

Aptima™ HBV Quant Assay

Pentru utilizare în diagnosticarea *in vitro*.

Exclusiv pentru export din SUA

Informații generale	2
Domeniu de utilizare	2
Rezumatul și explicația testării	2
Principiile procedurii	3
Avertismente și precauții	3
Cerințe privind depozitarea și manipularea reactivilor	6
Recoltarea și depozitarea eșantioanelor	7
Probe pe sistemul Panther	10
Transportul eșantioanelor	10
Sistem Panther	11
Reactivi și materiale furnizate	11
Materiale necesare dar disponibile separat	13
Materiale opționale	14
Procedura de testare cu sistemul Panther	14
Note procedurale	18
Controlul calității	19
Calibrarea testului	19
Substanțe de control negative și pozitive	19
Calibrator intern/Substanță de control internă	19
Interpretarea rezultatelor	20
Limitări	20
Performanță	21
Limita de detecție utilizând al treilea Standard internațional al OMS	21
Limita de detecție la nivelul genotipurilor de HBV	22
Intervalul liniar	23
Liniaritatea la nivelul genotipurilor HBV	24
Limita inferioară de cuantificare utilizând al treilea Standard internațional al OMS	24
Determinarea limitei inferioare de cuantificare la nivelul genotipurilor de HBV	26
Reproductibilitate	28
Substanțe cu potențial de interferență	30
Specificitate	31
Specificitate analitică	32
Repetabilitatea eșantioanelor clinice	33
Diluarea probelor utilizând diluantul pentru eșantioane	34
Corelația metodelor	36
Transferul	36
Bibliografie	37

Informații generale

Domeniu de utilizare

Testul Aptima HBV Quant este o testare de amplificare a acidului nucleic *in vitro* pentru cuantificarea ADN-ului virusului hepatitei B (HBV) în plasma și serul umane, pe sistemul Panther™ complet automatizat.

Plasma poate fi preparată în acid etilendiaminotetraacetic (EDTA), soluție anticoagulantă citrat dextroză (ACD) și tuburi pentru prepararea plasmei (PPT). Serul poate fi preparat în tuburi pentru ser și tuburi separatoare de ser (SST). Eșantioanele sunt testate utilizând sistemul Panther® complet automatizat, pentru procesarea, amplificarea și cuantificarea probelor. Eșantioanele conținând HBV genotipurile A, B, C, D, E, F, G și H sunt validate pentru cuantificare în test.

Testul Aptima HBV Quant este destinat utilizării ca ajutor în gestionarea pacienților cu infecții cronice cu HBV, supuși terapiei cu medicamente antivirale HBV. Testul poate fi utilizat pentru a măsura nivelurile de ADN HBV în faza inițială și în timpul tratamentului pentru a ajuta la evaluarea răspunsului viral la tratament. Rezultatele obținute din testul Aptima HBV Quant trebuie interpretate în contextul tuturor concluziilor clinice și de laborator relevante.

Testul Aptima HBV Quant nu este destinat utilizării ca testare de screening pe sânge sau produse sanguine pentru HBV sau ca testare de diagnosticare pentru a confirma prezența infecției cu HBV.

Rezumatul și explicația testării

Virusul hepatitei B (HBV), unul dintre mai multe virusuri cunoscute ca provocând hepatita, a fost atribuit infecției cu HBV pe toată durata vieții, cirozei hepatice, cancerului hepatic, insuficienței hepatice și, eventual, decesului. Organizația Mondială a Sănătății (OMS) menționează infecția cu HBV ca fiind una dintre cele mai frecvente boli infecțioase din lume. Prevalența infecției cu HBV și metoda de transmitere variază semnificativ la nivel global. Aproximativ o treime din populația lumii prezintă dovezi serologice ale unei infecții cu HBV în trecut sau în prezent, infecția cronică cu HBV fiind prezentă la mai mult de 350 de milioane de oameni din întreaga lume.^{1,2,3} Infecția cu HBV are ca rezultat un risc crescut de decompensare hepatică, ciroză și carcinom hepatocelular (HCC) cu o mortalitate de 0,5 până la 1,2 milioane de decese și 5-10% dintre cazurile de transplant hepatic la nivel mondial anual.^{4,5} Fără tratament, intervenție și monitorizare adecvată după diagnosticare, incidența cumulativă de 5 ani a cirozei variază între 8 și 20%. După dezvoltarea cirozei, riscul anual de carcinom hepatocelular (HCC) este de 2-5%.⁶

HBV conține un genom ADN circular, parțial dublu catenar, de aproximativ 3200 de perechi de baze, care codifică patru cadre de citire deschise (ORF), parțial suprapuse, care exprimă polimeraza, proteinele din regiunea superficială, proteinele din regiunea anterioară celei principale (precore)/regiunea principală (core) și proteinele X. Polimeraza ORF se suprapune cu celelalte 3 ORF-uri și codifică o proteină replicativă virală cheie, polimeraza. ORF superficial exprimă trei proteine care sunt esențiale pentru morfogeneza virală, intrarea virală în hepatocite și provocarea răspunsului imun al gazdei.⁷ Există 8 genotipuri HBV (A-H), acestea fiind de obicei găsite în locații geografice distincte. În prezent, cuantificarea ADN-ului HBV este utilizată pentru a determina ce pacienți cu infecție cronică trebuie tratați, a monitoriza răspunsul la terapie și a evalua reparația încărcăturii virale care poate indica rezistența la medicament.⁵

Testul Aptima HBV Quant este o testare de amplificare a acidului nucleic *in vitro*, care utilizează tehnologia de amplificare mediată de transcripție în timp real (TMA) pe sistemul Panther pentru a cuantifica ADN-ul HBV, genotipurile A, B, C, D, E, F, G și H. Testul Aptima HBV Quant vizează două regiuni extrem de conservate în polimerază și genele superficiale (pentru o toleranță sporită la mutații potențiale). Testul este standardizat pe baza celui de-al treilea Standard Internațional al OMS pentru virusul hepatitei B (NIBSC Cod: 10/264).

Principiile procedurii

Testul Aptima HBV Quant implică trei etape principale, care au loc într-un singur tub pe sistemul Panther: captarea țintei, amplificarea țintei prin TMA și detectarea produselor de amplificare (amplicon) de sondele marcate fluorescent (sonde).

În timpul captării țintei, ADN-ul viral este izolat din eșantioane. Eșantionul este tratat cu un detergent pentru a solubiliza anvelopa virală, pentru a denatura proteinele și pentru a elibera ADN-ul genomic viral. Oligonucleotidele de captare se hibridizează în zonele extrem de conservate ale ADN-ului HBV, dacă sunt prezente, din eșantionul de testare. Ținta hibridizată este, apoi, captată în microparticule magnetice care sunt separate de eșantion într-un câmp magnetic. Etapele de spălare îndepărtează componentele străine din tubul de reacție.

Amplificarea țintei se produce prin intermediul TMA, care este o metodă de amplificare a acidului nucleic mediată de transcripție, care utilizează două enzime, transcriptaza inversă a virusului leucemiei murine Moloney (MMLV) și polimeraza T7 ARN. Transcriptaza inversă este utilizată pentru a genera o copie ADN (care conține o secvență promotor pentru polimeraza T7 ARN) a secvenței țintă. Polimeraza T7 ARN produce copii multiple ale ampliconului ARN din șablonul copiei ADN. Testul Aptima HBV Quant utilizează metoda TMA pentru a amplifica două regiuni ale genomului HBV (gena polimerazei și gena superficială). Amplificarea acelor regiuni se realizează utilizând primeri specifici concepuți pentru a amplifica genotipurile A, B, C, D, E, F, G și H de HBV. Abordarea regiunii țintă dublă cu designul primerilor vizând regiunile extrem de conservate asigură cuantificarea precisă a ADN-ului HBV.


Detectarea se realizează utilizând sonde de acid nucleic monocatenar, care sunt prezente în timpul amplificării țintei și care hibridizează în mod specific cu ampliconul, în timp real. Fiecare sondă are un fluorofor și o substanță extincătoare de fluorescență. Dacă sonda nu este hibridizată cu ampliconul, substanța extincătoare de fluorescență se află în imediata apropiere a fluoroforului și suprimă fluorescența. Atunci când sonda se leagă de amplicon, substanța extincătoare de fluorescență este mutată mai departe de fluorofor și va emite un semnal pe o anumită lungime de undă când este excitată de o sursă de lumină. Pe măsură ce mai multe sonde hibridizează cu ampliconul, se generează un semnal fluorescent mai mare. Timpul necesar ca semnalul fluorescent să atingă un prag specificat este proporțional cu concentrația inițială de HBV. Fiecare reacție are un calibrator intern/substanță de control internă (CI), care controlează variațiile în procesarea, amplificarea și detectarea eșantioanelor. Concentrația unei probe este determinată de software-ul sistemului Panther utilizând semnalele HBV și CI pentru fiecare reacție și comparându-le cu informațiile de calibrare.

Avertismente și precauții

- A. Exclusiv pentru utilizare în diagnosticarea *in vitro*.
- B. Pentru a reduce riscul rezultatelor nevalide, citiți cu atenție întregul prospect și *Manualul de utilizare a sistemului Panther*, înainte de efectuarea acestui test.
- C. qHBV Reactivul de amplificare a țintei (TER) este coroziv. Consultați „În legătură cu testul” la pagina 5. pentru lista completă a avertismentelor.



În legătură cu laboratorul

-  D. ATENȚIE: Substanțele de control pentru acest test conțin plasmă umană. Plasma este negativă pentru antigenul superficial al hepatitei B (HBsAg), anticorpilor pentru HCV, anticorpilor pentru HIV-1 și HIV-2, și antigenul HIV, atunci când este testată prin procedurile autorizate de Food and Drug Administration din SUA. În plus, plasma nu este reactivă pentru ADN-ul HBV, ARN-ul HCV și ARN-ul HIV-1 atunci când este testată cu testări de acid nucleic licențiate utilizând probe comasate. Toate materialele provenite din sânge uman trebuie considerate potențial infecțioase și trebuie tratate cu respectarea precauțiilor universale.^{8,9,10}
- E. Numai personalul instruit corespunzător în utilizarea testului Aptima HBV Quant și în manipularea materialelor potențial infecțioase trebuie să efectueze această procedură. Dacă se produce o scurgere, dezinfectați imediat în conformitate cu procedurile adecvate ale unității.
- F. Utilizați doar instrumentarul și consumabilele de laborator de unică folosință prevăzute sau specificate.
- G. Respectați precauțiile de laborator obișnuite. Nu pipetați cu ajutorul gurii. Nu consumați alimente sau băuturi și nu fumați în zonele de lucru desemnate. Purtați mănuși de unică folosință fără pudră, ochelari de protecție și halate de laborator atunci când manipulați eșantioane și reactivi din trusă. Spălați-vă temeinic mâinile după ce ați manipulat eșantioane sau reactivi din trusă.
- H. Suprafețele de lucru, pipetele și alte echipamente trebuie decontaminate în mod regulat cu soluție de hipoclorit de sodiu între 2,5% și 3,5% (între 0,35 M și 0,5 M).
- I. Eliminați toate materialele care au intrat în contact cu eșantioanele și cu reactivii în conformitate cu reglementările locale, naționale și federale.^{8,9,10,11} Curățați temeinic și dezinfectați toate suprafețele de lucru.
- J. Substanțele de control conțin azidă de sodiu cu rol de conservant. Nu utilizați tuburi metalice pentru transferul reactivilor. Dacă soluțiile care conțin compuși ai azidei de sodiu sunt eliminate într-un sistem de canalizare, acestea trebuie diluate și clătite cu cantități generoase de apă de la robinet. Aceste precauții sunt recomandate pentru a evita acumularea de depuneri în tuburile metalice în care s-ar putea dezvolta condiții explozive.
- K. Bunele practici standard pentru laboratoarele moleculare includ monitorizarea mediului înconjurător. Pentru a monitoriza mediul unui laborator, se recomandă următoarea procedură:
1. Luați un bețișor de vată și asociați-l cu tubul pentru părți alicote din eșantion (SAT) Aptima.
 2. Etichetați fiecare SAT în mod corespunzător.
 3. Umpleți fiecare SAT cu 1 ml de diluant pentru eșantioane Aptima.
 4. Pentru a recolta probele superficiale, umeziți ușor un bețișor de vată în apă deionizată fără nuclează.
 5. Tamponați suprafața de interes folosind o mișcare verticală, de sus în jos. Rotiți bețișorul de vată cu aproximativ o jumătate de tură, în timp ce tamponați locul.
 6. Amplasați imediat în tub proba recoltată pe bețișorul de vată și rotiți încet bețișorul de vată în diluant pentru a extrage potențialele materiale tamponate. Apăsăți bețișorul de vată pe partea laterală a tubului de transport pentru a extrage cât mai mult lichid posibil. Aruncați bețișorul de vată și acoperiți tubul cu un capac.
 7. Repetați etapele pentru restul probelor recoltate pe bețișorul de vată.
 8. Testați bețișorul de vată prin intermediul testului molecular.

În legătură cu eșantioanele

- L. Eșantioanele prezintă potențial contagios. Aplicați precauțiile universale^{8,9,10} la efectuarea acestui test. Metodele de manipulare și eliminare corespunzătoare trebuie stabilite conform regulamentelor locale.¹¹ Numai personalul instruit în mod corespunzător în utilizarea testului Aptima HBV Quant și instruit în manipularea materialelor infecțioase trebuie să efectueze această procedură.
- M. Mențineți condiții de depozitare adecvate în timpul expedierii eșantionului pentru a asigura integritatea acestuia. Nu a fost evaluată stabilitatea eșantionului în condiții de expediere diferite de cele recomandate.
- N. Evitați contaminarea încrucișată pe parcursul etapelor de manipulare a eșantioanelor. Aveți grijă în special să evitați contaminarea prin răspândirea aerosolilor, la slăbirea sau scoaterea capacelor eșantioanelor. Eșantioanele pot conține niveluri extrem de ridicate de organisme. Asigurați-vă că recipientele cu eșantioane nu se ating între ele și eliminați materialele utilizate fără a le trece pe deasupra recipientelor deschise. Schimbați mănușile dacă acestea intră în contact cu eșantionul.

În legătură cu testul

- O. Nu utilizați kitul de reactivi, calibratorul sau substanțele de control după data expirării.
- P. Nu interschimbați, amestecați sau combinați reactivi ai testului din kituri cu numere diferite ale lotului principal. Lichidele pentru test pot proveni din numere de lot diferite. Substanțele de control și calibratorul pot proveni din numere de lot diferite.
- Q. Evitați contaminarea microbiană și cu nucleaze a reactivilor.
- R. Acoperiți și depozitați toți reactivii testului la temperaturile specificate. Performanța testului poate fi afectată de utilizarea unor reactivi ai testului depozitați necorespunzător. Consultați *Cerințe privind depozitarea și manipularea reactivilor și Procedura de testare cu sistemul Panther* pentru mai multe informații.
- S. Nu combinați reactivi sau lichide ale testului fără instrucțiuni specifice. Nu umpleți până la refuz cu reactivi sau lichide. Sistemul Panther verifică nivelurile reactivilor.
- T. Evitați contactul reactivului de amplificare a țintei cu pielea, ochii și membranele mucoase. Spălați cu apă, în cazul în care se produce contactul cu acest reactiv. Dacă au loc scurgeri ale acestui reactiv, diluați cu apă și urmați procedurile corespunzătoare ale unității.
- U. Unii reactivi din acest kit sunt etichetați cu simbolurile de risc și siguranță.

Notă: Declarația privind pericolele reflectă clasificările conform Fișelor cu date de securitate (FDS) la nivel european. Pentru informații privind comunicarea pericolelor specifice regiunii dvs., consultați FDS specifică regiunii în Biblioteca de fișe cu date de securitate la adresa www.hologicds.com.



Substanțe de control pentru HBV VL Kit

Azidă de sodiu 0,2%
Ser uman 95-100%




AVERTISMENT

H312 – Nociv în contact cu pielea

H412 – Nociv pentru mediul acvatic cu efecte pe termen lung

P273 – Evitați dispersarea în mediu

P280 – Purtați mănuși de protecție/Îmbrăcăminte de protecție/echipament de protecție a ochilor/
echipament de protecție a feței

	Target Enhancer Reagent (Reactiv de amplificare a țintei) <i>Hidroxid de litiu, monohidrat 5-10%</i>
	<p>PERICOL</p> <p>H302 – Nociv în caz de înghițire H314 – Provoacă arsuri grave ale pielii și lezarea ochilor P260 – Nu inspirați praful/fumul/gazul/ceața/vaporii/spray-ul P280 – Purtați mănuși de protecție/îmbrăcăminte de protecție/echipament de protecție a ochilor/ echipament de protecție a feței P303 + P361 + P353 - ÎN CAZ DE CONTACT CU PIELEA (sau părul): scoateți imediat toată îmbrăcăminte contaminată. Clătiți pielea cu apă/faceți duș P305 + P351 + P338 - ÎN CAZ DE CONTACT CU OCHII: clătiți cu atenție cu apă timp de mai multe minute. Scoateți lentilele de contact, dacă este cazul și dacă acest lucru se poate face cu ușurință. Continuați să clătiți P310 -Sunați imediat la un CENTRU DE INFORMARE TOXICOLOGICĂ/un medic</p>

Cerințe privind depozitarea și manipularea reactivilor

A. Tabelul următor prezintă condițiile de depozitare și stabilitatea pentru reactivi, substanțe de control și calibrator.

Reactiv	Depozitare în stare nedeschisă	Kit deschis (reconstituit)	
		Depozitare	Stabilitate
Reactiv de amplificare qHBV	Între 2 °C și 8 °C		
Soluție de reconstituire a amplificării qHBV	Între 2 °C și 8 °C	Între 2 și 8 °C	30 de zile ^a
Reactiv enzimatic qHBV	Între 2 °C și 8 °C		
Soluție de reconstituire enzimatică qHBV	Între 2 °C și 8 °C	Între 2 și 8 °C	30 de zile ^a
Reactiv al probei qHBV	Între 2 °C și 8 °C		
Soluție de reconstituire a probei qHBV	Între 2 °C și 8 °C	Între 2 și 8 °C	30 de zile ^a
Reactiv de captare a țintei qHBV	Între 2 °C și 8 °C	Între 2 și 8 °C	30 de zile ^a
qHBV PCAL (calibrator pozitiv)	Între -15°C și -35°C	Între 15°C și 30°C	Fiolă de unică folosință A se utiliza în decurs de 24 de ore
qHBV NC CONTROL – (substanță de control negativă)	Între -15°C și -35°C	Între 15°C și 30°C	Fiolă de unică folosință A se utiliza în decurs de 24 de ore
qHBV LPC CONTROL + (substanță de control slab pozitivă)	Între -15°C și -35°C	Între 15°C și 30°C	Fiolă de unică folosință A se utiliza în decurs de 24 de ore
qHBV HPC CONTROL + (substanță de control puternic pozitivă)	Între -15°C și -35°C	Între 15°C și 30°C	Fiolă de unică folosință A se utiliza în decurs de 24 de ore
Reactiv de amplificare a țintei qHBV	Între 15°C și 30°C	Între 15°C și 30°C	30 de zile ^a

^a La scoaterea reactivilor din sistemul Panther, aceștia trebuie readuși imediat la temperaturile corespunzătoare de depozitare.

B. Eliminați orice reactivi reconstituiți, reactivul de captare a țintei (TCR) și reactivul de amplificare a țintei (TER) nefolosiți după 30 de zile sau după data de expirare a Lotului principal, oricare dintre acestea survine mai întâi.

- C. Reactivii depozitați pe sistemul Panther au o stabilitate de 72 de ore în cadrul sistemului. Reactivii pot fi încărcăți în sistemul Panther de până la 5 ori. Sistemul Panther înregistrează fiecare încărcare a reactivilor.
- D. După decongelarea calibratorului, soluția trebuie să fie limpede, adică să nu fie tulbure și să nu prezinte precipitate.
- ⚠ E. Reactivul probei și reactivul reconstituit al probei sunt fotosensibili. Protejați aceste reactivi împotriva luminii în timpul depozitării și al pregătirii pentru utilizare.
- F. Reactivul de amplificare a țintei qHBV trebuie să fie la o temperatură cuprinsă între 15 și 30 °C înainte de utilizare.

Recoltarea și depozitarea eșantioanelor

Notă: Manipulați toate eșantioanele ca și cum ar conține agenți potențial infecțioși. Utilizați precauțiile universale.

Notă: Evitați contaminarea încrucișată pe parcursul etapelor de manipulare a probei. De exemplu, eliminați materialul utilizat fără a-l trece pe deasupra tuburilor deschise.

Notă: Pentru depozitare se recomandă doar tuburi secundare din plastic.

Pot fi utilizate eșantioane de sânge integral, recoltate în următoarele tuburi de sticlă sau plastic:

- Tuburi care conțin EDTA sau anticoagulante ACD
- Tuburi pentru prepararea plasmei (PPT)
- Tuburi pentru ser
- Tuburi separatoare de ser (SST)

Pentru ser, permiteți formarea cheagului înainte de o procesare ulterioară.

A. Recoltarea eșantionului

Sângele integral poate fi păstrat între 2 și 30 °C și trebuie centrifugat în decurs de 24 de ore de la recoltarea eșantionului. Separați plasma sau serul de globulele roșii peletizate, în conformitate cu instrucțiunile producătorului pentru tubul utilizat. Plasma sau serul pot fi testate pe sistemul Panther într-un tub primar sau transferate într-un tub secundar, cum ar fi tubul pentru părți alicote din eșantion Aptima. Pentru a obține volumul de reacție de 500 μl, volumul minim de plasmă sau ser pentru tuburile de recoltare primare este de maximum 1200 μl, iar pentru tuburile secundare, volumul minim este de 700 μl. Tabelul următor identifică cerințele de volum mort pentru fiecare tip de tub primar și secundar.

Tub (dimensiune și tip)	Volum mort pe Panther
Tub pentru părți alicote din probă (SAT) Aptima	0,2 ml
12 x 75 mm	0,5 ml
13 x 100 mm	0,5 ml
13 x 100 mm cu gel	0,3 ml
16 x 100 mm cu gel	0,7 ml

Dacă nu sunt testate imediat, plasma și serul pot fi depozitate în conformitate cu specificațiile de mai jos. Dacă sunt transferate într-un tub secundar, plasma sau serul pot fi congelate la -20 °C. Nu depășiți 3 cicluri de congelare-decongelare. Nu congelați eșantioanele în EDTA, ACD sau în tuburile de recoltare primare pentru ser.

B. Condiții de depozitare a eșantioanelor

1. Eșantioane de plasmă în EDTA și ACD

Sângele integral poate fi păstrat între 2 și 30 °C și trebuie centrifugat în decurs de 24 de ore de la recoltarea eșantionului. Ulterior, plasma poate fi depozitată în una dintre următoarele condiții:

- În tubul de recoltare primar sau în tubul secundar la o temperatură cuprinsă între 2 °C și 30 °C timp de până la 24 de ore,
- În tubul de recoltare primar sau în tubul secundar la o temperatură cuprinsă între 2 °C și 8 °C timp de până la 5 zile sau
- În tubul secundar la o temperatură de -20 °C timp de până la 60 de zile.

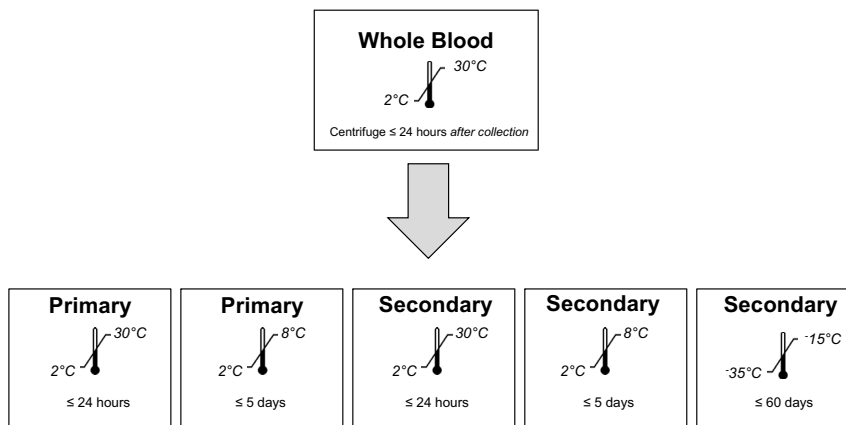


Figura 1. Condiții de depozitare pentru tuburile cu EDTA/ACD

2. Eșantioane PPT

Sângele integral poate fi păstrat între 2 și 30 °C și trebuie centrifugat în decurs de 24 de ore de la recoltarea eșantionului. Ulterior, plasma poate fi depozitată în una dintre următoarele condiții:

- În PPT sau în tubul secundar la o temperatură cuprinsă între 2 și 30 °C timp de până la 24 de ore,
- În PPT sau în tubul secundar la o temperatură cuprinsă între 2 °C și 8 °C timp de până la 5 zile sau
- În PPT sau în tubul secundar la o temperatură de -20 °C timp de până la 60 de zile.

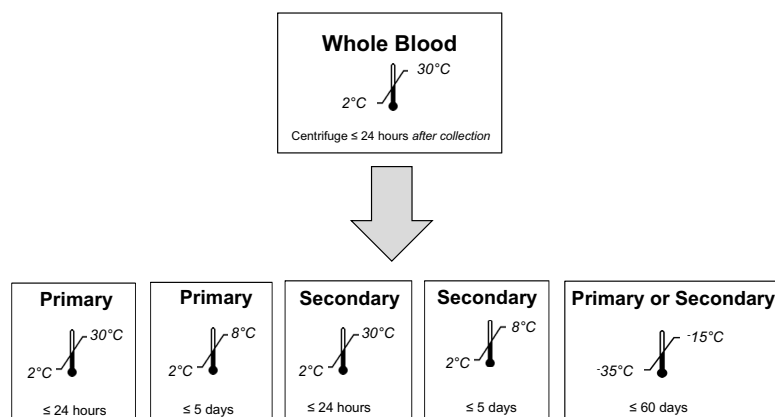


Figura 2. Condiții de depozitare pentru PPT

3. Eșantioane în tuburi pentru ser

Sângele integral poate fi păstrat între 2 și 30 °C și trebuie centrifugat în decurs de 24 de ore de la recoltarea eșantionului. Ulterior, serul poate fi depozitat în una dintre următoarele condiții:

- În tubul pentru ser sau în tubul secundar la o temperatură cuprinsă între 2 și 30 °C timp de până la 24 de ore,
- În tubul pentru ser sau în tubul secundar la o temperatură cuprinsă între 2 °C și 8 °C timp de până la 5 zile sau
- În tubul secundar la o temperatură de -20 °C timp de până la 60 de zile.

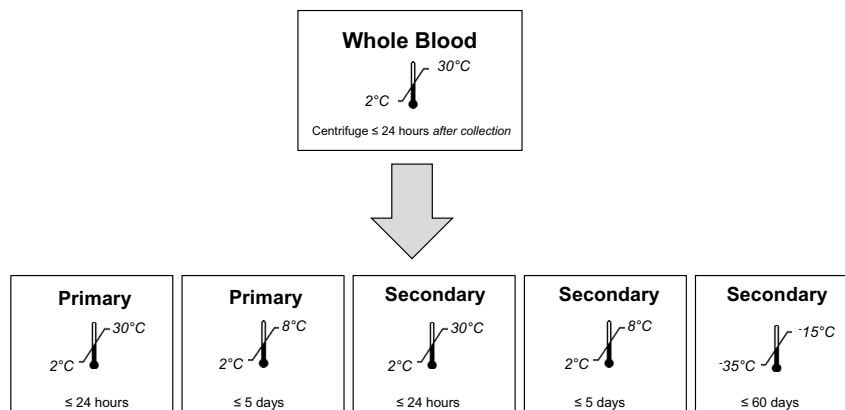


Figura 3. Condiții de depozitare pentru tuburile pentru ser

4. Eșantioane SST

Sângele integral poate fi păstrat între 2 și 30 °C și trebuie centrifugat în decurs de 24 de ore de la recoltarea eșantionului. Ulterior, serul poate fi depozitat în una dintre următoarele condiții:

- În SST sau în tubul secundar la o temperatură cuprinsă între 2 și 30 °C timp de până la 24 de ore,
- În SST sau în tubul secundar la o temperatură cuprinsă între 2 °C și 8°C timp de până la 5 zile sau

- În SST sau în tubul secundar la o temperatură de -20 °C timp de până la 60 de zile.

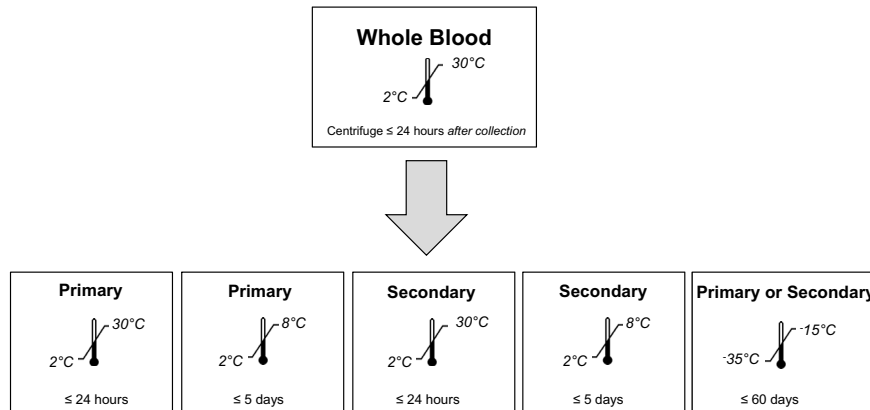


Figura 4. Condiții de depozitare pentru SST

C. Depozitare în stare congelată pe termen lung

Probele de plasmă sau de ser pot fi depozitate la o temperatură între -65 °C și -85 °C timp de până la 60 de zile în SAT.

D. Diluarea eșantioanelor de plasmă și ser

Eșantioanele de plasmă și ser pot fi diluate în SAT sau într-un tub secundar pentru testare pe sistemul Panther. Consultați *Procedura de testare cu sistemul Panther*, alineatul E, „Manipularea eșantioanelor”, etapa 6 pentru mai multe informații.

Notă: Dacă un eșantion este diluat, acesta trebuie testat imediat după diluare. Nu congelați un eșantion diluat.

Probe pe sistemul Panther

Probele pot fi lăsate pe sistemul Panther, fără capac, timp de până la 8 ore. Probele pot fi scoase din sistemul Panther și testate, atât timp cât timpul total pe sistem nu depășește 8 ore înainte de pipetarea probei prin intermediul sistemului Panther.

Transportul eșantioanelor

Mențineți condițiile de depozitare a probelor, descrise în *Recoltarea și depozitarea eșantioanelor*.

Notă: Eșantioanele trebuie expediate în conformitate cu reglementările naționale, internaționale și regionale aplicabile privind transporturile.

Sistem Panther

Reactivii pentru testul Aptima HBV Quant sunt enumerați mai jos pentru sistemul Panther. De asemenea, sunt enumerate și simbolurile de identificare a reactivilor, în dreptul numelui reactivului.

Reactivi și materiale furnizate

Notă: Pentru informații privind orice frază de pericol sau de precauție care ar putea fi asociată cu reactivii, consultați Biblioteca de fișe cu date de securitate la adresa www.hologic.com/sds.

Aptima HBV Quant Assay Kit, 100 de testări (Nr. cat. PRD-03424)
(1 cutie de test, 1 kit calibrator, 1 kit de substanțe de control și 1 cutie de reactiv de amplificare a țintei)

Pot fi comandate separat calibratoare și substanțe de control suplimentare. Consultați mai jos numerele de catalog individuale.

Aptima HBV Quant Assay Box

(depozitați între 2 °C și 8 °C în momentul primirii)

Simbol	Produs	Cantitate
A	Reactiv de amplificare qHBV <i>Acizi nucleici neinfecțioși uscați în soluție tamponată.</i>	1 fiolă
E	Reactiv enzimatic qHBV <i>Transcriptază inversă și polimerază ARN uscată în soluție tamponată HEPES.</i>	1 fiolă
PRO	Reactiv al probei qHBV <i>Acizi nucleici neinfecțioși uscați în soluție tamponată.</i>	1 fiolă
AR	Soluție de reconstituire a amplificării qHBV <i>Soluție apoasă conținând glicerol și conservanți.</i>	1 x 7,2 ml
ER	Soluție de reconstituire enzimatică qHBV <i>Soluție tamponată HEPES conținând surfactant și glicerol.</i>	1 x 5,8 ml
PROR	Soluție de reconstituire a probei qHBV <i>Soluție apoasă conținând glicerol și conservanți.</i>	1 x 4,5 ml
TCR	Reactiv de captură a țintei qHBV <i>Acizi nucleici într-o soluție salină tamponată conținând faza solidă, acizi nucleici neinfecțioși și Calibrator intern.</i>	1 x 72,0 ml
	Coliere reconstituire	3
	Fișă cu codurile de bare ale lotului principal	1 pagină

Aptima HBV Quant Calibrator Kit (Nr. cat. PRD-03425)
(depozitați între -15°C și -35°C în momentul primirii)

Simbol	Produs	Cantitate
PCAL	Calibrator pozitiv qHBV <i>ADN plasmidă în soluție tamponată</i>	5 x 2,5 ml
	Etichetă cu coduri de bare pentru calibrator	—

Aptima HBV Quant Controls Kit (Nr. cat. PRD-03426)
(depozitați între -15°C și -35°C în momentul primirii)

Simbol	Produs	Cantitate
NC	Substanță de control negativă qHBV <i>Plasmă umană defibrinată negativă HBV conținând gentamicină și 0,2% azidă de sodiu cu rol de conservanți.</i>	5 x 0,8 ml
LPC	Substanță de control slab pozitivă qHBV <i>Plasmă inactivată pozitivă la HBV în plasmă umană defibrinată conținând gentamicină și 0,2% azidă de sodiu cu rol de conservanți.</i>	5 x 0,8 ml
HPC	Substanță de control puternic pozitivă qHBV <i>Plasmă inactivată pozitivă la HBV în plasmă umană defibrinată conținând gentamicină și 0,2% azidă de sodiu cu rol de conservanți.</i>	5 x 0,8 ml
	Etichetă cu coduri de bare pentru substanță de control	—

Cutie de reactiv de amplificare a țintei Aptima HBV Quant
(depozitați între 15°C și 30°C în momentul primirii)

Simbol	Produs	Cantitate
TER	Reactiv de amplificare a țintei qHBV <i>O soluție concentrată de soluție de hidroxid de litiu</i>	1 x 46,0 ml

Materiale necesare dar disponibile separat

Notă: Materialele disponibile de la Hologic au numerele de catalog notate, cu excepția cazului în care se specifică altfel.

Material	Nr. cat.
Sistem Panther	—
Panther Run Kit pentru teste în timp real (exclusiv pentru testele în timp real)	PRD-03455 (5000 de testări)
<i>Kit de lichide pentru testul Aptima (cunoscut și drept Kit de lichide universale) conține soluție de spălare Aptima, soluție tampon Aptima pentru lichidul de dezactivare și reactiv ulei Aptima</i>	303014 (1000 de testări)
<i>Unități multi-tub (MTU)</i>	104772-02
<i>Kit pungii de reziduuri Panther</i>	902731
<i>Capac coș reziduuri Panther</i>	504405
Sau Panther System Run Kit <i>(la execuția testelor TMA nedesfășurate în timp real, în paralel cu testele TMA în timp real)</i> <i>conține MTU, pungii de reziduuri, capace pentru coșuri de reziduuri, auto detect și lichide pentru test</i>	303096 (5000 de testări)
Vârfuri, 1000 µl conductive, detectoare de lichid	10612513 (Tecan)
Înălbitor, soluție hipoclorit de sodiu între 5 și 7% (0,7 M - 1,0 M)	—
Mănuși de unică folosință, fără pudră	—
Capace de schimb pentru reactivi <i>Flacoane pentru reconstituirea reactivului de amplificare, enzimatic și al probei CL0041 (100 de capace)</i>	
<i>Flacon TCR</i>	CL0040 (100 de capace)
<i>Flacon TER</i>	501604 (100 de capace)
Huse căptușite cu plastic pentru masa de lucru din laborator	—
Șervețele fără fibre	—
Pipetor	—
Vârfuri	—
Opțiuni pentru tubul de recoltare primar:	
<i>13 mm x 100 mm</i>	—
<i>13 mm x 75 mm</i>	—
<i>16 mm x 100 mm</i>	—
Centrifugă	—
Agitator vortex	—

Materiale opționale

Material	Nr. cat.
Opțiuni pentru tubul secundar:	
12 mm x 75 mm	—
13 mm x 100 mm	—
16 mm x 100 mm	—
Tuburi pentru părți alicote din eșantion Aptima (SAT) (pachet de 100 de bucăți)	503762
Capac pentru tub de transport (pachet de 100 de bucăți) <i>capac pentru SAT</i>	504415
Diluant pentru eșantioane Aptima	PRD-03003
Kit diluant pentru eșantioane Aptima <i>conține diluant pentru eșantioane, 100 SAT și 100 de capace</i>	PRD-03478
Pipete de transfer	—
Paneluri disponibile în comerț, de exemplu: <i>Paneluri HBV din controlul calității pentru diagnosticare moleculară (QCMD)</i>	—
Bețișoare cu vată	—
Agitator oscilant pentru tuburi	—

Procedura de testare cu sistemul Panther

Notă: Consultați manualul de utilizare a sistemului Panther pentru informații de procedură suplimentare.

A. Pregătirea zonei de lucru

1. Curățați suprafețele de lucru unde vor fi preparați reactivii. Ștergeți suprafețele de lucru cu soluție de hipoclorit de sodiu între 2,5% și 3,5% (între 0,35 M și 0,5 M). Lăsați soluția de hipoclorit de sodiu să intre în contact cu suprafețele timp de cel puțin 1 minut, iar apoi clătiți cu apă deionizată (DI). Nu lăsați soluția de hipoclorit de sodiu să se usuce. Acoperiți suprafața mesei de lucru din laborator cu huse curate, absorbante, captușite cu plastic.
2. Curățați o suprafață de lucru separată, unde vor fi preparate probele. Utilizați procedura descrisă mai sus (etapa A.1).
3. Curățați toate pipetoarele. Utilizați procedura de curățare descrisă mai sus (etapa A.1).

B. Prepararea calibratorului și a substanțelor de control

Lăsați calibratorul și substanțele de control să ajungă la o temperatură cuprinsă între 15 și 30 °C, înainte de procesare, după cum urmează:

1. Scoateți calibratorul și substanțele de control din locul de depozitare (între -15 °C și -35 °C) și amplasați-le la o temperatură cuprinsă între 15 °C și 30 °C. Pe tot parcursul procesului de decongelare, răsturnați ușor fiecare tub pentru o amestecare temeinică. Asigurați-vă că întregul conținut al tubului este decongelat înainte de utilizare.

Opțiune. Tuburile pentru calibrator și substanțele de control pot fi plasate pe un agitator oscilant pentru tuburi, pentru o amestecare temeinică. Asigurați-vă că întregul conținut al tubului este decongelat înainte de utilizare.

Notă: Evitați crearea de spumă excesivă la răsturnarea calibratorului și a substanțelor de control. Spuma compromite funcția de detectare a nivelului la sistemul Panther.

2. După ce conținutul tubului s-a decongelat, uscați exteriorul tubului cu un șervețel de unică folosință, curat și uscat.
3. Pentru a preveni contaminarea, nu deschideți tuburile în acest moment.

C. Reconstituirea reactivului/prepararea unui kit nou

Notă: Reconstituirea reactivilor trebuie efectuată înainte de începerea oricăror activități pe sistemul Panther.

1. Pentru prepararea reactivului de captare a țintei (TCR), efectuați următoarele acțiuni:
 - a. Scoateți TCR din locul de depozitare (între 2 și 8 °C). Verificați numărul de lot de pe flaconul cu TCR, pentru a vă asigura că acesta se potrivește cu numărul de lot de pe fișa cu codurile de bare ale lotului principal.
 - b. Agitați imediat flaconul cu TCR de 10 ori, temeinic. Lăsați flaconul cu TCR să se încălzească timp de minimum 45 de minute, pentru a rămâne la o temperatură cuprinsă între 15 °C și 30 °C. În această perioadă, rotiți și răsturnați flaconul cu TCR timp de cel puțin 10 minute.

Opțiune. Flaconul cu TCR poate fi preparat pe un agitator oscilant pentru tuburi, cu respectarea acestor instrucțiuni: scoateți TCR din locul de depozitare (între 2 °C și 8 °C) și agitați imediat viguros, de 10 ori. Amplasați flaconul cu TCR pe un agitator oscilant pentru tuburi și lăsați TCR să se încălzească timp de minimum 45 de minute, la o temperatură cuprinsă între 15 °C și 30 °C.

- c. Asigurați-vă că tot precipitatul este în soluție și că particulele magnetice sunt suspendate înainte de utilizare.
2. Pentru reconstituirea reactivilor de amplificare, enzimatici și ai probei, efectuați următoarele acțiuni:
 - a. Scoateți reactivii liofilizați și soluțiile de reconstituire corespunzătoare din locul de depozitare (între 2 și 8 °C). Asociați fiecare soluție de reconstituire cu reactivul liofilizat al acesteia.
 - b. Asigurați-vă că soluția de reconstituire și reactivul liofilizat au etichete de aceeași culoare. Verificați numerele de lot de pe fișa cu codurile de bare ale lotului principal pentru a vă asigura că s-au împerecheat reactivii corespunzători.
 - i. Deschideți fiola de reactiv liofilizat scoțând garnitura metalică și dopul din cauciuc.
 - ii. Introduceți cu fermitate capătul crestă al colierului de reconstituire (negru) pe fiolă (Figura 5, Etapa 1).
 - iii. Deschideți flaconul aferent cu soluția de reconstituire și așezați capacul pe o suprafață de lucru curată, acoperită.
 - iv. Amplasați flaconul cu soluție de reconstituire pe o suprafață stabilă (de exemplu, masa de lucru). Apoi răsturnați flaconul de reactiv liofilizat peste flaconul cu soluție de reconstituire și fixați bine colierul pe flaconul cu soluție de reconstituire (Figura 5, Etapa 2).
 - v. Răsturnați lent ansamblul de flacoane (fiola atașată la flaconul cu soluție) pentru a permite scurgerea soluției în fiola din sticlă (Figura 5, Etapa 3).
 - vi. Ridicați flacoanele asamblate și rotiți-le timp de minimum 10 secunde (Figura 5, Etapa 4).
 - vii. Așteptați cel puțin 30 de minute pentru ca reactivul liofilizat să pătrundă în soluție.
 - viii. După pătrunderea reactivului liofilizat în soluție, rotiți ansamblul de flacoane timp de cel puțin 10 secunde și apoi oscilați ușor soluția în fiola din sticlă înainte și înapoi, pentru o amestecare temeinică.

- c. Înclinați lent, din nou, ansamblul de flacoane, pentru a permite ca toată soluția să se scurgă înapoi în flaconul cu soluție de reconstituire (Figura 5, Etapa 5).
- d. Scoateți cu atenție colierul de reconstituire și fiola din sticlă (Figura 5, Etapa 6).
- e. Puneți la loc capacul pe flacon. Înregistrați inițialele operatorului și data reconstituirii pe etichetă (Figura 5, Etapa 7).
- f. Aruncați colierul de reconstituire și fiola din sticlă (Figura 5, Etapa 8).

Avertisment: Evitați crearea de spumă excesivă în timpul reconstituirii reactivilor. Spuma compromise funcția de detectare a nivelului la sistemul Panther.

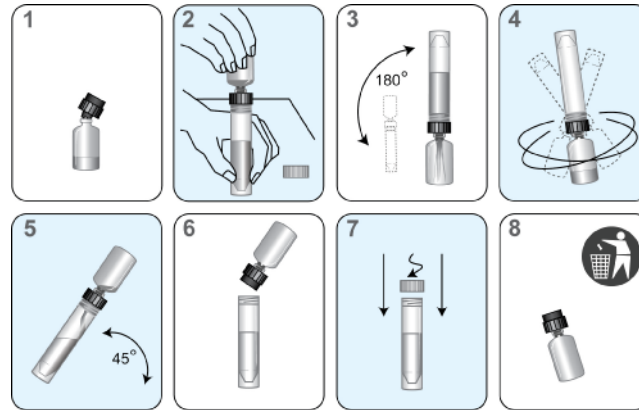


Figura 5. Procesul de reconstituire a reactivilor

3. Scoateți reactivul de amplificare a țintei qHBV din locul de depozitare (între 15 și 30 °C). Înregistrați inițialele operatorului și data deschiderii pe etichetă. Verificați numărul de lot de pe flaconul TER, pentru a vă asigura că se potrivește cu numărul de lot de pe fișa cu codurile de bare ale lotului principal.
- D. Prepararea reactivului pentru reactivi preparați anterior
1. Scoateți reactivii preparați anterior din locul de depozitare (între 2 și 8 °C). Reactivii de amplificare, enzimatici și ai probei, precum și TCR preparați anterior trebuie să atingă 15 °C până la 30 °C înainte de începerea testului.
 2. Scoateți TER din locul de depozitare (între 15 și 30 °C).
 3. Pentru TCR preparat anterior, parcurgeți etapa C.1 de mai sus, înainte de încărcarea pe sistem.
 4. Rotiți și răsturnați reactivii de amplificare, enzimatici și ai probei pentru o amestecare temeinică, înainte de încărcarea acestora pe sistem. Evitați crearea de spumă excesivă în timpul răsturnării reactivilor.
 5. Nu umpleți flacoanele cu reactiv până la refuz. Sistemul Panther va recunoaște și respinge flacoanele care au fost umplute până la refuz.
- E. Manipularea eșantioanelor
1. Asigurați-vă că eșantioanele procesate din tuburile primare sau eșantioanele nediluate din tuburile secundare au fost depozitate în mod corespunzător, conform „Recoltarea și depozitarea eșantioanelor” la pagina 7.
 2. Asigurați-vă că eșantioanele congelate sunt decongelate complet. Vortexați eșantioanele decongelate timp de 3-5 secunde, pentru o amestecare temeinică.

3. Lăsați eșantioanele să ajungă la o temperatură cuprinsă între 15 și 30 °C, înainte de procesare. Consultați *Probe pe sistemul Panther* pentru informații suplimentare de încărcare pe sistem.
4. Asigurați-vă că fiecare tub de recoltare primar conține până la 1200 µl de eșantion sau fiecare SAT conține cel puțin 700 µl de eșantion. Consultați tabelul furnizat în *Recoltarea eșantionului* la pagina 7 pentru a identifica cerințele de volum mort pentru fiecare tip de tub primar și secundar. Dacă este necesară diluarea eșantionului, consultați etapa E.6 de mai jos pentru informații suplimentare.
5. Chiar înainte de încărcarea eșantioanelor într-un stativ pentru probe, centrifugați fiecare eșantion la 1000 – 3000g timp de 10 minute. Nu scoateți capacele. Bulele din tub pot compromite funcția de detectare a nivelului la sistemul Panther.

Consultați *Pregătirea sistemului*, etapa F.2 de mai jos, pentru informații despre încărcarea pe stativ și scoaterea capacelor.

6. Diluați un eșantion 1:3 într-un SAT sau 1:100 într-un tub secundar.

Un eșantion poate fi diluat într-un tub secundar pentru testare pe sistemul Panther.

Notă: *Dacă un eșantion este diluat, acesta trebuie testat imediat după diluare.*

- a. Diluarea eșantioanelor cu volum redus

Volumul eșantioanelor poate fi mărit până la volumul minim necesar (700 µl) utilizând diluantul pentru eșantioane Aptima. Eșantioanele cu cel puțin 240 µl pot fi diluate cu două părți diluant pentru eșantioane (1:3), după cum urmează:

- i. Amplasați 240 µl de eșantion în SAT.
- ii. Adăugați 480 µl de diluant pentru eșantioane Aptima.
- iii. Acoperiți tubul cu un capac.
- iv. Răsturnați ușor de 5 ori pentru amestecare.

Eșantioanele diluate 1:3 pot fi testate utilizând opțiunea 1:3 pe sistemul Panther (consultați *Manualul de utilizare a sistemului Panther* pentru mai multe informații). Software-ul va raporta automat rezultatul curat, prin aplicarea factorului de diluție. Aceste eșantioane vor fi marcate ca eșantioane diluate.

- b. Diluarea eșantioanelor cu titru mare

Dacă rezultatul unui eșantion depășește limita superioară a cuantificării (ULoQ), acesta poate fi diluat cu 99 părți de diluant pentru eșantioane Aptima (1:100), după cum urmează:

- i. Amplasați 30 µl de eșantion în SAT sau într-un tub secundar.
- ii. Adăugați 2970 µl de diluant pentru eșantioane Aptima.
- iii. Acoperiți tubul cu un capac.
- iv. Răsturnați ușor de 5 ori pentru amestecare.

Eșantioanele diluate 1:100 pot fi testate utilizând opțiunea 1:100 pe sistemul Panther (consultați *Manualul de utilizare a sistemului Panther* pentru mai multe informații). Software-ul va raporta automat rezultatul curat, prin aplicarea factorului de diluție. Aceste eșantioane vor fi marcate ca eșantioane diluate.

Notă: *Pentru eșantioanele diluate cu concentrații pure mai mari decât ULoQ, rezultatele vor fi raportate utilizând notația științifică.*

F. Pregătirea sistemului

1. Configurați sistemul conform instrucțiunilor din *Manualul de utilizare a sistemului Panther* și *Note procedurale*. Asigurați-vă că s-au utilizat stativele pentru reactivi de dimensiuni corespunzătoare și adaptoarele TCR adecvate.
2. Încărcați probele în stativul pentru probe. Parcurgeți etapele următoare pentru fiecare tub pentru probe (eșantion și, dacă este necesar, calibrator și substanțe de control):
 - a. Desfaceți capacul unui tub pentru probe, dar încă nu îl scoateți.

Notă: Aveți grijă în special să evitați contaminarea prin răspândirea aerosolilor. Desfaceți ușor capacele de pe probe.
 - b. Încărcați tubul pentru probe în stativul pentru probe.
 - c. Repetați etapele 2.a și 2.b pentru fiecare probă rămasă.
 - d. După încărcarea probelor în stativul pentru probe, scoateți și aruncați capacul fiecărui tub pentru probe dintr-un stativ pentru probe. Pentru a evita contaminarea, nu treceți niciun capac pe deasupra altor stative pentru probe sau tuburi pentru probe.
 - e. Dacă este necesar, utilizați o pipetă de transfer de unică folosință nouă, pentru eliminarea oricăror bule sau a spumei.
 - f. După eliminarea ultimului capac, încărcați stativul pentru probe în compartimentul de probe.

Notă: Dacă executați simultan teste și tipuri de probe diferite, securizați dispozitivul de fixare a probelor înainte de încărcarea stativului pentru probe în compartimentul de probe.

- g. Repetați etapele de la 2.a până la 2.f pentru următorul stativ pentru probe.

Note procedurale

A. Calibrator și substanțe de control

1. Calibratorul pozitiv qHBV, substanța de control slab pozitivă qHBV, substanța de control puternic pozitivă qHBV și tuburile de substanță de control negativă qHBV pot fi încărcate în orice poziție din stativul pentru probe și în orice compartiment de turbiprobe pe sistemul Panther. Pipetarea eșantionului va începe în momentul în care este îndeplinită una dintre cele două condiții de mai jos:
 - a. Calibratorul și substanțele de control sunt procesate în prezent de către sistem.
 - b. Pe sistem sunt înregistrate rezultate valide pentru calibrator și substanțe de control.
2. De îndată ce tuburile pentru calibrator și tuburile pentru substanța de control au fost pipetate și sunt în curs de procesare pentru un anumit kit de reactivi al testului Aptima HBV Quant, eșantioanele pot fi testate cu kitul asociat și reconstituit timp de maxim 24 de ore, **cu excepția cazului în care:**
 - a. Rezultatele calibratorului sau ale substanțelor de control sunt nevalide.
 - b. Kitul asociat de reactivi ai testului este scos din sistem.
 - c. Kitul asociat de reactivi ai testului a depășit limitele de stabilitate.
3. Calibratorul și fiecare tub de substanță de control pot fi utilizate o singură dată. Încercările de a folosi tubul de mai multe ori pot genera erori de procesare.

B. Pudrarea mănușilor

Ca în orice sistem cu reactiv, pudra în exces de pe anumite mănuși poate conduce la contaminarea tuburilor deschise. Sunt recomandate mănușile nepudrate.

Controlul calității

O execuție sau un rezultat al eșantionului poate fi invalidat(ă) de către un operator dacă sunt observate și documentate dificultăți de ordin tehnic, legate de operator sau instrument pe parcursul efectuării testului. În acest caz, eșantioanele trebuie retestate.

Calibrarea testului

Pentru generarea unor rezultate valide, trebuie finalizată o calibrare a testului. Un singur calibrator pozitiv este executat în triplicat, de fiecare dată când un kit de reactivi este încărcat pe sistemul Panther. Odată stabilită, calibrarea este valabilă până la 24 de ore. Software-ul sistemului Panther alertează operatorul atunci când este necesară o calibrare. Operatorul scanează un coeficient de calibrare găsit în fișa cu codurile de bare ale lotului principal, furnizată cu fiecare kit de reactivi.

În timpul procesării, criteriile de acceptare a calibratorului sunt verificate automat de software-ul sistemului Panther. Dacă sunt valabile mai puțin de două replicare ale calibratorului, software-ul invalidează automat execuția. Probele din orice execuție invalidată trebuie retestate folosind un calibrator proaspăt preparat și substanțe de control proaspăt preparate.

Substanțe de control negative și pozitive

Pentru generarea unor rezultate valide, trebuie testat un set de substanțe de control ale testului. Câte un replicat al substanței de control negative, al substanței de control slab pozitive și al substanței de control puternic pozitive trebuie testate de fiecare dată când un kit de reactivi este încărcat pe sistemul Panther. Odată stabilite, substanțele de control sunt valabile până la 24 de ore. Software-ul sistemului Panther alertează operatorul atunci când sunt necesare substanțe de control.

În timpul procesării, criteriile de acceptare a substanțelor de control sunt verificate automat de software-ul sistemului Panther. Pentru generarea unor rezultate valide, substanța de control negativă trebuie să genereze rezultatul „Not Detected” („Nedetecat”), iar substanțele de control pozitive trebuie să genereze rezultate care să se încadreze în parametrii predefiniți (țintă nominală LPC: 2,7 Log₁₀ UI/ml, țintă nominală HPC: 4,6 Log₁₀ UI/ml). Dacă oricare dintre substanțele de control are un rezultat nevalid, software-ul invalidează automat execuția. Probele din orice execuție invalidată trebuie retestate folosind un calibrator proaspăt preparat și substanțe de control proaspăt preparate.

Calibrator intern/Substanță de control internă

Fiecare probă conține un calibrator intern/o substanță de control internă (CI). În timpul procesării, criteriile de acceptare CI sunt verificate automat de software-ul sistemului Panther. Dacă un rezultat CI este nevalid, rezultatul probei este invalidat. Fiecare probă cu un rezultat CI nevalid trebuie retestată pentru a se obține un rezultat valid.

Software-ul sistemului Panther este conceput pentru a verifica cu exactitate procesele, atunci când procedurile sunt efectuate în conformitate cu instrucțiunile din acest prospect și din *Manualul de utilizare a sistemului Panther*.

Interpretarea rezultatelor

Sistemul Panther determină automat concentrația de ADN HBV pentru eșantioane și substanțe de control, prin compararea rezultatelor cu o curbă de calibrare. Concentrațiile de ADN HBV sunt raportate în UI/ml și \log_{10} UI/ml. Interpretarea rezultatelor este oferită în Tabel 1. Dacă este utilizată opțiunea de diluție pentru eșantioanele diluate, sistemul Panther calculează automat concentrația HBV pentru eșantionul pur prin înmulțirea concentrației diluate cu factorul de diluție, iar probele diluate vor fi marcate ca diluate.

Notă: Pentru eșantioanele diluate, rezultatele enumerate ca „Not Detected” („Nedetectat”) sau „<10 detected” („Detectat <10”) pot fi generate prin diluarea unui eșantion cu o concentrație mai mare, dar apropiată de LoD (limita de detecție) sau LLoQ (limita inferioară de cuantificare). Se recomandă recoltarea și testarea unui alt eșantion pur, dacă nu se obține un rezultat cantitativ.

Tabel 1: Interpretarea rezultatelor

Rezultatul raportat al testului Aptima HBV Quant		Interpretare
UI/ml	Valoare \log_{10} ^a	
Nedetectat	Nedetectat	ADN HBV nedetectat.
Detectat < 10	<1,0	ADN-ul HBV este detectat, dar la un nivel mai mic decât LLoQ
de la 10 la 1.000.000.000	de la 1,0 la 9,0	Concentrația de ADN HBV se încadrează în intervalul liniar cuprins între 10 și 1.000.000.000 UI/ml
> 1.000.000.000	> 9,0	Concentrația de ADN HBV este mai mare decât ULoQ
Nevalid ^b	Nevalid ^b	A existat o eroare la generarea rezultatului. Eșantionul trebuie retestat

^aValoarea este redusă la două zecimale.

^bRezultatele nevalide sunt afișate cu font de culoare albastră.

Notă: Pentru eșantioanele diluate cu concentrații pure mai mari decât ULoQ, rezultatele vor fi raportate utilizând notația științifică.

Limitări

- Utilizarea acestui test este limitată la personalul care a fost instruit cu privire la procedură. Nerespectarea instrucțiunilor din acest prospect poate duce la rezultate eronate.
- Rezultatele sigure depind de recoltarea, transportul, depozitarea și procesarea adecvate ale eșantioanelor.
- Deși rare, mutațiile din regiunile extrem de conservate ale genomului viral acoperite de primeri și/sau de sondele din testul Aptima HBV Quant pot determina cuantificarea insuficientă sau nedetectarea virusului.

Performanță

Limita de detecție utilizând al treilea Standard internațional al OMS

Limita de detecție (LoD) a testului este definită ca fiind concentrația de ADN HBV care este detectată la o probabilitate de minimum 95%, în conformitate cu CLSI EP17-A2.¹²

LoD a fost determinată prin testarea panelurilor din cadrul celui de-al treilea Standard Internațional al OMS pentru ADN-ul virusului hepatitei B (NIBSC 10/264), diluate în plasma și serul umane negative la HBV.

Un minim de 36 de replicare din fiecare diluție au fost testate cu fiecare din cele trei loturi de reactivi pentru un număr minim de 108 de replicare per diluție. Analiza probit a fost efectuată pentru a genera limitele de detecție previzionate. Valorile LoD prezentate în Tabel 2 sunt rezultatele lotului de reactivi cu limita de detecție previzionată maximă. LoD pentru testul Aptima HBV Quant utilizând cel de-al treilea Standard Internațional al OMS este de 5,58 UI/ml pentru plasmă și de 4,29 UI/ml pentru ser.

Tabel 2: Limita de detecție utilizând al treilea Standard internațional al OMS pentru HBV

Limită de detecție previzionată	Concentrație (UI/ml)	
	Plasmă	Ser
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

Limita de detecție la nivelul genotipurilor de HBV

LoD a fost determinată prin testarea diluțiilor de eșantioane clinice pozitive la HBV pentru genotipurile A, B, C, D, E, F, G și H din plasma și serul umane negative la HBV. Concentrațiile au fost determinate utilizând un test comparativ cu marcaj CE și un test comparativ autorizat de Health Canada. Un minim de 24 de replicare din fiecare membru al panelului au fost testate cu fiecare din cele două loturi de reactivi pentru un număr minim de 48 de replicare per membru al panelului. A fost efectuată analiza probit pentru a genera limitele de detecție previzionate 50% și 95%. Valorile LoD prezentate în Tabel 3 sunt rezultatele lotului de reactivi cu limita de detecție previzionată maximă.

Tabel 3: Limita de detecție la nivelul genotipurilor de HBV utilizând eșantioane clinice

Genotip	Limită de detecție previzionată	Concentrație (UI/ml)	
		Plasmă	Ser
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

Intervalul liniar

Intervalul liniar a fost stabilit prin testarea panelurilor de ADN HBV, diluate în plasma și serul umane negative la HBV, în conformitate cu CLSI EP06-A.¹³ Panelurile s-au încadrat într-un interval de concentrații între 0,86 log UI/ml și 9,26 log UI/ml. Testul Aptima HBV Quant a demonstrat liniaritatea în intervalul testat, cu o limită superioară de cuantificare (ULoQ) de 9 log UI/ml, așa cum se arată în Figura 6.

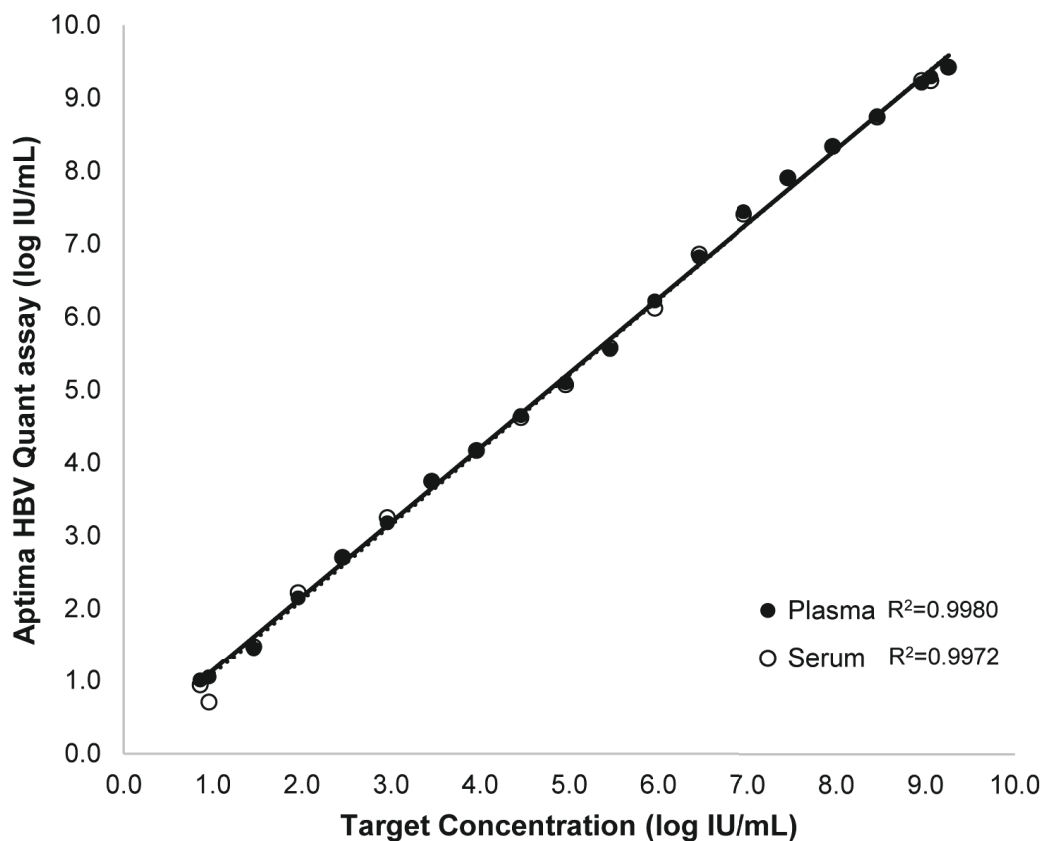


Figura 6. Liniaritatea în plasmă și ser

Liniaritatea la nivelul genotipurilor HBV

Răspunsul liniar pentru genotipurile A, B, C, D, E, F, G și H a fost confirmat prin testarea panelurilor de ADN HBV diluate în soluție tampon la concentrații cuprinse între 1,44 log UI/ml și 8,44 log UI/ml. Liniaritatea a fost demonstrată pe tot intervalul testat, pentru toate genotipurile testate așa cum se arată în Figura 7.

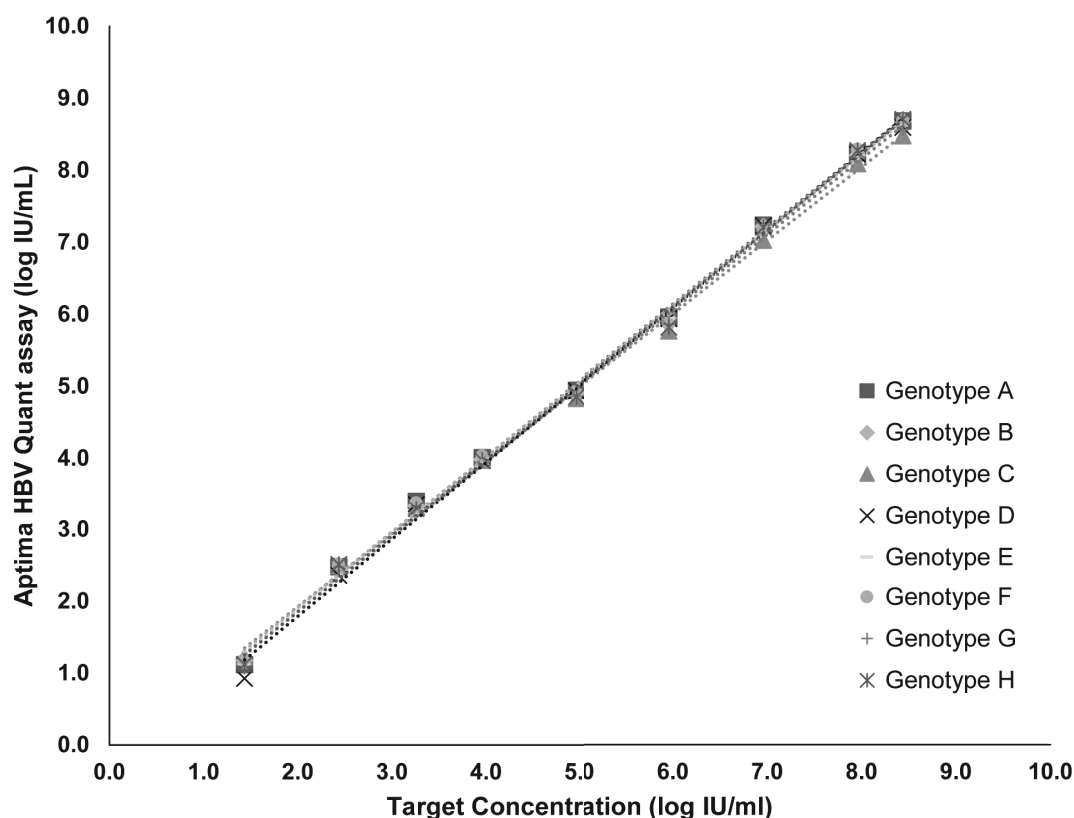


Figura 7. Liniaritatea la nivelul genotipurilor de HBV între A și H

Limita inferioară de cuantificare utilizând al treilea Standard internațional al OMS

Limita inferioară de cuantificare (LLoQ) este definită ca fiind cea mai mică concentrație la care ADN-ul HBV este cuantificat în mod fiabil în cadrul unei erori totale, în conformitate cu CLSI EP17-A2.¹² Eroarea totală a fost estimată prin două metode: eroarea analitică totală (TAE) = |abatere| + 2SD și eroarea totală (TE) = SQRT(2) x 2SD. Pentru a asigura acuratețea și precizia măsurărilor, eroarea totală a testului Aptima HBV Quant a fost setată la 1 log UI/ml (adică, la LLoQ, diferența dintre două măsurători mai mare de 1 log UI/ml este semnificativă din punct de vedere statistic).

LLoQ a fost determinată prin testarea panelurilor din cadrul celui de-al treilea Standard Internațional al OMS pentru ADN-ul virusului hepatitei B (NIBSC 10/264)¹⁴, diluate în plasma și serul umane negative la HBV. Un minim de 45 de replicare din fiecare diluție au fost testate cu fiecare din cele trei loturi de reactivi pentru un număr minim de 135 de replicare per diluție. Rezultatele obținute din lotul de reactivi cu cea mai mare concentrație, care îndeplinesc cerințele TE și TAE, sunt prezentate în Tabel 6. LLoQ calculată pentru cel de-al treilea Standard Internațional al OMS pentru virusul hepatitei B este de 4,80 UI/ml pentru plasmă și de 6,34 UI/ml pentru ser.

Tabel 4: Determinarea LLoQ utilizând cel de-al treilea Standard Internațional al OMS pentru HBV diluat în plasmă

Lot de reactiv	Concentrație țintă		Aptima HBV Quant	SD	Abatere	Calculat TE	Calculat TAE
	(UI/ml)	(log UI/ml)	(log UI/ml)	(log UI/ml)	(log UI/ml)	(log UI/ml)	(log UI/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 = deviație standard

Tabel 5: Determinarea LLoQ utilizând cel de-al treilea Standard Internațional al OMS pentru HBV diluat în ser

Lot de reactiv	Concentrație țintă		Aptima HBV Quant	SD	Abatere	Calculat TE	Calculat TAE
	(UI/ml)	(log UI/ml)	(log UI/ml)	(log UI/ml)	(log UI/ml)	(log UI/ml)	(log UI/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 = deviație standard

Tabel 6: Sinteza LLoQ calculată utilizând al treilea Standard Internațional al OMS pentru HBV

Lot de reactiv	LLoQ plasmă		LLoQ ser	
	(log UI/ml)	(UI/ml)	(log UI/ml)	(UI/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 = deviație standard

Determinarea limitei inferioare de cuantificare la nivelul genotipurilor de HBV

LLOQ a fost determinată prin testarea diluțiilor de eșantioane clinice pozitive la HBV pentru genotipurile A, B, C, D, E, F, G și H din plasma și serul umane negative la HBV. Un minim de 36 de replicare din fiecare membru al panelului au fost testate cu fiecare din cele două loturi de reactivi pentru un număr minim de 72 de replicare per membru al panelului. Rezultatele obținute din lotul de reactivi cu cea mai mare concentrație, care îndeplinesc cerințele TE și TAE, sunt prezentate în Tabel 7 pentru plasmă și în Tabel 8 pentru ser. LLOQ calculată pentru genotipurile A, B, C, D, E, F, G și H în plasmă și ser sunt sintetizate în Tabel 9. Aceasta a stabilit LLOQ globală pentru test ca fiind 10 UI/ml.

Tabel 7: Determinarea LLOQ la nivelul genotipurilor în plasmă

Genotip	Concentrație țintă		Aptima HBV Quant	SD	Abatere	TE calculat	TAE calculat
	(UI/ml)	(log UI/ml)	(log UI/ml)	(log UI/ml)	(log UI/ml)	(log UI/ml)	(log UI/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 = deviație standard

Tabel 8: Determinarea LLoQ la nivelul genotipurilor în ser

Genotip	Concentrație țintă		Aptima HBV Quant	SD	Abatere	TE calculat	TAE calculat
	(UI/ml)	(log UI/ml)	(log UI/ml)	(log UI/ml)	(log UI/ml)	(log UI/ml)	(log UI/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 = deviație standard

Tabel 9: Sinteza LLoQ la nivelul genotipurilor în plasmă și ser

Genotip	LLoQ plasmă		LLoQ ser	
	(log UI/ml)	(UI/ml)	(log UI/ml)	(UI/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

Reproductibilitate

Pentru evaluarea reproductibilității, a fost realizat un panel cu 28 de membri prin diluarea eșantioanelor clinice pozitive la HBV (genotipul A și C) sau prin îmbogățirea ADN-ului HBV (genotipul A și C) în plasma și serul negative la HBV. Panelul a fost testat de trei operatori, utilizând trei loturi de reactivi pe trei sisteme Panther, în decurs de 20 de zile de testare sau mai multe.

Tabel 10 și Tabel 11 indică reproductibilitatea rezultatelor testului (exprimată în UI/ml) între instrumente, între operatori, între loturi, între execuții, în cadrul execuțiilor și în total. Variabilitatea totală s-a datorat în principal variabilității din cadrul execuției (adică datorită erorii aleatorii).

Tabel 10: Reproductibilitatea testului Aptima HBV Quant pentru genotipul A

Matrice	N	Concentrație medie (log UI/ml)	Între operatori		Între instrumente		Între loturi		Între execuții		Intra-execuție		Total	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Plasmă	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
Plasmă	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
Plasmă	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
Plasmă	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
Plasmă	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
Plasmă	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
Plasmă	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
Ser	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
Ser	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
Ser	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
Ser	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
Ser	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
Ser	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
Ser	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 = coeficient de variație, SD = deviație standard

Notă: Variabilitatea provenită de la unii factori poate fi negativă numeric, lucru care se poate întâmpla dacă variabilitatea generată de factorii respectivi este foarte mică. Când se întâmplă acest lucru, SD și CV sunt afișate ca 0.

Tabel 11: Reproducibilitatea testului Aptima HBV Quant pentru genotipul C

Matrice	N	Concentrație medie (log UI/ml)	Între operatori		Între instrumente		Între loturi		Între execuții		Intra-execuție		Total	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Plasmă	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
Plasmă	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
Plasmă	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
Plasmă	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
Plasmă	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
Plasmă	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
Plasmă	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
Ser	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
Ser	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
Ser	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
Ser	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
Ser	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
Ser	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
Ser	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 = coeficient de variație, SD = deviație standard

Notă: Variabilitatea provenită de la unii factori poate fi negativă numeric, lucru care se poate întâmpla dacă variabilitatea generată de factorii respectivi este foarte mică. Când se întâmplă acest lucru, SD și CV sunt afișate ca 0.

Substanțe cu potențial de interferență

A fost evaluată sensibilitatea testului Aptima HBV Quant la interferența generată de nivelurile ridicate de substanțe endogene sau de medicamentele prescrise frecvent la indivizii infectați cu HBV. Au fost testate probele de plasmă negative la HBV și probele îmbogățite cu HBV la o concentrație de 4,3 log UI/ml a ADN-ului HBV.

Nu s-a observat nicio interferență în performanța testului în prezența albuminei (90 mg/ml), a hemoglobinei (5 mg/ml), a trigliceridelor (30 mg/ml) sau a bilirubinei neconjugate (0,2 mg/ml).

Eșantioanele clinice de plasmă de la pacienții cu niveluri ridicate de substanțe definite sau de la pacienții cu afecțiunile enumerate în Tabel 12 au fost testate cu testul Aptima HBV Quant. Nu s-a observat nicio interferență în performanța testului.

Tabel 12: Tipuri de eșantioane clinice testate

Tipuri de eșantioane clinice	
1	Anticorp antinuclear (ANA)
2	Factor reumatoid (RF)
3	Ciroză alcoolică (AC)
4	Hepatită alcoolică
5	Hepatită non-alcoolică
6	Hepatită autoimună
7	Alanin aminotransferază (ALT) crescută
8	Carcinom hepatocelular (HCC)
9	Scleroză multiplă (MS)
10	Lupus eritematos sistemic (LES)
11	Hiperglobulinemie
12	Artrită reumatoidă (AR)
13	Anticorpul Anti-Jo-1 (JO-1)
14	Mielom multiplu (MM)
15	Hemolizat (hemoglobină crescută)
16	Icteric (bilirubină crescută)
17	Lipemic (lipide crescute)
18	Proteine crescute
19	Anticorpi pentru HBV (prin vaccin)
20	Anticorpi pentru HCV
21	Anticorpi pentru HIV-1 și HIV-2

Nu s-a observat nicio interferență în performanța testului în prezența substanțelor exogene enumerate în Tabel 13 la concentrații de cel puțin de trei ori mai mari decât C_{max} (plasmă umană).

Tabel 13: Substanțe exogene

Grup de substanțe exogene	Substanțe exogene testate
1	Saquinavir, ritonavir, amprenavir, indinavir, lopinavir, mesilat de nelfinavir
2	Claritromicină, clorhidrat de valganciclovir, efavirenz, nevirapină
3	Paroxetină HCl, enfuvirtidă, zidovudină, didanozină, abacavir sulfat
4	Ribavirină, entecavir, adefovir dipivoxil, fumarat de tenofovir disoproxil, lamivudină, ganciclovir, aciclovir
5	Stavudină, ciprofloxacină, fluoxetină, azitromicină, valaciclovir, sertralină, zalcitabină
6	Interferon alfa-2a, interferon alfa-2b, interferon alfa-2b pegilat

Specificitate

Specificitatea a fost determinată utilizând 292 de eșantioane proaspete și 747 de eșantioane clinice negative la HBV congelate. A fost testat un total de 521 de eșantioane de plasmă și 518 de eșantioane de ser. Specificitatea a fost calculată ca procentaj al probelor negative la HBV cu rezultatele „Not Detected” („Nedetectat”). ADN-ul HBV nu a fost detectat în 1038 de probe. Specificitatea a fost de 99,9% (1038/1039, 95% Î: 99,5 -100%).

Tabel 14: Specificitatea în eșantioanele clinice din plasmă și din ser

	Plasmă proaspătă	Plasmă congelată	Plasmă Total	Proaspăt Ser	Ser congelat	Ser Total	Combinat
Replicate valide (n)	145	376	521	147	371	518	1.039
Nedetectat	145	376	521	147	370	517	1.038
Specificitate (95% Î)	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)

Î = interval de încredere

Specificitate analitică

Potențiala reactivitate încrucișată la agenții patogeni enumerați în Tabel 15 a fost evaluată în plasma umană negativă la HBV în prezența sau absența a 4,3 log UI/ml de ADN HBV. Nu s-a observat reactivitate încrucișată sau interferență în plasma contaminată bacterian sau în eșantioane prelevate de la subiecți infectați cu alți agenți patogeni din sânge sau de la cei vaccinați anti-HBV și antigripal.

Tabel 15: Agenți patogeni testați pentru specificitatea analitică

Microorganism/Agent patogen	Sursă	Microorganism/Agent patogen	Sursă
Virusul hepatitei C	Eșantion clinic	Virusul herpetic uman de tip 8	Lichid din cultură
Virusul hepatitei A	Eșantion clinic	Virusul encefalitei japoneze	Lichid ascitic
Vaccinat anti-HBV	Eșantion clinic	Virusul encefalitei Murray Valley	Lizat celular
HIV-1 și HIV-2	Eșantion clinic	Virusul encefalitei St. Louis	Lichid din cultură
Virusul T-limfotrop ic uman tipul 1 și 2	Eșantion clinic	Virusul Vaccinia	Lizat celular
Parvovirus B19	Eșantion clinic	Virusul febrei galbene	Lichid din cultură
Citomegalovirus	Eșantion clinic	<i>Candida albicans</i>	Cultură
Virusul dengue tip 1-4	Eșantion clinic	<i>Chlamydia trachomatis</i>	Cultură
Virusul Epstein-Barr	Eșantion clinic	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	Cultură
Vaccinat antigripal	Eșantion clinic	<i>Mycobacterium gordonae</i>	Cultură
Papilomavirus uman	Eșantion clinic	<i>Mycobacterium smegmatis</i>	Cultură
Virusul Herpes simplex de tip 1 și 2	Eșantion clinic	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Cultură
Virusul rubeolic	Eșantion clinic	<i>Propionibacterium acnes</i>	Cultură
Virusul varicelo-zosterian	Eșantion clinic	<i>Staphylococcus aureus</i>	Cultură
Virusul West Nile	Eșantion clinic	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Cultură
Polyomavirusul uman BK	Lizat celular	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Cultură
Virusul herpetic uman 6B	Lichid din cultură	<i>Trichomonas vaginalis</i>	Cultură

Repetabilitatea eșantioanelor clinice

Repetabilitatea a fost evaluată prin testarea a trei replicare ale eșantioanelor clinice de plasmă și ser pozitive la HBV infectate natural. Concentrația medie și devierea standard pentru probele de plasmă și de ser testate sunt prezentate în Tabele 16 și, respectiv, în 17.

Tabel 16: Repetabilitatea eșantioanelor clinice de plasmă

Eșantion de plasmă	Concentrație medie (log UI/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=deviație standard

Tabel 17: Repetabilitatea eșantioanelor clinice de ser

Eșantion de ser	Concentrație medie (log UI/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=deviație standard

Diluarea probelor utilizând diluantul pentru eșantioane

Pentru a evalua recuperarea ADN-ului HBV în probele diluate cu diluant pentru eșantioane Aptima, probele de plasmă și de ser care au acoperit intervalul liniar au fost diluate 1:3 cu diluant pentru eșantioane Aptima. În plus, eșantioanele clinice infectate natural, cu titru mare, și probele îmbogățite cu ADN HBV cu concentrații peste ULoQ au fost diluate 1:100 cu diluant pentru eșantioane Aptima. Fiecare probă a fost testată în stare pură și diluată (1:3 sau 1:100) în triplicat. Diferențele dintre concentrația medie raportată (factorul de diluție aplicat la rezultatul probei diluate) și concentrația medie pură sunt prezentate în Tabel 18 pentru plasmă și în Tabel 19 pentru ser. Concentrațiile probelor au fost recuperate cu precizie în probele diluate.

Tabel 18: Diluarea probelor cu diluant pentru eșantioane Aptima în plasmă

Diluție	Concentrație medie pură (log UI/ml)	Concentrație medie raportată ^a (log UI/ml)	Diferență (log UI/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

^aConcentrația raportată este valoarea calculată după aplicarea factorului de diluție.

^bEșantion îmbogățit.

^cValoarea concentrației țintă, care este mai mare decât ULoQ.

Tabel 19: Diluarea probelor cu diluant pentru eșantioane Aptima în ser

Diluție	Concentrație medie pură (log UI/ml)	Concentrație medie raportată ^a (log UI/ml)	Diferență (log UI/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

^aConcentrația raportată este valoarea calculată după aplicarea factorului de diluție.

^bEșantion îmbogățit.

^cValoarea concentrației țintă, care este mai mare decât ULoQ.

Corelația metodelor

Performanța testului Aptima HBV Quant a fost evaluată pe baza unui test comparativ cu marcaj CE și a unui test comparativ autorizat de Health Canada, prin testarea eșantioanelor clinice nediluate de la pacienții infectați cu HBV. Un total de 614 eșantioane clinice din intervalul linear, comune pentru ambele teste, a fost utilizat pentru regresia liniară, așa cum se arată în Figura 8.

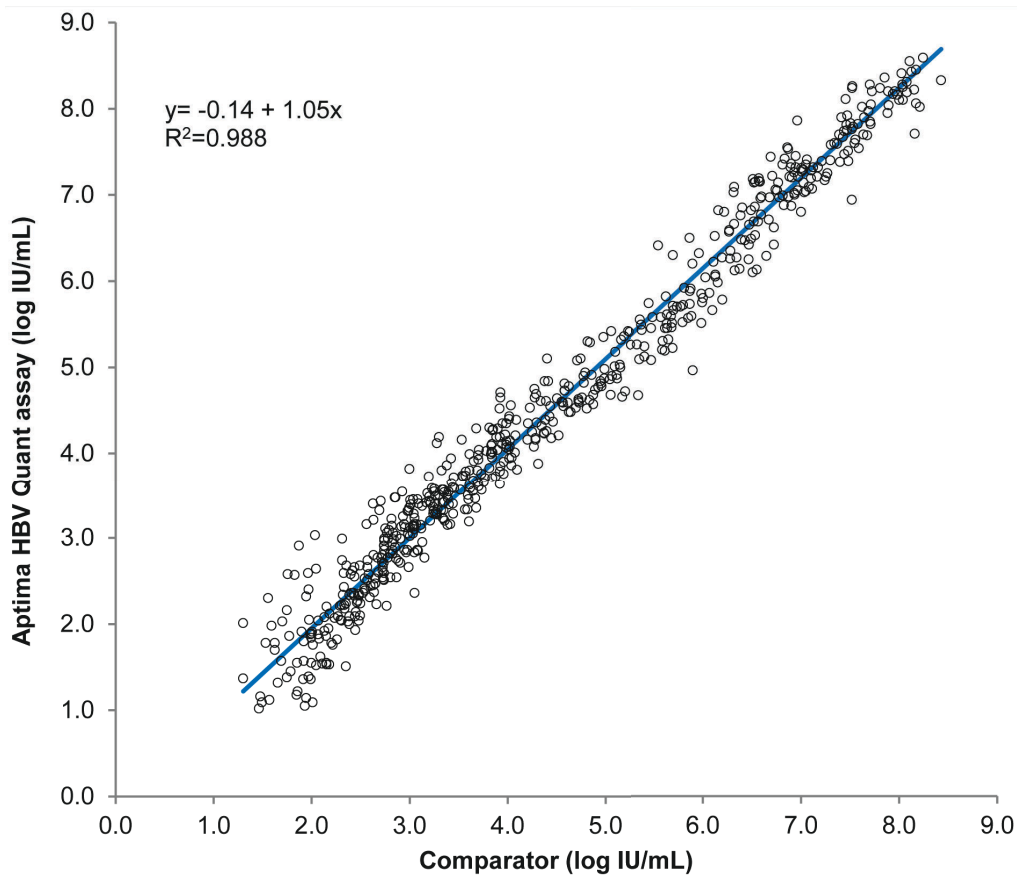


Figura 8. Corelația dintre testul Aptima HBV Quant și testul comparativ

Transferul

Pentru a stabili dacă sistemul Panther minimizează riscul rezultatelor fals pozitive provenite din contaminarea la transfer, a fost efectuat un studiu folosind paneluri îmbogățite pe trei sisteme Panther. Transferul a fost evaluat utilizând probe de plasmă îmbogățite cu ADN HBV, cu titru mare (8 log UI/ml) intercalate între probele negative la HBV, într-un tipar de tablă de șah. Testarea a fost efectuată în mai mult de cincisprezece execuții. Rata globală de transfer a fost de 0,0% (0/705).

Bibliografie

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. 9 mai 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); versiunea curentă.
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

Asistență clienți: +1 800 442 9892
customersupport@hologic.com
Asistență tehnică: +1 888 484 4747
molecularsupport@hologic.com

Pentru mai multe informații de contact, vizitați www.hologic.com.



Hologic BV
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

Hologic, Aptima și Panther sunt mărci comerciale și/sau mărci comerciale înregistrate ale Hologic, Inc. și/sau ale sucursalelor sale în Statele Unite și/sau alte țări. Toate celelalte mărci comerciale care apar în acest prospect aparțin proprietarilor respectivi.

Este posibil ca acest produs să fie acoperit de unul sau mai multe brevete S.U.A. identificate la adresa www.hologic.com/patents.

© 2016-2020 Hologic, Inc. Toate drepturile rezervate.
AW-13182-3101 Rev. 007
2020-12