

Aptima™ HBV Quant Assay

För *in vitro*-diagnostik.

Endast för export från USA

Allmän information	2
Avsedd användning	2
Sammanfattning och förklaring av analysen	2
Metodprinciper	3
Varningar och försiktighetsåtgärder	3
Förvaring och hantering av reagens	6
Provtagning och provförvaring	7
Prover i Panther System	10
Transport av prover	10
Panther System	11
Medföljande reagens och material	11
Nödvändiga material som införskaffas separat	13
Valfri materiel	14
Analysmetod för Panther System	14
Metodanmärkingar	18
Kvalitetskontroll	19
Analyskalibrering	19
Negativa och positiva kontroller	19
Inre kalibrator/inre kontroll	19
Tolkning av resultat	20
Begränsningar	20
Resultat	21
Detekteringsgräns vid användning av WHO:s tredje internationella standard	21
Detekteringsgräns för HBV-genotyper	22
Linjärt intervall	23
Linjäritet i HBV-genotyper	24
Nedre kvantifieringsgräns enligt WHO:s tredje internationella standard	24
Bestämning av nedre kvantifieringsgräns för HBV-genotyper	26
Reproducerbarhet	28
Potentiellt interfererande substanser	30
Specificitet	31
Analytisk specificitet	32
Repeterbarhet för kliniska prover	33
Provutspädning med provutspädningsmedel	34
Metodkorrelation	36
Överföring	36
Litteraturförteckning	37

Allmän information

Avsedd användning

Aptima HBV Quant Assay (Aptima HBV Quant-analys) är en *in vitro*-nukleinsyreamplifieringsanalys för kvantifiering av DNA av hepatit B-virus (HBV) i mänsklig plasma och serum i det helautomatiserade Panther™-systemet.

Plasma kan prepareras i etylendiamintetraättiksyra (EDTA), ACD-lösning och plasmaberedningsrör (PPT-enheter). Serum kan prepareras i serumrör och serumseparationsrör (SST-enheter). Prover analyseras med hjälp av det helautomatiserade Panther-systemet för provbearbetning, amplifiering och kvantifiering. Prover som innehåller HBV-genotyperna A, B, C, D, E, F, G och H valideras för detektering och kvantifiering i analysen.

Aptima HBV Quant Assay är avsett att användas som ett hjälpmedel i vård av patienter med kroniska HBV-infektioner som genomgår antiviral läkemedelsbehandling mot HBV. Assayen kan användas för att mäta HBV DNA-nivåer vid baslinjen och under behandling i syfte att fastställa det virologiska svaret på behandlingen. Resultaten från Aptima HBV Quant Assay måste tolkas inom ramen för alla relevanta kliniska och laboriebaserade resultat.

Aptima HBV Quant Assay är inte avsett för undersökning av eventuell HBV-förekomst i blod eller blodprodukter eller som diagnostisk analys för att bekräfta förekomst av HBV-infektion.

Sammanfattning och förklaring av analysen

Hepatitis B-virus (HBV), ett av flera virus som är kända för att orsaka hepatit, har utpekats som orsak till livslång HBV-infektion, skrumplever, levercancer, leversvikt och eventuella dödliga följder därav. Världshälsoorganisationen (WHO) pekar ut HBV som en av världens vanligaste smittsamma sjukdomar. Förekomsten av HBV-infektioner och överföringsmetoden uppvisar stor variation världen över. Ungefär en tredjedel av världens befolkning uppvisar serologiska tecken på tidigare eller nuvarande HBV-infektion, och över 350 miljoner människor över hela världen har kronisk HBV-infektion.^{1,2,3} HBV-infektion medför en ökad risk för leverdekompensation, skrumplever och hepatocellulärt karcinom (HCC) med en internationell dödlighet på 0,5 till 1,2 miljoner årligen, och 5 till 10 % av fallen kräver levertransplantation.^{4,5} Utan korrekt behandling, intervention och övervakning efter diagnos sträcker sig den kumulativa femåriga incidensen för skrumplever från 8 till 20 %. När skrumplever väl har utvecklats är den årliga risken för hepatocellulärt karcinom (HCC) 2 till 5 %.⁶

HBV innehåller ett cirkulärt, delvis dubbelsträngat DNA-genom med ungefär 3 200 baspar som kodar fyra delvis överlappande öppna läsramar (ORF) som uttrycker polymeras-, yt-, precore-/kärn- och X-proteiner. Polymeras-ORF-enheten överlappar de tre andra ORF-enheterna och kodar ett centralt virusreplikationsprotein, polymeras. ORF på ytan uttrycker tre proteiner som är essentiella för viral morfogenes, virusets inträngande i hepatocyter och framkallande av immunsvaret hos värden.⁷ Det finns 8 HBV-genotyper (A-H) och förekommer vanligen på specifika geografiska platser. Kvantifiering av HBV DNA används för närvarande för att fastställa vilka patienter med kronisk infektion som bör behandlas, för att övervaka svar på behandling och bedöma rebound i virusbelastning som kan tyda på läkemedelsresistens.⁵

Aptima HBV Quant Assay är en *in vitro*-nukleinsyreamplifieringsanalys som använder transkriptionsmedierad amplifieringsanalysteknik (TMA) i realtid i Panther-systemet för att kvantifiera HBV DNA – genotyperna A, B, C, D, E, F, G och H. Aptima HBV Quant Assay är inriktad på två väl konserverade områden i polymeras- och ytgenerna (för ökad tolerans mot potentiella mutationer). Denna analys uppfyller WHO:s tredje internationella standard för hepatit B-virus (NIBSC-kod: 10/264).

Metodprinciper

Aptima HBV Quant Assay består av tre huvudmoment som alla genomförs i ett och samma provrör i Panther-systemet: target capture, målamplifiering genom transkriptionsmedierad amplifiering (Transcription-Mediated Amplification, TMA) samt detektering av amplifieringsprodukterna (amplikon) genom fluorescensmärkta prober (torches).

Under target capture isoleras viralt DNA från proverna. Proverna behandlas med en detergent som löser upp virushöljet, denaturerar proteiner och frisläpper viralt genomiskt DNA. Capture-oligonukleotider hybridiseras till väl konserverade områden med HBV DNA, om sådana finns, i provet. Det hybridiserade målet fångas därefter in på magnetiska mikropartiklar som separeras från provet i ett magnetfält. Tvättmomenten avlägsnar främmande ämnen från reaktionsröret.

Målamplifiering sker via TMA, en transkriptionsmedierad nukleinsyre-amplifieringsmetod som använder två enzymer, Moloneys musleukemivirus (MMLV) reverse transcriptase och T7 RNA-polymeras. Reverse transcriptase används för att generera en DNA-kopia (innehållande en promotorsekvens för T7 RNA-polymeras) av målsekvensen. T7 RNA-polymeras producerar flera kopior av RNA-amplikon från DNA-mallen. Aptima HBV Quant Assay använder TMA-metoden för att amplifiera två områden av HBV-genomet (polymeras- och ytgen). Amplifiering av dessa områden uppnås med specifika primrar som är utformade för att amplifiera HBV-genotyperna A, B, C, D, E, F, G och H. Metoden med dubbla målområden med primerdesign inriktad på väl konserverade områden säkerställer korrekt kvantifiering av HBV DNA.


Detekteringen uppnås med hjälp av enkelsträngade nukleinsyre-torches som är närvarande under amplifieringen av målet och som hybridiseras särskilt till amplikonen i realtid. Varje torch har en fluorofor och en quencher. När torchen inte hybridiseras till amplikonen befinner sig quenchern i fluoroforens närhet och dämpar fluorescensen. När torchen binds till amplikonen flyttas släckaren längre bort från fluoroforen och sänder ut en signal på en särskild våglängd när den exciteras av en ljuskälla. När fler torches hybridiseras till amplikon uppstår en starkare fluorescerande signal. Den tid det tar för den fluorescerande signalen att nå ett angivet tröskelvärde är proportionell mot den inledande koncentrationen av HBV. Varje reaktion har en inre kalibrator/inre kontroll (IC) som kontrollerar för variationer i behandling, amplifiering och detektering av prover. Provets koncentration bestäms av Panther-systemets programvara med hjälp av HBV- och IC-signalerna för varje reaktion, vilka sedan jämförs med kalibreringsinformationen.

Varningar och försiktighetsåtgärder

- A. Endast för *in vitro*-diagnostik.
- B. Minska risken för ogiltiga resultat genom att noggrant läsa bipacksedeln och *användarhandledningen för Panther System* innan du utför den här analysen.
- C. qHBV Target Enhancer-reagens (TER) är frätande. Se "Analysrelaterad information" på sida 5 för kompletta listor över varningar.



Laboratorierelaterad information

-  D. FÖRSIKTIGHET: Kontrollerna för den här analysen innehåller human plasma. Plasman har befunnits vara negativ för hepatit B-ytantigen (hepatitis B surface antigen, HBsAg), antikroppar mot HCV, antikroppar mot HIV-1 och HIV-2 samt HIV-antigen när den analyserades med US Food and Drug Administrations licensierade testmetoder. Plasman var dessutom icke-reaktiv för HBV DNA, HCV RNA, och HIV-1 RNA när den analyserades med licensierade nukleinsyretest med användning av poolade prover. Alla ämnen som har varit i kontakt med eller har sitt ursprung i humant blod ska betraktas som potentiellt smittbärande och bör hanteras med allmänt vedertagna försiktighetsåtgärder.^{8,9,10}
- E. Endast personal med adekvat utbildning i användningen av Aptima HBV Quant Assay och hantering av potentiellt smittförande ämnen bör utföra det här momentet. I händelse av spill ska ytan omedelbart desinficeras enligt lämpliga lokala rutiner.
- F. Använd endast medföljande eller föreskriven laboratorieutrustning för engångsbruk.
- G. Iaktta sedvanliga säkerhetsrutiner för arbete i laboratorium. Pipettera inte med hjälp av munnen. Ät, drick och rök inte inom anvisade arbetsytor. Använd puderfria engångshandskar, skyddsglasögon och laboratorierockar vid hantering av prover och reagensloter. Tvätta händerna noga efter hantering av prover och reagensloter.
- H. Arbetsytor, pipetter och annan utrustning måste regelbundet dekontamineras med 2,5 till 3,5 % (0,35 till 0,5 M) natriumhypokloritlösning.
- I. Material som har kommit i kontakt med prover och reagens ska kasseras i enlighet med tillämpliga nationella, internationella och regionala regelverk.^{8,9,10,11} Rengör och desinficera alla arbetsytor noggrant.
- J. Kontrollerna innehåller natriumazid som konserveringsmedel. Överför inte reagens med hjälp av metallrör. Om lösningar som innehåller natriumazidföreningar kasseras i avloppssystemet ska de spädas ut och spolade ned tillsammans med rikliga mängder rinnande vatten. Dessa försiktighetsåtgärder rekommenderas i syfte att undvika ansamling av avlagringar i metallrör där explosiva förhållanden kan uppstå.
- K. God standardpraxis för molekylärbiologiska laboratorier inbegriper miljöövervakning. För kontroll av laboratoriemiljön rekommenderas följande förfarande:
1. Hämta en provpinne med bomullstopp och koppla den till ett Aptima provalikvotrör (SAT).
 2. Märk alla SAT-enhet på lämpligt sätt.
 3. Fyll varje SAT-enhet med 1 ml Aptima Specimen Diluent.
 4. Samla in prov på ytan genom att fukta provpinnen lätt med nukleasfritt avjoniserat vatten.
 5. Ta prov från ytan av intresse med en vertikal rörelse uppifrån och ned. Vrid provpinnen ungefär ett halvt varv medan du tar provet.
 6. Placera omedelbart provpinnen i röret och virvla den försiktigt i spädningsmedlet för att extrahera potentiellt uppsamlat material. Tryck provpinnen mot transportrörets ena sida för att extrahera så mycket vätska som möjligt. Kassera provpinnen och sätt ett lock på provröret.
 7. Upprepa proceduren med övriga prover.
 8. Testa provet med en molekylär analys.



Provrelaterad information



- L. Proverna kan vara smittförande. Vidta allmänt vedertagna försiktighetsåtgärder^{8,9,10} när du genomför den här analysen. Korrekta hanterings- och kasseringsmetoder bör fastställas i enlighet med tillämpliga nationella, internationella och regionala bestämmelser.¹¹ Endast personal med adekvat utbildning i användningen av Aptima HBV Quant Assay och hantering av smittförande ämnen bör utföra det här momentet.
- M. Upprätthåll korrekta förvaringsförhållanden vid transport av prover för att säkerställa provernas kvalitet. Provernas stabilitet har inte utvärderats under andra fraktförhållanden än de som rekommenderas.
- N. Undvik korskontamination vid hantering av prover. Var särskilt noga med att undvika förorening genom spridning av aerosoler när locken lossas eller tas av. Prover kan innehålla mycket höga nivåer av organismer. Se till att olika provbehållare inte kommer i kontakt med varandra och kassera använda material utan att flytta dem över öppna behållare. Byt handskar om de kommer i kontakt med prov.

Analysrelaterad information

- O. Använd inte reagensloten, kalibratoren eller kontrollerna efter utgångsdatum.
- P. Assayreagens från satser med olika huvudbatchnummer får inte bytas, blandas eller kombineras. Analysvätskor kan komma från olika batchnummer. Kontroller och kalibratorer kan komma från olika batchnummer.
- Q. Undvik mikrobiell och nukleasförorening av reagens.
- R. Assayreagens ska förvaras med lock på och i specificerade temperaturer. Analyserna kan påverkas om du använder assayreagens som har förvarats på ett olämpligt sätt. Se *Förvaring och hantering av reagens* och *Analysmetod för Panther System* för mer information.
- S. Blanda inte assayreagens eller vätskor såvida du inte har fått särskilda instruktioner att göra det. Fyll inte behållare med ytterligare reagens och vätskor. Panther-systemet kontrollerar reagensnivåerna.
- T. Undvik att Target Enhancer-reagenset kommer i kontakt med hud, ögon och slemhinnor. Tvätta med vatten vid kontakt med den här reagensen. Om reagenset spills ut, späd med vatten och följ lämpliga lokala rutiner.
- U. Vissa reagens i denna sats är märkta med risk- och säkerhetssymboler.

Obs! Farokommunikation återspeglar klassificeringar i EU-säkerhetsdatablad (SDS). För information om farokommunikation specifik för ditt område, se områdets specifika SDS i Safety Data Sheet Library (bibliotek med säkerhetsdatablad) på www.hologicsds.com.

	HBV VL Kit Controls Natriumazid 0,2 % Human Serum 95 - 100 %
	WARNING H312 - Skadligt vid hudkontakt H412 - Skadliga långtidseffekter för vattenlevande organismer P273 - Undvik utsläpp till miljön P280 - Använd skyddshandskar/skyddskläder/ögonskydd/ansiktsskydd

 	Target Enhancer Reagent <i>Lithium Hydroxide, Monohydrate 5 - 10 %</i>
	FARA H302 - Skadligt vid förtäring H314 - Orsakar allvarliga frätskador på hud och ögon P260 - Inandas inte damm/rök/gaser/dimma/ångor/sprej P280 - Använd skyddshandskar/skyddskläder/ögonskydd/ansiktsskydd P303 + P361 + P353 - VID HUDKONTAKT (även håret): Ta omedelbart av alla nedstänkta kläder. Skölj huden med vatten/duscha P305 + P351 + P338 - VID KONTAKT MED ÖGONEN: Skölj försiktigt med vatten i flera minuter. Ta ur eventuella kontaktlinser om det går lätt. Fortsätt att skölja P310 - Kontakta genast GIFTINFORMATIONSCENTRAL eller läkare

Förvaring och hantering av reagens

- A. Följande tabell visar förvaringsförhållanden och stabilitet för reagens, kontroller och kalibrator.

Reagens	Förvaring öppnat	Öppnad sats (rekonstituerad)	
		Förvaring	Stabilitet
qHBV-amplifieringsreagens	2 till 8 °C		
qHBV-amplifieringsrekonstitutionslösning	2 till 8 °C	2 till 8 °C	30 dagar ^a
qHBV-enzymreagens	2 till 8 °C		
qHBV-enzymrekonstitutionslösning	2 till 8 °C	2 till 8 °C	30 dagar ^a
qHBV-promotorreagens	2 till 8 °C		
qHBV-promotorrekonstitutionslösning	2 till 8 °C	2 till 8 °C	30 dagar ^a
qHBV-Target Capture-reagens	2 till 8 °C	2 till 8 °C	30 dagar ^a
qHBV PCAL (positiv kalibrator)	-15 till -35 °C	15 till 30 °C	Ampull för engångsbruk – använd inom 24 timmar
qHBV NC CONTROL – (negativ kontroll)	-15 till -35 °C	15 till 30 °C	Ampull för engångsbruk – använd inom 24 timmar
qHBV LPC CONTROL + (låg positiv kontroll)	-15 till -35 °C	15 till 30 °C	Ampull för engångsbruk – använd inom 24 timmar
qHBV HPC CONTROL + (hög positiv kontroll)	-15 till -35 °C	15 till 30 °C	Ampull för engångsbruk – använd inom 24 timmar
qHBV-Target Enhancer-reagens	15 till 30 °C	15 till 30 °C	30 dagar ^a

^a Reagens som avlägsnas från Panther-systemet ska omedelbart återbördas till lämpliga förvaringstemperaturer.

- B. Kassera eventuella oanvända rekonstituerade reagens, Target Capture-reagens (TCR) och Target Enhancer-reagens (TER) efter 30 dagar eller efter huvudbatchens utgångsdatum, beroende på vilket som inträffar först.
- C. Reagens som förvaras i Panther-systemet har 72 timmars hållbarhet i instrumentet. Reagens kan laddas i Panther-systemet upp till 5 gånger. Panther-systemet loggar varje tillfälle då reagensen laddas.

- D. När kalibratorm har tinats upp måste lösningen vara klar, dvs. den får inte vara grumlig eller ha utfällningar.
- ⚠ E. Promotorreagens och rekonstituerat promotorreagens är ljuskänsliga. Skydda dessa reagens från ljus under förvaring och beredning för användning.
- F. qHBV Target Enhancer-reagenset måste ha en temperatur på 15 till 30 °C innan det används.

Provtagning och provförvaring

Obs! Hantera alla prover som om de innehåller potentiellt smittförande ämnen. Vidta allmänt vedertagna försiktighetsåtgärder.

Obs! Undvik korskontamination under hantering av prover. Använda material och ämnen ska till exempel kasseras utan att passera över öppna rör.

Obs! Endast sekundära rör av plast rekommenderas för förvaring.

Helblodsprover som har samlats in i följande glas- eller plaströr kan användas:

- Provrör innehållande EDTA eller ACD-antikoagulanter.
- Plasmaberedningsrör (PPT-enheter).
- Serumrör.
- Serumseparationsrör (SST-enheter).

För serum ska koagel hinna bildas före fortsatt bearbetning.

A. Provtagning

Helblod kan förvaras i 2 till 30 °C och måste centrifugeras inom 24 timmar efter provtagningen. Separera plasma eller serum från de pelletterade röda blodkropparna i enlighet med tillverkarens anvisningar för det provrör som används. Plasma eller serum kan testas i Panther-systemet i ett primärt rör eller överförs till ett sekundärt rör, som Aptima provalikvotrör. För att erhålla en reaktionsvolym på 500 µl är den lägsta volymen plasma eller serum för primära provtagningsrör 1200 µl, och för sekundära rör är den lägsta volymen 700 µl. Följande tabell identifierar dödvolymskrav för varje primär och sekundär rörtyp.

Rör (storlek och typ)	Dödvolymskrav på Panther
Aptima Sample Aliquot Tube (provalikvotrör (SAT))	0,2 ml
12x75 mm	0,5 ml
13x100 mm	0,5 ml
13x100 mm med gel	0,3 ml
16x100 mm med gel	0,7 ml

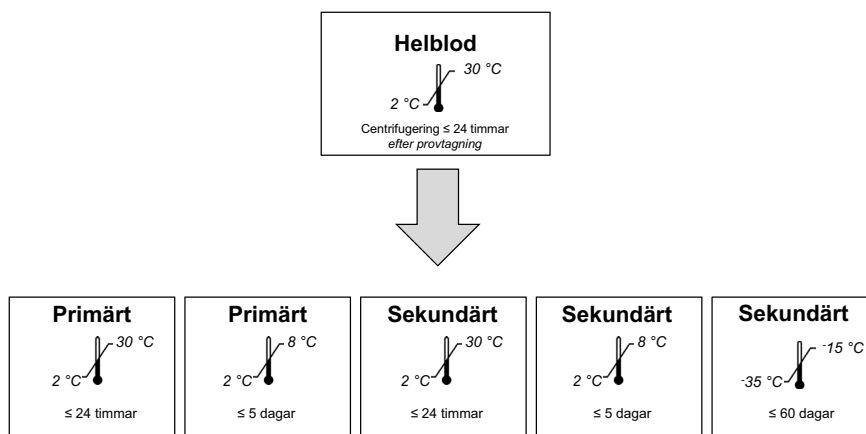
Plasma och serum som inte analyseras omedelbart kan förvaras i enlighet med nedanstående anvisningar. Vid överföring till ett sekundärt rör kan plasma eller serum frysas vid -20 °C. Överskrid inte tre nedfrysnings-upptinningscykler. Frys inte prover i EDTA, ACD eller primära provtagningsrör för serum.

B. Förvaringsförhållanden för prover

1. EDTA- och ACD-plasmaprover

Helblod kan förvaras i 2 till 30 °C och måste centrifugeras inom 24 timmar efter provtagningen. Plasma kan sedan förvaras under något av följande förhållanden:

- I det primära provtagningsröret eller ett sekundärt rör vid 2 °C till 30 °C i upp till 24 timmar,
- I det primära provtagningsröret eller ett sekundärt rör vid 2 °C till 8 °C i upp till 5 dagar, eller
- I det sekundära röret vid -20 °C i upp till 60 dagar.

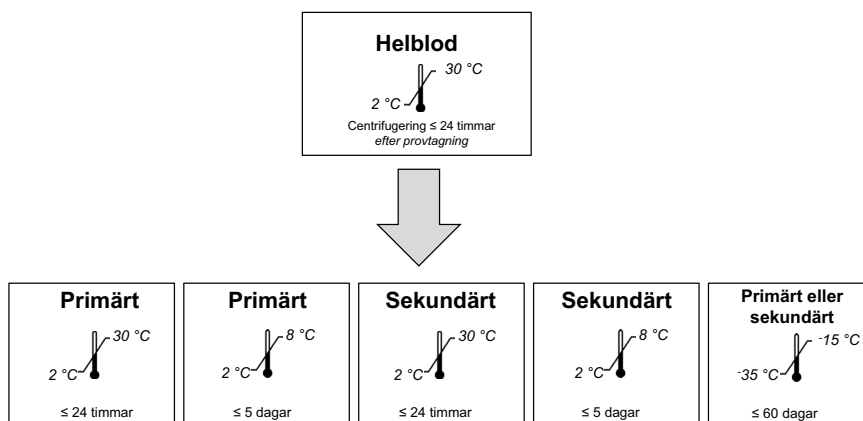


Figur 1. Förvaringsförhållanden för EDTA-/ACD-rör

2. PPT-prover

Helblod kan förvaras i 2 till 30 °C och måste centrifugeras inom 24 timmar efter provtagningen. Plasma kan sedan förvaras under något av följande förhållanden:

- I PPT eller ett sekundärt rör vid 2 °C till 30 °C i upp till 24 timmar,
- I PPT eller ett sekundärt rör vid 2 °C till 8 °C i upp till 5 dagar, eller
- I PPT eller ett sekundärt rör vid -20 °C i upp till 60 dagar.

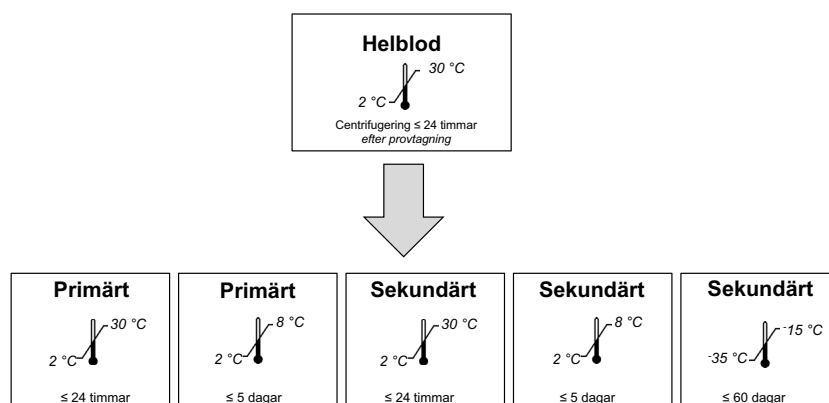


Figur 2. Förvaringsförhållanden för PPT-enheter

3. Prover i serumrör

Helblod kan förvaras i 2 till 30 °C och måste centrifugeras inom 24 timmar efter provtagningen. Serum kan förvaras under något av följande förhållanden:

- I serumröret eller ett sekundärt rör vid 2 °C till 30 °C i upp till 24 timmar,
- I serumröret eller ett sekundärt rör vid 2 °C till 8 °C i upp till 5 dagar, eller
- I det sekundära röret vid -20 °C i upp till 60 dagar.

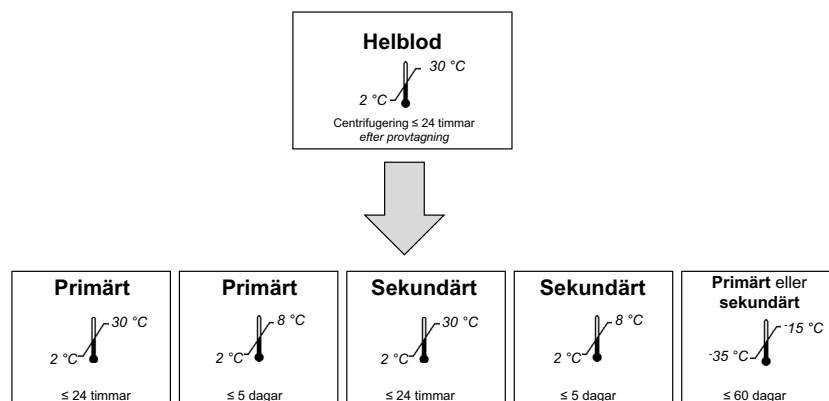


Figur 3. Förvaringsförhållanden för serumrör

4. SST-prover

Helblod kan förvaras i 2 till 30 °C och måste centrifugeras inom 24 timmar efter provtagningen. Serum kan förvaras under något av följande förhållanden:

- I provalikvotröret eller ett sekundärt rör vid 2 °C till 30 °C i upp till 24 timmar,
- I provalikvotröret eller ett sekundärt rör vid 2 °C till 8 °C i upp till 5 dagar, eller
- I provalikvotröret eller ett sekundärt rör vid -20 °C i upp till 60 dagar.



Figur 4. Förvaringsförhållanden för SST-enheter

C. Långtidsnedfrysning

Plasma- eller serumprover kan förvaras i -65 till -85 °C i upp till 60 dagar i SAT.

D. Spädning av plasma- och serumprover

Plasma- och serumprover kan spädas i provalikvotröret eller ett sekundärt rör för analys i Panther-systemet. Se *Analysmetod för Panther System*, paragraf E, "Provhantering", steg 6 för mer information.

Obs! Om ett prov späds ut måste det analyseras omedelbart efter spädningen. Frys inte ett utspätt prov.

Prover i Panther System

Prover kan lämnas kvar i Panther-systemet utan lock i upp till 8 timmar. Prover kan tas ut från Panther-systemet och analyseras så länge den totala tiden i instrumentet inte överstiger 8 timmar före pipettering av provet i Panther System.

Transport av prover

Se till att följa de provförvaringsförhållanden som beskrivs i *Provtagning och provförvaring*.

Obs! Prover måste fraktas i enlighet med tillämpliga nationella, internationella och regionala transportbestämmelser.

Panther System

Reagens för Aptima HBV Quant Assay anges nedan för Panther-systemet. Symboler för identifiering av reagens anges även bredvid respektive reagensnamn.

Medföljande reagens och material

Obs! Information om risker och skyddsangivelser som kan vara relevanta för reagens finns i Safety Data Sheet Library (bibliotek med säkerhetsdatablad) på www.hologic.com/sds.

Aptima HBV Quant Assay Kit, 100 tester (artikelnummer PRD-03424)
(1 analysbox, 1 kalibratorsats, 1 kontrollsats och 1 Target Enhancer Reagent-box)

Ytterligare kalibratorer och kontroller kan beställas separat. Se respektive artikelnummer nedan.

Box med Aptima HBV Quant Assay
(förvaras i 2 till 8 °C efter leverans)

Symbol	Komponent	Antal
A	qHBV-amplifieringsreagens <i>Icke-smittförande nukleinsyror torkade i buffrad lösning.</i>	1 ampull
E	qHBV-enzymreagens <i>Reverse transcriptase och RNA-polymeras som torkats i HEPES-buffrad lösning.</i>	1 ampull
PRO	qHBV-promotorreagens <i>Icke-smittförande nukleinsyror torkade i buffrad lösning.</i>	1 ampull
AR	qHBV-amplifieringsrekonstitutionslösning <i>Vattenlösning innehållande glycerol och konserveringsmedel.</i>	1 x 7,2 ml
ER	qHBV-enzymrekonstitutionslösning <i>HEPES-buffrad lösning innehållande ett ytaktivt ämne och glycerol.</i>	1 x 5,8 ml
PROR	qHBV-promotorrekonstitutionslösning <i>Vattenlösning innehållande glycerol och konserveringsmedel.</i>	1 x 4,5 ml
TCR	qHBV-Target Capture-reagens <i>Nukleinsyror i buffrad saltlösning innehållande icke smittförande nukleinsyror i fast fas samt en intern kalibrator.</i>	1 x 72,0 ml
	Rekonstitutionskragar	3
	Streckkodsblad för huvudbatch	1 blad

Aptima HBV Quant kalibratorsats (artikelnummer PRD-03425)
(förvaras i -15 till -35 °C efter leverans)

Symbol	Komponent	Antal
PCAL	qHBV positiv kalibrator <i>Plasmid-DNA i buffrad lösning</i>	5 x 2,5 ml
	Streckkodsetikett för kalibrator	—

Aptima HBV Quant kontrollsats (artikelnummer PRD-03426)
(förvaras i -15 till -35 °C efter leverans)

Symbol	Komponent	Antal
NC	qHBV negativ kontroll <i>HBV-negativ defibrinerad human plasma innehållande gentamicin och 0,2 % natriumazid som konserveringsmedel.</i>	5 x 0,8 ml
LPC	qHBV låg positiv kontroll <i>Inaktiverad HBV-positiv plasma i defibrinerad human plasma innehållande gentamicin och 0,2 % natriumazid som konserveringsmedel.</i>	5 x 0,8 ml
HPC	qHBV hög positiv kontroll <i>Inaktiverad HBV-positiv plasma i defibrinerad human plasma innehållande gentamicin och 0,2 % natriumazid som konserveringsmedel.</i>	5 x 0,8 ml
	Streckkodsetikett för kod	—

Box med Aptima HBV Quant Target Enhancer Reagent
(förvaras i 15 till 30 °C efter leverans)

Symbol	Komponent	Antal
TER	qHBV-Target Enhancer-reagens <i>En koncentrerad litiumhydroxid-lösning</i>	1 x 46,0 ml

Nödvändiga material som införskaffas separat

Obs! Material som finns tillgängliga hos Hologic anges med respektive artikelnummer om inget annat anges.

Material	Artikelnummer
Panther System	—
Panther Run Kit for Real Time Assays (endast för realtidsanalyser)	PRD-03455 (5 000 analyser)
<i>Aptima Assay Fluids Kit (även känd som Universal Fluids Kit)</i> <i>innehåller Aptima tvättlösning, Aptima-buffert för inaktiveringsvätska och Aptima oljereagens</i>	303014 (1 000 analyser)
<i>Multirörsenheter (MTU-enheter)</i>	104772-02
<i>Panther Waste Bag Kit</i>	902731
<i>Panther Waste Bin Cover</i>	504405
Eller, Panther System Run Kit <i>(vid körning av TMA-analyser som inte utförs i realtid, parallellt med TMA-analyser i realtid)</i> <i>innehåller MTU-enheter, avfallspåsar, lock till avfallsbehållare, Auto Detect och analysvätskor</i>	303096 (5 000 analyser)
Spetsar, 1 000 µl, konduktiva, vätskeavkännande	10612513 (Tecan)
5 till 7 % (0,7 till 1,0 M) natriumhypokloritlösning	—
Pudrefria engångshandskar	—
Utbyteslock till reagens <i>Flaskor med rekonstitutionslösningar för amplifierings-, enzym- och promotorreagens CL0041 (100 lock)</i>	
<i>TCR-flaska</i>	CL0040 (100 lock)
<i>TER-flaska</i>	501604 (100 lock)
Skyddspapper för laboratoriebänk med plastad baksida	—
Luddfria dukar	—
Pipett	—
Spetsar	—
Alternativ för primära provtagningsrör:	
<i>13 x 100 mm</i>	—
<i>13 x 75 mm</i>	—
<i>16 mm x 100 mm</i>	—
Centrifug	—
Vortexblandare	—

Valfri materiel

Material	Artikelnummer
Alternativ för sekundära rör:	
12 mm x 75 mm	—
13 mm x 100 mm	—
16 mm x 100 mm	—
Aptima provalikvotrör (SAT) (100-pack)	503762
Lock till transportrör (100-pack) lock för SAT	504415
Aptima Specimen Diluent	PRD-03003
Aptima Specimen Diluent Kit	PRD-03478
<i>innehåller provspädningsmedel, 100 provalikvotrör och 100 lock</i>	
Överföringspipetter	—
Kommersiellt tillgängliga paneler, till exempel:	—
<i>HBV-paneler från Kvalitetskontroll för molekylärdiagnostik (Quality Control for Molecular Diagnostics, QCMD)</i>	
Provpinnar med bomullstopp	—
Provrörsvagga	—

Analysmetod för Panther System

Obs! Se användarhandledningen för Panther System för ytterligare information om förfaranden.

A. Förbereda arbetsytan

1. Rengör arbetsytan där reagens ska beredas. Torka av arbetsytorna med 2,5 till 3,5 % (0,35 till 0,5 M) natriumhypokloritlösning. Låt natriumhypokloritlösningen verka minst en minut på arbetsytorna och skölj sedan med avjoniserat vatten. Låt inte natriumhypokloritlösningen torka. Täck bänkytan med rena och absorberande skyddspapper för laboratoriebänk med plastad baksida.
2. Rengör en separat bänkyta för beredning av prover. Följ proceduren som beskrivs ovan (steg A.1).
3. Rengör eventuella pipetter. Använd rengöringsproceduren som beskrivs ovan (steg A.1).

B. Bereda kalibrator och kontroller

Låt kalibratoren och kontrollerna nå 15 till 30 °C före bearbetning enligt följande:

1. Ta ut kalibratoren och kontrollerna från förvaringen (-15 till -35 °C) och placera dem i en temperatur på 15 till 30 °C. Vänd försiktigt på varje rör under upptiningsproceduren så att innehållet blandas ordentligt. Kontrollera att provrörsinnehållet är helt upptinat före användning.

Alternativ: Kalibrator- och kontrollrören kan placeras på en provrörsvagga så att innehållet blandas ordentligt. Kontrollera att provrörsinnehållet är helt upptinat före användning.

Obs! Undvik överdriven skumbildning när du vänder på kalibratoren och kontrollerna. Skummet försämrar nivåavkänningsfunktionen i Panther-systemet.

2. När rörinnehållet har tinat upp torkar du rörets utsida med en ren och torr engångsduk.
3. Öppna inte rören i det här stadiet eftersom det kan leda till förorening av innehållet.

C. Rekonstituera reagens/bereda en ny sats

Obs! Innan du börjar arbeta med Panther-systemet ska reagensen rekonstitueras.

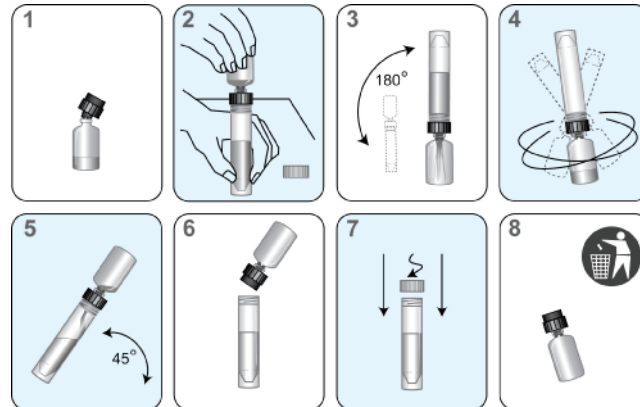
1. Så här bereder du Target Capture-reagens (TCR):
 - a. Ta ut TCR från förvaringen (2 till 8 °C). Kontrollera att batchnumret på TCR-flaskan motsvarar batchnumret på huvudbatchens streckkodsblad.
 - b. Skaka omedelbart TCR-flaskan kraftigt 10 gånger. Låt TCR-flaskan stå i 15 till 30 °C så att den värms upp i minst 45 minuter. Snurra och vänd på TCR-flaskan minst var 10:e minut.

Alternativ. TCR-flaskan kan förberedas på en provrörsvagga enligt följande: Ta ut TCR från förvaringen (2 till 8 °C) och skaka det omedelbart 10 gånger kraftigt. Placera TCR-flaskan på en provrörsvagga och låt reagenset värmas upp i minst 45 minuter i 15 till 30 °C.

- c. Kontrollera att alla utfällningar har lösts upp och att magnetpartiklarna har suspenderats före användning.
2. Så här rekonstituerar du amplifierings-, enzym- och promotorreagens:
 - a. Ta ut frystorkade reagens och motsvarande rekonstitutionslösningar från förvaring (2 till 8 °C). Para ihop varje rekonstitutionslösning med respektive frystorkat reagens.
 - b. Se till att rekonstitutionslösningen och det frystorkade reagenset har matchande etikettfärger. Kontrollera batchnumret på huvudbatchens streckkodsblad så att korrekta reagens paras ihop.
 - i. Öppna den frystorkade reagensampullen genom att ta bort metalltätningen och gummistoppet.
 - ii. För bestämt in den skårade änden av rekonstitutionskragen (svart) på ampullen (Figur 5, steg 1).
 - iii. Öppna motsvarande flaska med rekonstitutionslösning och lägg locket på en ren, täckt arbetsyta.
 - iv. Placera flaskan med rekonstitutionslösning på en stabil yta (till exempel bänken). Vänd sedan den ampullen med frystorkat reagens över rekonstitutionslösningsflaskan och anslut kragen ordentligt till rekonstitutionslösningsflaskan (Figur 5, steg 2).
 - v. Vänd försiktigt på de hopmonterade flaskorna (ampull ansluten till flaskan med lösning) igen så att lösningen rinner tillbaka in i glasampullen (Figur 5, steg 3).
 - vi. Plocka upp de hopmonterade flaskorna och snurra dem i minst 10 sekunder (Figur 5, steg 4).
 - vii. Vänta i minst 30 minuter tills det frystorkade reagenset har lösts upp i lösningen.
 - viii. När det frystorkade reagenset har lösts upp i lösningen virvlar du de hopmonterade flaskorna i minst 10 sekunder och vaggas sedan lösningen i glasampullen fram och tillbaka så att den blandas ordentligt.

- c. Luta långsamt de hopmonterade flaskorna på nytt så att all lösning rinner tillbaka in i flaskan med rekonstitutionslösning (Figur 5, steg 5).
- d. Ta försiktigt bort rekonstitutionskragen och glasampullen (Figur 5, steg 6).
- e. Sätt tillbaka locket på flaskan. Notera operatörens initialer och rekonstitutionsdatum på etiketten (Figur 5, steg 7).
- f. Kassera rekonstitutionskragen och glasampullen (Figur 5, steg 8).

Varning: Undvik överdriven skumbildning när du rekonstituerar reagens. Skummet försämrar nivåavkänningsfunktionen i Panther-systemet.



Figur 5. Rekonstituering av reagens

3. Ta ut qHBV Target Enhancer-reagenset från förvaringen (15 till 30 °C). Notera operatörens initialer och öppningsdatum på etiketten. Kontrollera att batchnumret på TER-flaskan motsvarar batchnumret på huvudbatchens streckkodsblad.
- D. Reagensförberedelse av tidigare beredda reagens
1. Ta ut tidigare beredda reagens från förvaringen (2 till 8 °C). Tidigare beredda amplifierings-, enzym- och promotorreagens samt TCR måste nå 15 till 30 °C innan analysen påbörjas.
 2. Ta ut TER från förvaringen (15 till 30 °C).
 3. För tidigare berett TCR utför du steg C.1 ovan före laddning i systemet.
 4. Virvla och vänd på amplifierings-, enzym- och promotorreagensen så att de blandas ordentligt innan de laddas i systemet. Undvik överdriven skumbildning när du vänder på reagens.
 5. Toppfyll inte reagensflaskor. Panther-systemet känner av och avvisar flaskor som är toppfyllda.
- E. Provhantering
1. Se till att behandlade prover i primära rör eller utspädda prover i sekundära rör har förvarats korrekt enligt "Provtagning och provförvaring" på sida 7.
 2. Frysta prover måste tinas upp ordentligt. Vortexblanda de tinade proverna i 3 till 5 sekunder så att de blandas ordentligt.
 3. Låt proverna nå 15 till 30 °C före bearbetning. Se *Prover i Panther System* för ytterligare information om hantering av prover i instrumentet.

4. Se till att varje primärt provtagningsrör innehåller upp till 1200 µl provmaterial eller att varje provalikvotrör innehåller minst 700 µl provmaterial. Se tabellen på *Provtagning* på sida 7 för att identifiera dödvolymskrav för varje primär och sekundär rörtyp. Om det är nödvändigt med provutspädning, se steg E.6 nedan för ytterligare information.
5. Alla prover ska centrifugeras i 1 000 till 3 000g i 10 minuter innan de laddas i provstället. Ta inte av locken. Bubblor i provrören kan försämra nivåavkänningsfunktionen i Panther-systemet.

Se *Systemförberedelse*, steg F.2 nedan för information om laddning av ställ och borttagning av lock.

6. Späd ut provmaterial 1:3 i ett provalikvotrör eller 1:100 i ett sekundärt rör. Ett provmaterial kan spädas ut i ett sekundärt rör för analys i Panther-systemet.

Obs! Om ett prov späds ut måste det analyseras omedelbart efter spädningen.

- a. Späda ut prover med låg volym

Provvolymer kan ökas till den erforderliga minimivolymer (700 µl) med hjälp av Aptima Specimen Diluent. Prover bestående av minst 240 µl kan spädas ut med två delar provspädningsmedel (1:3) enligt följande:

- i. Placera 240 µl provämne i SAT.
- ii. Tillsätt 480 µl Aptima provspädningsmedel.
- iii. Sätt lock på röret.
- iv. Vänd försiktigt 5 gånger för att blanda.

Prov som spädas ut med förhållandet 1:3 kan analyseras i Panther-systemet med alternativet 1:3 (se *användarhandledningen för Panther System* för mer information). Programvaran rapporterar automatiskt det rena resultatet genom att tillämpa spädningsfaktorn. Dessa prover flaggas som utspädda prover.

- b. Utspädning av prover med högre titrer

Om ett provresultat befinner sig ovanför den övre kvantifieringsgränsen (ULoQ) kan det spädas ut med 99 delar Aptima Specimen Diluent (1:100) enligt följande:

- i. Placera 30 µl provmaterial i provalikvotröret eller i ett sekundärt rör.
- ii. Tillsätt 2970 µl Aptima provspädningsmedel.
- iii. Sätt lock på röret.
- iv. Vänd försiktigt 5 gånger för att blanda.

Prover utspädda med 1:100 kan testas med alternativet 1:100 i Panther-systemet (se *användarhandledningen för Panther System* för mer information). Programvaran rapporterar nettoresultatet genom att tillämpa spädningsfaktorn. Dessa prover flaggas som utspädda prover.

Obs! För utspädda prover med rena koncentrationer högre än ULoQ kommer resultaten att rapporteras med hjälp av vetenskaplig notering.

F. Systemförberedelse

1. Konfigurera systemet enligt anvisningarna i *användarhandledningen för Panther System* och *Metodanmärkningar*. Se till att använda reagensställ och TCR-adaptrar av lämplig storlek.
2. Ladda proverna i provstället. Utför följande steg för varje provrör (prov, och, om nödvändigt, kalibrator och kontroller):
 - a. Lossa på ett av provrörslocken, men ta inte bort det ännu.
Obs! Var särskilt noga med att undvika förorening genom spridning av aerosoler. Lossa försiktigt locken på proverna.
 - b. Ladda provröret i provstället.
 - c. Upprepa steg 2.a och 2.b för varje återstående prov.
 - d. När proverna har laddats i provstället tar du bort och kasserar varje provrörslock i ett provställ. Håll inte lock ovanför andra provställ eller provrör eftersom det kan leda till föroreningar.
 - e. Använd om så krävs en ny överföringspipett för engångsbruk för att avlägsna eventuella bubblor eller skum.
 - f. När det sista locket har tagits bort laddar du provstället i provfacket.
Obs! Om du kör andra analyser och provtyper samtidigt måste du säkra provhållaren innan provstället laddas i provfacket.
 - g. Upprepa steg 2.a till 2.f med nästa provställ.

Metodanmärkningar

A. Kalibrator och kontroller

1. Rören för qHBV positiv kalibrator, qHBV låg positiv kontroll, qHBV hög positiv kontroll och qHBV negativ kontroll kan laddas i alla positioner i provstället och i alla provfackbanor i Panther-systemet. Provpipettering inleds när ett av följande två villkor är uppfyllt:
 - a. Systemet bearbetar kalibratoren och kontrollerna.
 - b. Systemet registrerar giltiga resultat för kalibratoren och kontrollerna.
2. När kalibrator- och kontrollrören har pipetterats och behandlar för reagenssatsen för Aptima HBV Quant Assay kan proverna testas med motsvarande rekonstituerad sats i upp till 24 timmar, **såvida inte**:
 - a. kalibrator- eller kontrollresultaten är ogiltiga,
 - b. den tillhörande analysreagenssatsen avlägsnas från systemet,
 - c. tillhörande analysreagenssats har passerat stabilitetsgränsen.
3. Kalibratoren och varje kontrollrör kan användas en gång. Om du försöker att använda röret mer än en gång kan bearbetningsfel uppstå.

B. Handskpunder

Precis som i alla reagenssystem kan stora mängder puder på vissa handskar orsaka föroreningar i öppna rör. Puderfria handskar rekommenderas.

Kvalitetskontroll

Körningar eller provresultat kan ogiltigförklaras av en operatör om tekniska, operativa eller instrumentrelaterade problem observeras och dokumenteras i samband med analysen. I det här fallet måste proverna analyseras igen.

Analyskalibrering

För att få fram giltiga resultat måste en analyskalibrering utföras. En enskild positiv kalibrator körs i tre replikat varje gång en reagensslot laddas i Panther-systemet. En utförd kalibrering gäller i upp till 24 timmar. Programvaran i Panther-systemet meddelar operatören när en kalibrering krävs. Operatören skannar en kalibreringskoefficient som finns på streckkodsbladet för huvudbatchen som medföljer alla reagensloter.

Under bearbetningen verifierar Panther-systemets programvara automatiskt acceptanskriterier för kalibreringen. Om färre än två kalibratorreplikater är giltiga ogiltigförklaras körningen automatiskt av programvaran. Prover i ogiltigförklarade körningar måste analyseras på nytt med hjälp av nyberedda kalibratorer och kontroller.

Negativa och positiva kontroller

För att kunna erhålla giltiga resultat måste en uppsättning analyskontroller analyseras. Ett replikat av den negativa kontrollen, den låga positiva kontrollen och den höga positiva kontrollen måste analyseras varje gång en reagensslot laddas i Panther-systemet. En utförd kontroll gäller i upp till 24 timmar. Programvaran i Panther-systemet meddelar operatören när kontroller krävs.

Under bearbetningen verifierar Panther-systemets programvara automatiskt acceptanskriterier för kontrollerna. För att generera giltiga resultat måste den negativa kontrollen ge resultatet "Ej detekterat" och de positiva kontrollerna måste ge resultat inom på förhand definierade parametrar (LPC nominellt mål: 2,7 Log₁₀ IU/ml, HPC nominellt mål: 4,6 Log₁₀ IU/ml). Om någon av kontrollerna ger ett ogiltigt resultat kommer programvaran automatiskt att ogiltigförklara körningen. Prover i ogiltigförklarade körningar måste analyseras på nytt med hjälp av nyberedda kalibratorer och kontroller.

Inre kalibrator/inre kontroll

Varje prov innehåller en inre kalibrator/inre kontroll (IC). Under bearbetningen verifierar Panther-systemets programvara automatiskt acceptanskriterier för IC. Om ett IC-resultat är ogiltigt blir även provresultatet ogiltigförklarat. Alla prover med ogiltiga IC-resultat måste analyseras på nytt för att ett giltigt resultat ska kunna erhållas.

Panther-systemets programvara är konstruerad för exakt verifiering av processer då procedurerna utförs i enlighet med anvisningarna i den här bipacksedeln och *användarhandledningen för Panther System*.

Tolkning av resultat

Panther-systemet fastställer automatiskt koncentrationen av HBV DNA för prover och kontroller genom att jämföra resultaten med en kalibreringskurva. HBV DNA-koncentrationer rapporteras i IU/ml och \log_{10} IU/ml. Tolkningen av resultaten ges i Tabell 1. Om spädningsalternativet används för utspädda prover beräknar Panther-systemet automatiskt HBV-koncentrationen för det rena provet genom att multiplicera den utspädda koncentrationen med spädningsfaktorn, och utspädda prover flaggas som utspädda.

Obs! Med utspädda prover kan resultat listade som "Ej detekterat" eller "< 10 detekterat" komma att genereras vid utspädning av ett prov med en koncentration över men i närheten av LoD (detekteringsgränsen) eller LLoQ (nedre kvantifieringsgränsen). Du rekommenderas ta och analysera ytterligare ett rent prov om ett kvantitativt resultat inte erhålls.

Tabell 1: Tolkning av resultat

Rapporterat Aptima HBV Quant Assay-resultat		Tolkning
IU/ml	Log ₁₀ -värde ^a	
Ej detekterat	Ej detekterat	HBV DNA ej detekterat.
< 10 detekterat	< 1,0	HBV DNA har detekterats, men på en nivå under LLoQ.
10 till 1 000 000 000	1,0 till 9,0	HBV DNA-koncentrationen är inom det linjära intervallet på 10 till 1 000 000 000 IU/ml.
> 1 000 000 000	> 9,0	HBV DNA-koncentrationen ligger över ULoQ.
Ogiltigt ^b	Ogiltigt ^b	Det uppstod ett fel när resultatet genererades. Provet bör analyseras på nytt.

^a Värdet trunckeras till två decimaler.

^b Ogiltiga resultat visas med blå text.

Obs! För utspädda prover med rena koncentrationer högre än ULoQ kommer resultaten att rapporteras med hjälp av vetenskaplig notering.

Begränsningar

- Den här analysen får endast utföras av personal med utbildning i proceduren. Om anvisningarna i bipacksedeln inte följs finns det risk för felaktiga resultat.
- Pålitliga resultat förutsätter att proverna samlas in, transporteras, förvaras och bearbetas på ett korrekt sätt.
- Mutationer, även om de är ovanliga, inom de väl konserverade områdena av det virala genomet som täcks av primrarna eller probes i Aptima HBV Quant Assay, kan leda till underkvantifiering av eller omöjlighet att detektera viruset.

Resultat

Detekteringsgräns vid användning av WHO:s tredje internationella standard

Detekteringsgränsen (LoD) för analysen definieras som den HBV DNA-koncentration som detekteras vid en sannolikhet på 95 % eller högre, i enlighet med CLSI EP17-A2.¹²

LoD fastställdes genom analys av paneler utifrån WHO:s tredje internationella standard för hepatit B-virus DNA (NIBSC 10/264) som har späts ut i HBV-negativ human plasma och serum. Minst 36 replikat av varje utspädning testades med var och en av tre reagensloter för minst 108 replikat per utspädning. En probit-analys utfördes i syfte att generera förväntade detekteringsgränser. LoD-värdena som visas i Tabell 2 utgör resultaten från reagensbatchen med den övre förväntade detekteringsgränsen. LoD för Aptima HBV Quant Assay med användning av WHO:s tredje internationella standard är 5,58 IU/ml för plasma och 4,29 IU/ml för serum.

Tabell 2: Detekteringsgräns vid användning av WHO:s tredje internationella standard för HBV

Förväntad detekteringsgräns	Koncentration (IU/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

Detekteringsgräns för HBV-genotyper

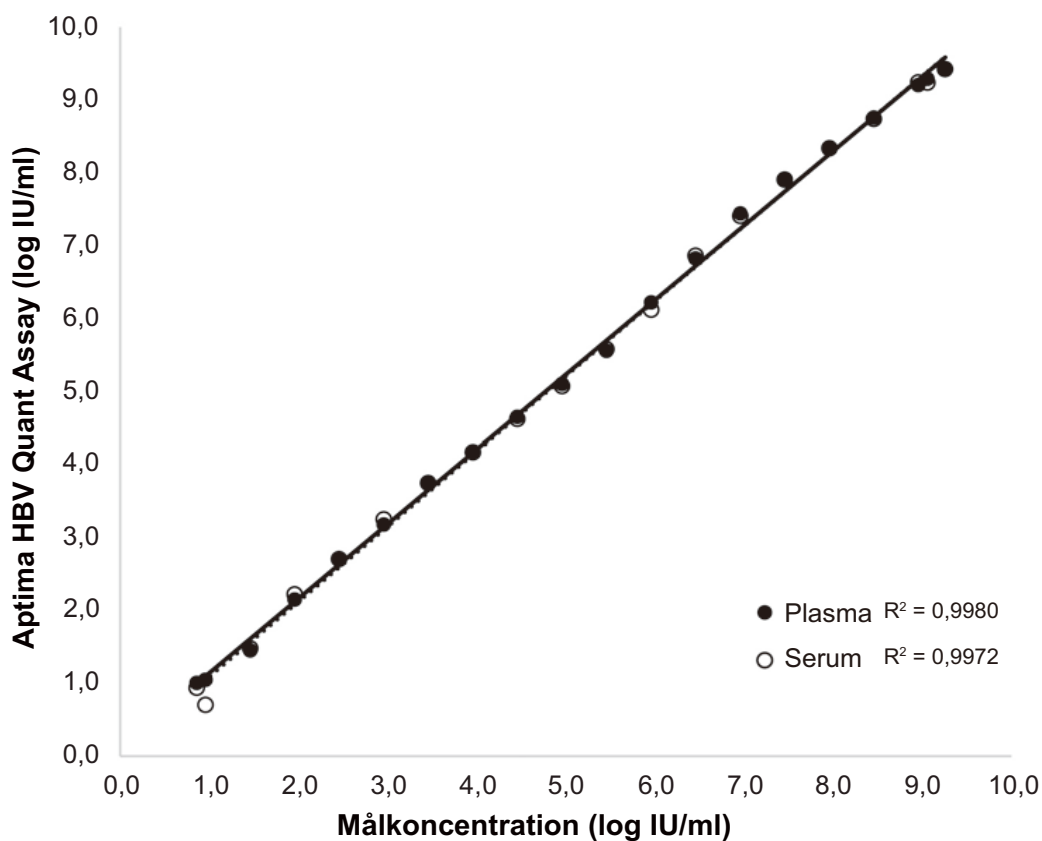
LoD fastställdes genom analys av spädningar av HBV-positiva kliniska prover för genotyperna A, B, C, D, E, F, G och H i HBV-negativ human plasma och serum. Koncentrationerna fastställdes med hjälp av en CE-märkt och en Health Canada-licensierad jämförelseanalys. Minst 24 replikat av varje panelmedlem testades med två reagensloter var för sig, för minst 48 replikat per panelmedlem. En probit-analys utfördes i syfte att generera förväntade detekteringsgränser på 50 % och 95 %. LoD-värdena som visas i Tabell 3 utgör resultaten från reagensbatchen med den övre förväntade detekteringsgränsen.

Tabell 3: Detekteringsgräns för HBV-genotyper med användning av kliniska prover

Genotyp	Förväntad detekteringsgräns	Koncentration (IU/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

Linjärt intervall

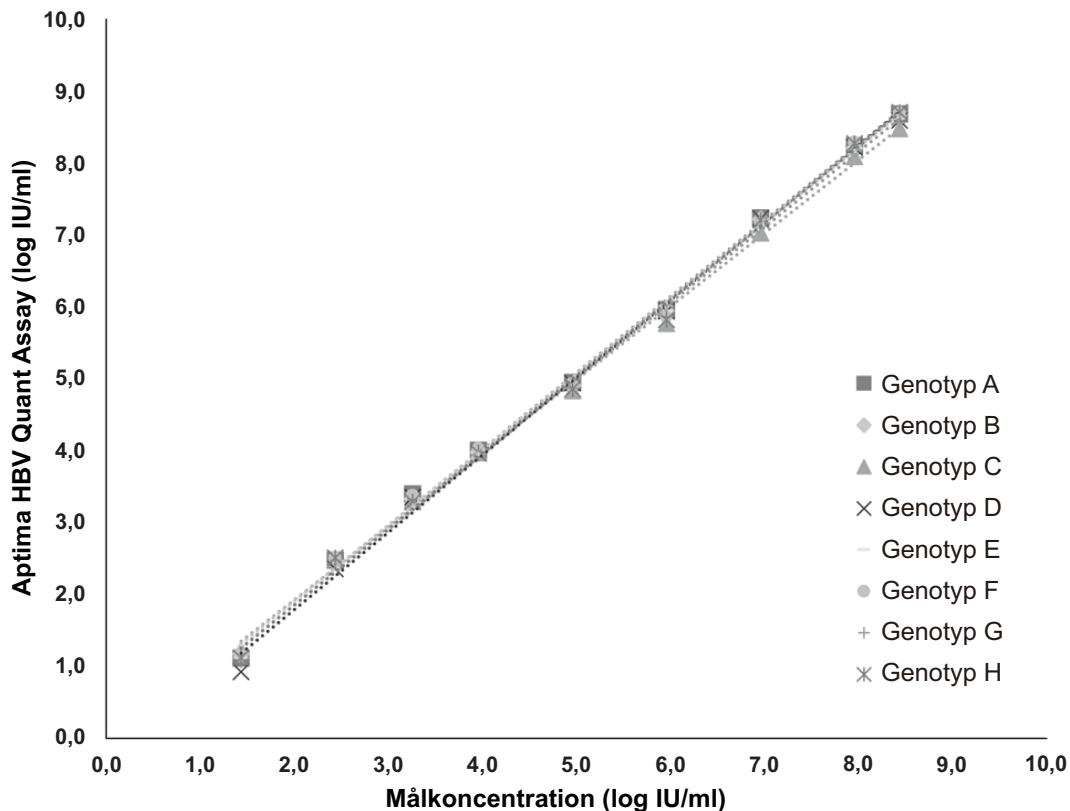
Det linjära intervallet fastställdes genom analys av HBV DNA-paneler utspädda i HBV-negativ human plasma och serum enligt CLSI EP06-A.¹³ Panelernas koncentration sträckte sig från 0,86 log IU/ml till 9,26 log IU/ml. Aptima HBV Quant Assay uppvisade linjäritet i hela analysintervallet, med en övre kvantifieringsgräns (ULoQ) på 9 log IU/ml enligt Figur 6.



Figur 6. Linjäritet i plasma och serum

Linjäritet i HBV-genotyper

Den linjära responsen för genotyperna A, B, C, D, E, F, G och H bekräftades genom analys av paneler med HBV DNA utspädda i buffer vid koncentrationer från 1,44 log IU/ml till 8,44 log IU/ml. Linjäritet påvisades i det analyserade intervallet för alla analyserade genotyper, som visas i Figur 7.



Figur 7. Linjäritet i HBV-genotyperna A till H

Nedre kvantifieringsgräns enligt WHO:s tredje internationella standard

LLoQ definieras som den lägsta koncentration vid vilken HBV DNA är tillförlitligt kvantifierat inom en felmarginal – enligt CLSI EP17-A2.¹² Felmarginalen uppskattades med hjälp av två metoder: Analytisk felmarginal (Total Analytical Error, TAE) = |bias| + 2SD, och felmarginal (Total Error, TE) = SQRT(2) x 2SD. För att garantera mätningarnas exakthet och precision bestämdes felmarginalen för Aptima HBV Quant Assay till 1 log IU/ml (det vill säga att vid LLoQ är skillnaden mellan två mätningar av mer än 1 log IU/ml statistiskt signifikant).

LLoQ fastställdes genom analys av paneler utifrån WHO:s tredje internationella standard för hepatit B-virus DNA (NIBSC 10/264)¹⁴ som har späts ut i HBV-negativ human plasma och serum. Minst 45 replikat av varje utspädning testades med var och en av tre reagenslotter för minst 135 replikat per utspädning. Resultaten från reagensloten med högst koncentration som uppfyllde TE- och TAE-kraven visas i Tabell 6. Beräknad LLoQ för WHO:s tredje internationella standard för hepatit B-virus är 4,80 IU/ml för plasma och 6,34 IU/ml för serum.

Tabell 4: Bestämning av LLoQ vid användning av WHO:s tredje internationella standard för HBV utspätt i plasma

Reagensbatch	Målkoncentration		Aptima HBV Quant	SD	Bias	Beräknat TE	Beräknat 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 = standardavvikelser

Tabell 5: Bestämning av LLoQ vid användning av WHO:s tredje internationella standard för HBV utspätt i serum

Reagensbatch	Målkoncentration		Aptima HBV Quant	SD	Bias	Beräknat TE	Beräknat 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 = standardavvikelser

Tabell 6: Sammanfattning av beräknad LLoQ vid användning av WHO:s tredje internationella standard för HBV

Reagensbatch	LLoQ för plasma		LLoQ för serum	
	(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 = standardavvikelser

Bestämning av nedre kvantifieringsgräns för HBV-genotyper

LLoQ fastställdes genom analys av spädningar av HBV-positiva kliniska prover för genotyperna A, B, C, D, E, F, G och H i HBV-negativ human plasma och serum. Minst 36 replikat av varje panelmedlem testades med två reagensloter var för sig, för minst 72 replikat per panelmedlem. Resultaten från reagensbatchen med den högsta koncentration som uppfyller noggrannhetsmålet ($TE \leq 1 \log \text{ IU/ml}$ och $TAE \leq 1 \log \text{ IU/ml}$) med 100 % detektering visas i Tabell 7 för plasma och Tabell 8 för serum. Resultaten för den lägsta koncentration som uppfyllde noggrannhetsmålet med 100 % detektering är nedtonade i båda tabellerna och sammanfattas i Tabell 9. Beräknad LLoQ för genotyperna A, B, C, D, E, F, G och H i plasma och serum sammanfattas i Tabell 9. Övergripande LLoQ för analysen bestämdes till 10 IU/ml.

Tabell 7: Bestämning av LLoQ i genotyper i plasma

Genotyp	Målkoncentration		Aptima HBV Quant	SD	Bias	Beräknat TE	Beräknat TAE
	(IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/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 = standardavvikelser

Tabell 8: Bestämning av LLoQ i genotyper i serum

Genotyp	Målkonzentration		Aptima HBV Quant	SD	Bias	Beräknat TE	Beräknat TAE
	(IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/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 = standardavvikelser

Tabell 9: Sammanfattning av LLoQ i genotyper i plasma och serum

Genotyp	LLoQ för plasma		LLoQ för serum	
	(log IU/ml)	(IU/ml)	(log IU/ml)	(IU/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

Reproducerbarhet

För att bedöma reproducerbarheten skapades en panel med 28 medlemmar genom att späda ut HBV-positiva kliniska prover (genotyp A och C) eller tillsats av HBV DNA (genotyp A och C) i HBV-negativ plasma och serum. Panelen testades av tre operatörer som använde tre reagensloter på tre Panther-system under 20 eller fler dagar.

Tabell 10 och Tabell 11 visar analysresultatens reproducerbarhet (i log IU/ml) mellan instrument, mellan operatörer, mellan satser, mellan körningar, inom körningar, och totalt. Den totala variabiliteten berodde primärt på grund av variabilitet inom körningar (det vill säga slumpfel).

Tabell 10: Reproducerbarhet för Aptima HBV Quant Assay för genotyp A

Matris	N	Medelkoncentration (log IU/ml)	Mellan operatörer		Mellan instrument		Mellan batcher		Mellan körningar		Inom körning		Totalt	
			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 = standardavvikelse

Obs! Variabiliteten för vissa faktorer kan vara numeriskt negativ, vilket kan inträffa om variabiliteten på grund av dessa faktorer är mycket liten. När detta sker visas SD och CV som 0.

Tabell 11: Reproducerbarhet för Aptima HBV Quant Assay för genotyp C

Matris	N	Medelkoncentration (log IU/ml)	Mellan operatörer		Mellan instrument		Mellan batcher		Mellan körningar		Inom körning		Totalt	
			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 = standardavvikelse

Obs! Variabiliteten för vissa faktorer kan vara numeriskt negativ, vilket kan inträffa om variabiliteten på grund av dessa faktorer är mycket liten. När detta sker visas SD och CV som 0.

Potentiellt interfererande substanser

Aptima HBV Quant Assays känslighet för interferens från förhöjda nivåer av endogenasubstanser och läkemedel som ofta ordineras till personer som är infekterade med HBV utvärderades. HBV-negativa plasmaprover och prover med HBV-tillsats till en koncentration av 4,3 log IU/ml av HBV DNA testades.

Ingen interferens observerades gällande resultaten för analysen i närvaro av albumin (90 mg/ml), hemoglobin (5 mg/ml), triglycerider (30 mg/ml) eller okonjugerat bilirubin (0,2 mg/ml).

Kliniska plasmaprover från patienter med förhöjda nivåer av definierade substanser eller från patienter med de sjukdomar som anges i Tabell 12 analyserades med Aptima HBV Quant Assay. Ingen interferens observerades gällande analysens resultat.

Tabell 12: Kliniska provtyper som testats

Kliniska provtyper	
1	Antinukleär antikropp (ANA)
2	Reumatoid faktor (RF)
3	Alkoholcirros (AC)
4	Alkoholbetingad hepatit
5	Icke-alkoholbetingad hepatit
6	Autoimmun hepatit
7	Förhöjd alaninaminotransferas (ALT)
8	Hepatocellulärt karcinom (HCC)
9	Multipel skleros (MS)
10	Systemisk lupus erythematosus (SLE)
11	Hyperglobulinemi
12	Ledgångsreumatism (RA)
13	Anti-Jo-1-antikropp (JO-1)
14	Multipelt myelom (MM)
15	Hemolyserade (förhöjda hemoglobinnivåer)
16	Ikteriska (förhöjda bilirubinnivåer)
17	Lipemiska (förhöjda lipidnivåer)
18	Förhöjt protein
19	HBV-antikroppar (vaccinerade)
20	HCV-antikroppar
21	HIV-1- och HIV-2-antikroppar

Ingen interferens observerades gällande resultaten för analysen i närvaro av de exogena substanser som anges i Tabell 13 vid koncentrationer på minst tre gånger C_{max} (human plasma).

Tabell 13: Exogena ämnen

Exogen substanspool	Analyserade exogena substanser
1	Sakvinavir, ritonavir, amprenavir, indinavir, lopinavir, nelfinavirmesyilat
2	Clarithromycin, valganciklovirhydroklorid, efavirenz, nevirapin
3	Paroxetin HCl, enfuvirtid, zidovudin, didanosin, abakavirsulfat
4	Ribavirin, entekavir, adefovirdipivoxil, tenofovirdisoproxilfumarat, lamivudin, ganciklovir, acyklovir
5	Stavudin, ciprofloxacin, fluoxetin, azitromycin, valacyklovir, sertralin, zalcitabin
6	Alfa-interferon-2a, alfa-interferon-2b, pegylerad alfa-interferon-2b

Specificitet

Specificiteten fastställdes med hjälp av 292 färsk och 747 frysta HBV-negativa kliniska prover. Totalt analyserades 521 plasmaprover och 518 serumprover. Specificiteten beräknades som procentandelen HBV-negativa prover med resultatet "Ej detekterat". HBV DNA detekterades inte i samtliga 1038 prover. Specificiteten var 99,9 % (1038/1039, 95 % CI: 99,5 -100 %).

Tabell 14: Specificitet i kliniska plasma- och serumprover

	Färsk plasma	Fryst plasma	Plasma totalt	Färskt serum	Fryst serum	Serum totalt	Kombinerat
Giltiga replikat (n)	145	376	521	147	371	518	1 039
Ej detekterat	145	376	521	147	370	517	1 038
Specificitet (95 % CI)	100 % (97,4 till 100)	100 % (99,0 till 100)	100 % (99,3 till 100)	100 % (97,5 till 100)	99,7 % (98,5 till 100)	99,8 % (98,9 till 100)	99,9 % (99,5 till 100)

CI = konfidensintervall

Analytisk specificitet

Potentiell korsreaktivitet för patogenerna i Tabell 15 utvärderades för HBV-negativ human plasma i närvaro eller frånvaro av 4,3 log IU/ml HBV DNA. Ingen korsreaktivitet eller interferens observerades i bakteriellt förorenad plasma eller i prover från försökspersoner infekterade med andra blodburna patogener eller de som hade fått HBV- och influensavaccin.

Tabell 15: Patogener som har testats för analytisk specificitet

Mikroorganism/patogen	Källa	Mikroorganism/patogen	Källa
Hepatit C-virus	Kliniskt prov	Mänskligt herpesvirus, typ 8	Odlingsvätska
Hepatit A-virus	Kliniskt prov	Japanskt encefalitivirus	Ascitesvätska
HBV-vaccinerad	Kliniskt prov	Murray Valley-encefalitivirus	Cellysat
HIV-1 och -2	Kliniskt prov	St. Louis-encefalitivirus	Odlingsvätska
Humant lymfotropiskt T-cellvirustyp 1 och 2	Kliniskt prov	Vacciniavirus	Cellysat
Parvovirus B19	Kliniskt prov	Gula febern-virus	Odlingsvätska
Cytomegalovirus	Kliniskt prov	<i>Candida albicans</i>	Kultur
Denguevirus, typ 1–4	Kliniskt prov	<i>Chlamydia trachomatis</i>	Kultur
Epstein-Barrvirus	Kliniskt prov	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	Kultur
Fluensavaccinerad	Kliniskt prov	<i>Mycobacterium gordonae</i>	Kultur
Humant papillomvirus	Kliniskt prov	<i>Mycobacterium smegmatis</i>	Kultur
Herpes simplex-virus 1 och 2	Kliniskt prov	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Kultur
Rubellavirus	Kliniskt prov	<i>Propionibacterium acnes</i>	Kultur
Varicella zoster-virus	Kliniskt prov	<i>Staphylococcus aureus</i>	Kultur
West Nile-virus	Kliniskt prov	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Kultur
BK mänskligt polyomavirus	Cellysat	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Kultur
Mänskligt herpesvirus 6B	Odlingsvätska	<i>Trichomonas vaginalis</i>	Kultur

Repeterbarhet för kliniska prover

Repeterbarheten utvärderades genom analys av tre replikat av naturligt infekterad HBV-positiv plasma och kliniska serumprover. Den genomsnittliga koncentrationen och standardavvikelsen för analyserade plasma- och serumprover visas i Tabeller 16 och 17.

Tabell 16: Repeterbarhet för kliniska plasmaprover

Plasmaprov	Genomsnittlig koncentration (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 = standardavvikelse

Tabell 17: Repeterbarhet för kliniska serumprover

Serumprov	Genomsnittlig koncentration (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 = standardavvikelse

Provutspädning med provutspädningsmedel

För att bedöma återvinning av HBV DNA i prover utspädda med Aptima Specimen Diluent, användes plasma- och serumprover som sträckte sig över det linjära intervallet och var utspädda till 1:3 med Aptima Specimen Diluent. Naturligt infekterade kliniska prover och prover med tillsats av HBV DNA med koncentrationer som översteg ULoQ spädades dessutom ut till 1:100 med Aptima Specimen Diluent. Varje prov testades både rent och utspätt (1:3 eller 1:100) i tre replikat. Skillnaderna mellan den genomsnittliga rapporterade koncentrationen (spädningsfaktor applicerad på det utspädda provresultatet) och genomsnittlig ren koncentration visas i Tabell 18 för plasma och Tabell 19 för serum. Provkoncentrationerna återvanns korrekt i de utspädda proverna.

Tabell 18: Provutspädning med Aptima Specimen Diluent i plasma

Spädning	Genomsnittlig ren koncentration (log IU/ml)	Genomsnittlig rapporterad koncentration ^a (log IU/ml)	Skillnad (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 ^b (10,20 ^c)	10,40	0,20

^a Rapporterad koncentration är det värde som beräknas efter det att spädningsfaktorn har tillämpats.

^b Prov med tillsats.

^c Målkoncentrationsvärde över ULoQ.

Tabell 19: Provtuspädning med Aptima Specimen Diluent i serum

Spädning	Genomsnittlig ren koncentration (log IU/ml)	Genomsnittlig rapporterad koncentration ^a (log IU/ml)	Skillnad (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
	8,47	8,31	-0,16
1:100	8,47	8,19	-0,28
	> 9,00 ^b (10,20 ^c)	10,43	0,23

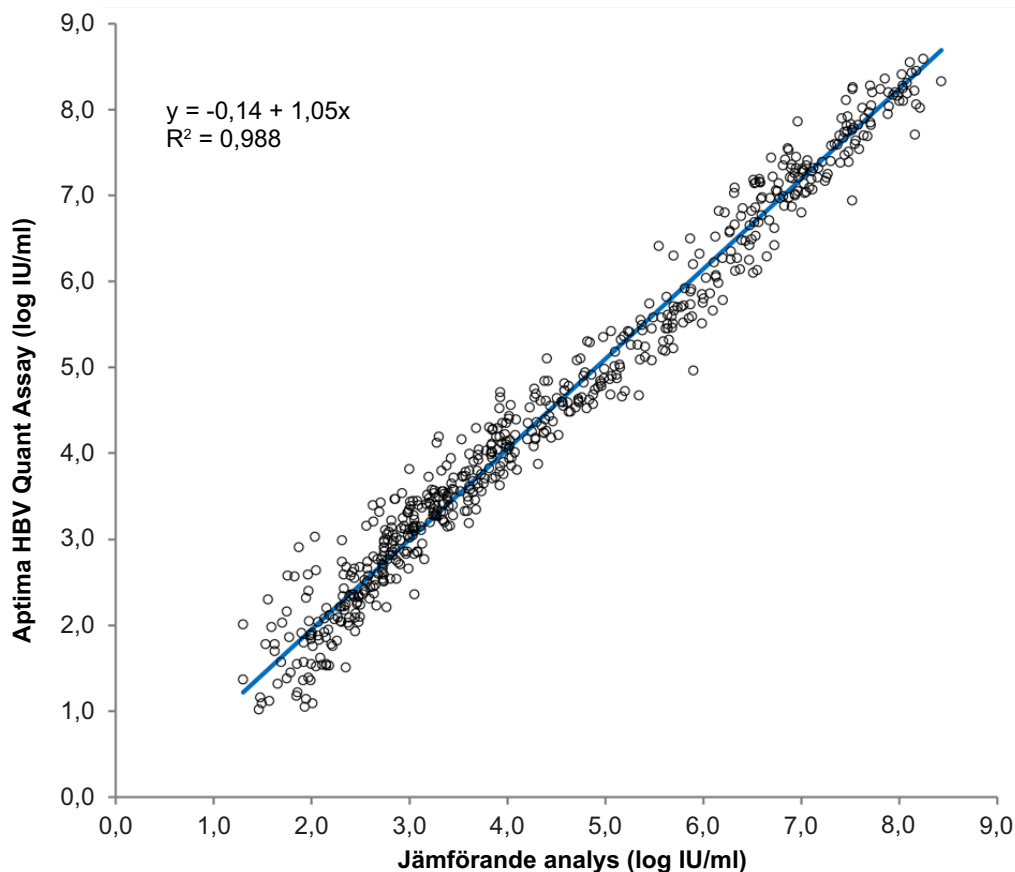
^a Rapporterad koncentration är det värde som beräknas efter det att spädningsfaktorn har tillämpats.

^b Prov med tillsats.

^c Målkoncentrationsvärde över ULoQ.

Metodkorrelation

Resultaten för Aptima HBV Quant Assay bedömdes mot en CE-märkt och en Health Canada-licensierad jämförelseanalys genom testning av utspädda kliniska prover från HBV-infekterade patienter. Sammanlagt 614 kliniska prover inom det linjära intervall som är gemensamt för båda analyserna användes för linjär regression enligt Figur 8.



Figur 8. Korrelation mellan Aptima HBV Quant Assay och den jämförande analysen

Överföring

För att fastställa att Panther-systemets programvara minimerar risken för falska positiva resultat på grund av överförda föroreningar genomfördes en studie med paneler med tillsatser på tre Panther-system. Överföringen bedömdes med användning av plasmaprover med tillsats av HBV DNA med höga titrer (8 log IU/ml) spridda mellan HBV-negativa prover i ett schackrutigt mönster. Analyserna gjordes över fem körningar. Den övergripande överföringsfrekvensen var 0,0 % (0/705).

Litteraturförteckning

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

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

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

Besök www.hologic.com för mer kontaktinformation.



Hologic BV
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

Hologic, Aptima, Panther är varumärken eller registrerade varumärken som tillhör Hologic, Inc. och/eller dess dotterbolag i USA och/eller andra länder. Andra varumärken som kan förekomma i denna bipacksedel tillhör respektive ägare.

Denna produkt kan omfattas av ett eller flera USA-patent som identifieras på www.hologic.com/patents.

© 2016-2020 Hologic, Inc. Med ensamrätt.
AW-13182-1601 Rev. 007
2020-12