encephalitis virus | Ascitesvæske |
| HBV-vaccineret | Klinisk prøve | Murray Valley encephalitis virus | Cellelysat |
| HIV-1 og -2 | Klinisk prøve | St. Louis encephalitis virus | Kulturvæske |
| Human T-celle lymfotrofisk virus type 1 og 2 | Klinisk prøve | Vaccinia virus | Cellelysat |
| Parvovirus B19 | Klinisk prøve | Gul feber virus | Kulturvæske |
| Cytomegalovirus | Klinisk prøve | <i>Candida albicans</i> | Kultur |
| Denguevirus type1-4 | Klinisk prøve | <i>Chlamydia trachomatis</i> | Kultur |
| Epstein-Barr virus | Klinisk prøve | <i>Corynebacterium diphtheriae</i> | Kultur |
| Influenzavaccineret | Klinisk prøve | <i>Mycobacterium gordonae</i> | Kultur |
| Human papillomavirus | Klinisk prøve | <i>Mycobacterium smegmatis</i> | Kultur |
| Herpes simplex virus 1 og 2 | Klinisk prøve | <i>Neisseria gonorrhoeae</i> | Kultur |
| Rubella virus | Klinisk prøve | <i>Propionibacterium acnes</i> | Kultur |
| Varicella zoster virus | Klinisk prøve | <i>Staphylococcus aureus</i> | Kultur |
| Vestnilvirus | Klinisk prøve | <i>Staphylococcus epidermidis</i> | Kultur |
| BK human polyomavirus | Cellelysat | <i>Streptococcus pneumoniae</i> | Kultur |
| Human herpesvirus 6B | Kulturvæske | <i>Trichomonas vaginalis</i> | Kultur |

Repeterbarhed af kliniske prøver

Repeterbarheden blev evalueret ved at teste tre replikater af naturligt inficerede kliniske HBV-positive plasma- og serumprøver. Den gennemsnitlige koncentration og standardafvigelse for de testede plasma- og serumprøver vises henholdsvis i Tabeller 16 og 17.

Tablet 16: Repeterbarhed af kliniske plasmaprøver

| Plasmaprøve | Gennemsnitlig koncentration (log IE/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 = standardafvigelse

Tablet 17: Repeterbarhed af kliniske serumprøver

| Serumprøve | Gennemsnitlig koncentration (log IE/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 = standardafvigelse

Fortynding af prøve ved brug af prøvafortynder

For at vurdere genvinding af HBV DNA i prøver fortyndet med Aptima prøvafortynder, blev plasma- og serumprøver, der strakte sig over det lineære område, fortyndet med 1:3 med Aptima-prøvafortynder. Desuden blev højt titrerede naturligt inficerede kliniske prøver og HBV DNA tilsat prøver med koncentrationer over ULoQ fortyndet med 1:100 med Aptima prøvafortynder. Hver prøve blev testet ufortyndet og fortyndet (1:3 eller 1:100) i triplikat. Forskellene mellem den gennemsnitlige rapporterede koncentration (fortyndingsfaktoren er blevet anvendt til det fortyndede prøveresultat), og den gennemsnitlige ufortyndede koncentration vises i Tabel 18 for plasma og Tabel 19 for serum. Prøvekoncentrationerne blev nøjagtigt genvundet i de fortyndede prøver.

Tabel 18: Prøvafortynding med Aptima prøvafortynder i plasma

| Fortynding | Gennemsnitlig ufortyndet koncentration (log IE/ml) | Gennemsnitlig rapporteret koncentration ^a (log IE/ml) | Forskel (log IE/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 ^b (10,20 ^c) | 10,40 | 0,20 |

^a Rapporteret koncentration er værdien beregnet efter, at fortyndingsfaktoren er blevet anvendt.

^b Prøve med tilsætning.

^c Targetkoncentrationsværdi, som er over ULoQ.

Tabel 19: Prøvefortynding med Aptima prøvefortynder i serum

| Fortynding | Gennemsnitlig ufortyndet koncentration (log IE/ml) | Gennemsnitlig rapporteret koncentration ^a (log IE/ml) | Forskel (log IE/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 ^b (10,20 ^c) | 10,43 | 0,23 |

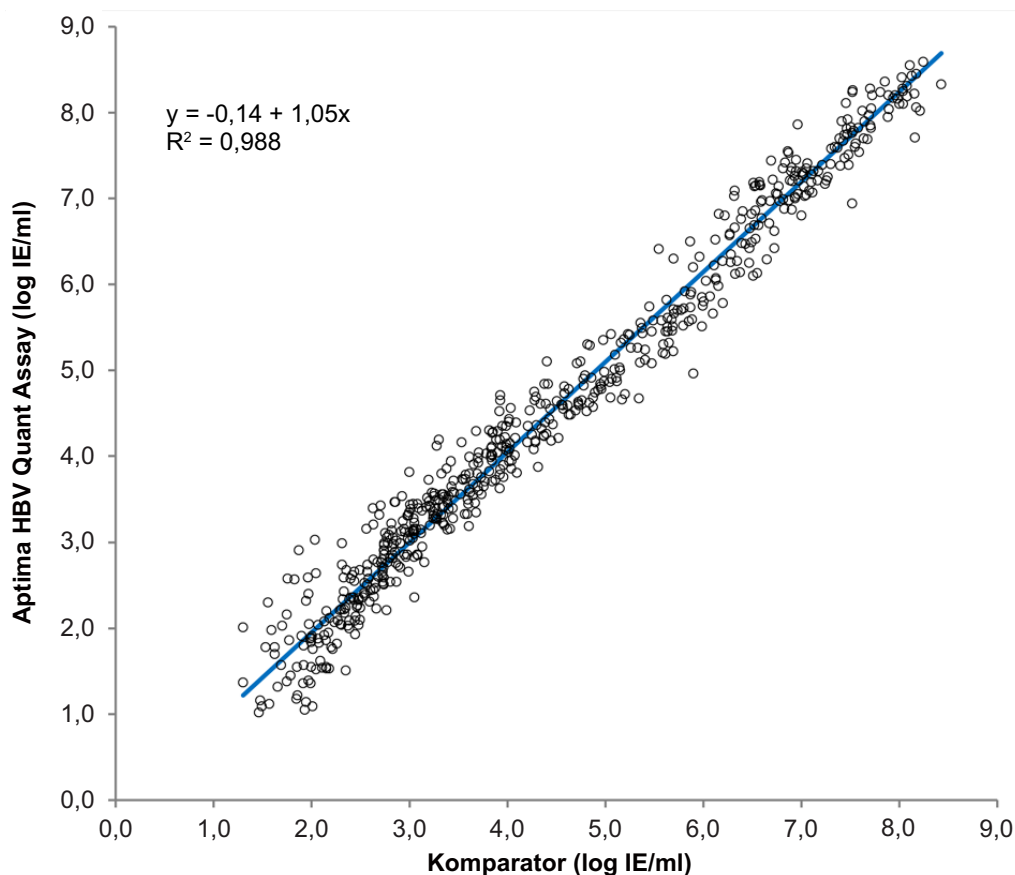
^a Rapporteret koncentration er værdien beregnet efter, at fortyndingsfaktoren er blevet anvendt.

^b Prøve med tilsætning.

^c Targetkoncentrationsværdi, som er over ULoQ.

Korrelation mellem metoder

Præstationen af Aptima HBV Quant Assay blev evalueret i forhold til et komparatorassay med CE-mærke og en Health Canada-licens ved at teste ufortyndede kliniske prøver fra HBV-inficerede patienter. Der blev anvendt en total på 614 kliniske prøver inden for det lineære område, fælles for begge assays, for den lineære regression, som vist i Figur 8.



Figur 8. Korrelation mellem Aptima HBV Quant Assay og komparatorassay

Overførsel

For at fastlægge, at Panther System minimerer risikoen for falske positive resultater pga. kontamination fra overførsel, blev der foretaget en undersøgelse med paneler med tilsætninger på tre Panther System. Overførsel blev evalueret med høj titer HBV DNA plasmaprøver med tilsætning (8 log IE/ml) fordelt over HBV-negative prøver i et skakbrætmønster. Testningen fandt sted over femten kørsler. Den samlede overførselsrate var 0,0 % (0/705).

Bibliografi

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.



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

Kundesupport: +1 800 442 9892
customersupport@hologic.com

Teknisk rådgivning: +1 888 484 4747
molecularsupport@hologic.com

Yderligere kontaktoplysninger findes på www.hologic.com.



Hologic N.V.
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

Hologic, Aptima og Panther er varemærker og/eller registrerede varemærker, tilhørende Hologic, Inc. og/eller dets datterselskaber i USA og/eller andre lande. Alle andre varemærker, der måtte findes i denne indlægsseddel, tilhører de respektive ejere.

Dette produkt kan være dækket af et eller flere amerikanske patenter. Se www.hologic.com/patents.

© 2016-2018 Hologic, Inc. Alle rettigheder forbeholdes.
AW-13182-1901 Rev. 005
2018-09