

Aptima™ HBV Quant Assay

In vitro diagnosztikai használatra.

Kizárólag U.S. exportra.

Általános tudnivalók	2
Alkalmazási terület	2
A teszt összefoglalása és leírása	2
Az eljárás alapelvei	3
Figyelmeztetések és óvintézkedések	3
Reagenstárolási és -kezelési előírások	6
Mintavétel és -tárolás	7
Minták a Panther System fedélzetén	10
Vizsgálati minta szállítása	10
Panther System	11
Mellékelt reagensek és anyagok	11
Szükséges, de külön beszerezhető anyagok	13
Opcionális anyagok	14
A Panther System teszteljárás	14
Megjegyzések az eljáráshoz	18
Minőségellenőrzés	19
A vizsgálat kalibrálása	19
Negatív és pozitív kontrollok	19
Belső kalibrátor/belső kontroll	19
Az eredmények értelmezése	20
Korlátozások	20
Teljesítőképeség	21
Kimutatási határ a WHO 3. nemzetközi szabványának alkalmazásával	21
A kimutatási határ a HBV genotípusok között	22
Lineáris tartomány	23
Linearitás a HBV genotípusok között	24
A mennyiségi meghatározás alsó határa a 3. WHO nemzetközi szabvány felhasználásával	24
A kvantitatív alsó határérték meghatározása a HBV genotípusok között	26
Reprodukálhatóság	28
Potenciálisan interferáló anyagok	30
Specifitás	31
Analitikai specifitás	32
Klinikai minták ismételhősége	33
Minta hígítása mintahígítóval	34
Módszerkorreláció	36
Átvitel	36
Irodalomjegyzék	37

Általános tudnivalók

Alkalmazási terület

Az Aptima HBV Quant vizsgálat egy in vitro nukleinsav-amplifikációs teszt a hepatitis B vírus (HBV) DNS mennyiségének meghatározására humán plazmában és szérumban a teljesen automatizált Panther™ rendszerrel.

A plazma etilén-diamin-tetraecetsav (EDTA), véralvadásgátló citrát-dextróz (ACD) oldatban és plazma előkészítő csövekben (PPT) készíthető elő. A szérum előkészíthető szérumcsövekben és szérumseparátor csövekben (SST). A mintákat a teljesen automatizált Panther® rendszerrel vizsgálják a minta feldolgozásához, amplifikációjához és kvantitatív meghatározásához. Az A, B, C, D, E, F, G és H HBV-genotípust tartalmazó mintákat a vizsgálatban történő kvantitatív meghatározásra validálják.

Az Aptima HBV Quant vizsgálatot a HBV-ellenes gyógyszeres kezelés alatt álló, krónikus HBV-fertőzésben szenvedő betegek kezelésének segítésére szánják. A vizsgálat használható a HBV-DNS-szintek mérésére a kiindulási szinten és a kezelés alatt, hogy segítse a kezelésre adott vírusválasz értékelését. Az Aptima HBV Quant vizsgálat eredményeit az összes releváns klinikai és laboratóriumi lelet összefüggésében kell értelmezni.

Az Aptima HBV Quant vizsgálat nem alkalmas vér vagy vérkészítmények HBV-szűrővizsgálatára vagy a HBV-fertőzés jelenlétének megerősítésére szolgáló diagnosztikai vizsgálatra.

A teszt összefoglalása és leírása

A hepatitis B vírus (HBV), a hepatitist okozó számos ismert vírus egyike, amely élethosszig tartó HBV-fertőzéssel, májzsugorodással, májrákkal, májelégtelenséggel és potenciálisan halállal hozható összefüggésbe. Az Egészségügyi Világszervezet (WHO) a HBV-t a világ egyik leggyakoribb fertőző betegségeként tartja számon. A HBV-fertőzés prevalenciája és az átvitel módja világszerte nagyon eltérő. A világ népességének körülbelül egyharmada rendelkezik korábbi vagy jelenlegi HBV-fertőzés szerológiai bizonyítékával, és világszerte több mint 350 millió embernél fordul elő krónikus HBV-fertőzés.^{1,2,3} A HBV-fertőzés a máj dekompenzáció, a májzsugorodás és a hepatocelluláris karcinóma (HCC) fokozott kockázatával jár, amely évente világszerte 0,5–1,2 millió halálesetet okoz, és a májtranszplantációs esetek 5–10%-át teszi ki.^{4,5} A diagnózist követő megfelelő kezelés, beavatkozás és megfigyelés nélkül a májzsugor 5 éves kumulatív incidenciája 8–20% között mozog. A májzsugor kialakulása után a hepatocelluláris karcinóma (HCC) éves kockázata 2–5%.⁶

A HBV egy körkörös, részben kettősszálú, körülbelül 3200 bázispárból álló DNS-genomot tartalmaz, amely négy, részben átfedő nyitott leolvasási keretet (ORF) kódol, amelyek a polimeráz, a felszíni, a precore/core és az X fehérjéket expresszálják. A polimeráz ORF átfedésben van a másik 3 ORF-fel, és egy kulcsfontosságú vírusreplikációs fehérjét, a polimerázt kódolja. A felszíni ORF három fehérjét expresszál, amelyek nélkülözhetetlenek a vírus morfogeneziséhez, a vírus hepatocitákba való bejutásához és a gazdaszervezet immunválaszának kiváltásához.⁷ A HBV-nek 8 genotípusa van (A-H), és ezek jellemzően különböző földrajzi helyeken fordulnak elő. Jelenleg a HBV-DNS kvantitatív meghatározását használják annak megállapítására, hogy mely krónikus fertőzésben szenvedő betegeket kell kezelni, a terápiára adott válasz nyomon követésére, valamint a vírussterhelés visszatérésének értékelésére, amely gyógyszerrezisztenciát jelezhet.⁵

Az Aptima HBV Quant vizsgálat egy in vitro nukleinsav-amplifikációs teszt, amely a Panther rendszeren valós idejű transzkripció-mediált amplifikációs (TMA) technológiát alkalmaz a HBV DNS, A, B, C, D, E, F, G és H genotípusok kvantitatív meghatározására. Az Aptima HBV Quant vizsgálat a polimeráz és a felszíni gének két erősen konzervált régióját célozza (a potenciális mutációkkal szembeni nagyobb tolerancia érdekében). A vizsgálatot a WHO hepatitis B vírusra vonatkozó 3. nemzetközi szabványa (NIBSC kód: 10/264) szerint szabványosították.

Az eljárás alapelvei

Az Aptima HBV Quant vizsgálat három fő lépést foglal magában, amelyek mindegyike egyetlen csőben zajlik a Panther rendszerben: a célmolekula megkötése, a célmolekula amplifikációja TMA révén, és az amplifikációs termékek (amplikon) kimutatása fluoreszcens jelölésű próbákkal (fáklyákkal).

A célmolekula megkötése során a vírusos DNS-t izolálják a mintákból. A mintát detergenssel kezelik a vírusburok szolubilizálása, a fehérjék denaturálása és a vírus genomi DNS felszabadítása érdekében. A megkötő oligonukleotidok a HBV DNS magasan konzervált régióhoz hibridizálódnak, ha azok jelen vannak a vizsgálati mintában. A hibridizált célmolekulát ezután mágneses mikrorészecskékre rögzítik, amelyeket mágneses térben választanak el a mintától. A mosási lépések eltávolítják az idegen komponenseket a reakciócsőből.

A célmolekula amplifikációja TMA-val történik, amely egy transzkripcióval mediált nukleinsav-amplifikációs módszer, amely két enzimet, a Moloney egér leukémiavírus (MMLV) reverz transzkriptázt és a T7 RNS-polimerázt használja. A reverz transzkriptáz segítségével létrehozzák a célszekvencia DNS kópiáját (amely a T7 RNS-polimeráz promóterszekvenciáját tartalmazza). A T7 RNS-polimeráz a DNS kópia alapján több kópiát készít az RNS amplikonból. Az Aptima HBV Quant vizsgálat a TMA-módszert alkalmazza a HBV genom két régiójának (polimeráz gén és felszíni gén) amplifikálásához. Az említett régiók amplifikációja a HBV A, B, C, D, E, F, G és H genotípusainak amplifikálására tervezett specifikus primerekkel történik. A kettős célrégiós megközelítés és a magasan konzervált régiókra irányuló primertervezés biztosítja a HBV DNS pontos kvantitatív meghatározását.


A kimutatás egyszálú nukleinsav fáklyákkal történik, amelyek a célpont amplifikációja során jelen vannak, és amelyek valós időben specifikusan hibridizálódnak az amplikonhoz. Minden fáklya rendelkezik egy fluorofórral és egy kioltóval. Amikor a fáklya nem hibridizálódik az amplikonhoz, a kioltó a fluorofór közelében van, és elnyomja a fluoreszcenciát. Amikor a fáklya az amplikonhoz kötődik, a kioltó anyag távolabb kerül a fluorofortól, és az egy fényforrás által gerjesztve egy adott hullámhosszon jelet fog kibocsátani. Minél több fáklya hibridizálódik az amplikonhoz, annál nagyobb fluoreszcens jel keletkezik. Az az idő, amely alatt a fluoreszcens jel eléri a meghatározott küszöbértéket, arányos a kiindulási HBV koncentrációval. Minden reakció rendelkezik egy belső kalibrátorral/belső kontrollal (IC), amely ellenőrzi a minta feldolgozásában, az amplifikációban és a detektálásban előforduló eltéréseket. A minta koncentrációját a Panther rendszer szoftvere határozza meg az egyes reakciók HBV és IC jeleinek felhasználásával és a kalibrációs adatokkal való összehasonlításával.

Figyelmeztetések és óvintézkedések

- A. Kizárólag *in vitro* diagnosztikai használatra.
- B. Az érvénytelen eredmények kockázatának csökkentése érdekében a vizsgálat elvégzése előtt figyelmesen olvassa el a teljes használati utasítást és a *Panther System kezelői kézikönyvét*.
- C. A qHBVTarget Enhancer Reagent (TER) maró hatású. A figyelmeztetések teljes listájához lásd: Lásd „Vizsgálathoz kapcsolódó”, 5. oldal..



Laboratóriumhoz kapcsolódó

-  D. VIGYÁZAT: A jelen vizsgálat kontrolljai humán plazmát tartalmaznak. A plazma negatív hepatitis B felszíni antigénre (HBsAg), HCV elleni antitestekre, HIV-1 és HIV-2 elleni antitestekre és HIV-antigénre, ha az USA Élelmiszer- és Gyógyszerügyi Hatósága (US Food and Drug Administration) által engedélyezett eljárásokkal vizsgálják. Ezenkívül a plazma nem reagál a HBV DNS-re, a HCV RNS-re és a HIV-1 RNS-re, amikor engedélyezett nukleinsav-tesztekkel, egyesített mintákon vizsgálják. Minden emberi vérből származó anyagot potenciálisan fertőzőnek kell tekinteni, és az általános óvintézkedéseknek megfelelően kell kezelni.^{8,9,10}
- E. Ezt az eljárást csak az Aptima HBV Quant vizsgálat használatára és a potenciálisan fertőző anyagok kezelésére megfelelően kiképzett személyzet végezheti. Kiömlés esetén azonnal fertőtlenítsen a megfelelő helyszíni eljárások szerint.
- F. Kizárólag a gyártótól beszerzett vagy a gyártó által előírt egyszer használatos laboratóriumi eszközök használhatók.
- G. Tartsa be a rutinszerű laboratóriumi óvintézkedéseket. Ne pipettázzon szájon át. A kijelölt munkaterületeken tilos az étkezés, ivás vagy dohányzás. A minták és a készletek reagenseinek kezelése során viseljen egyszer használatos, púdermentes kesztyűt, védőszemüveget és laborköpenyt. A minták és a készletek reagenseinek kezelését követően a kezet alaposan meg kell mosni.
- H. A munkafelületeket, pipettákat és egyéb felszereléseket rendszeresen dekontaminálni kell 2,5–3,5%-os (0,35–0,5 M) nátrium-hipoklorit oldattal.
- I. A helyi, állami és szövetségi előírásoknak megfelelően ártalmatlanítson minden olyan anyagot, amely érintkezésbe került a mintákkal és a reagensekkel.^{8,9,10,11} Alaposan tisztítsa és fertőtlenítsen az összes munkafelületet.
- J. A kontrollok nátrium-azidot tartalmaznak tartósítószerként. Ne használjon fémcsövet a reagensek átviteléhez. Ha a nátrium-azidvegyületeket tartalmazó oldatokat vízvezetékrendszerben ártalmatlanítják, azokat hígítani kell, és bőséges mennyiségű folyóvízzel át kell öblíteni. Ezek az óvintézkedések a lerakódások felhalmozódásának elkerülése érdekében javasoltak a fémcsővezetékben, amelyekben robbanásveszélyes állapotok alakulhatnak ki.
- K. A molekuláris laboratóriumok helyes szabványos gyakorlatai közé tartozik a környezeti monitorozás. A laboratóriumi környezet ellenőrzésére a következő eljárás javasolt.
1. Vegyen egy vattapálcát, és párosítsa az Aptima Specimen Aliquot Tube (SAT) csővel.
 2. Címkézzon fel minden SAT eszközt megfelelően.
 3. Töltsön meg minden SAT-ot 1 mL Aptima mintahígítóval.
 4. A felületi minták gyűjtéséhez nedvesítsen meg enyhén egy tampont nukleázmentes deionizált vízzel.
 5. A kívánt felületet felülről lefelé irányuló függőleges mozdulatokkal törölje át. Forgassa el a pálcát körülbelül fél fordulatot, miközben a helyet áttörli.
 6. Azonnal helyezze a kenetmintát a csőbe, és óvatosan forgassa meg a pálcát a hígítóban, hogy kivonja a lehetséges felvett anyagokat. Nyomja a tampont a szállítócső oldalára, hogy a lehető legtöbb folyadékot kinyerje. Dobja ki a tampont, és zárja le a csövet.
 7. Ismétlje meg a lépéseket a többi kenetmintával.
 8. Tesztelje a kenetet molekuláris vizsgálatlall.

Mintához kapcsolódó

- L. A minták fertőzőek lehetnek. A vizsgálat végzése során alkalmazzon általános óvintézkedéseket.^{8,9,10} A megfelelő kezelési és ártalmatlanítási módszereket a helyi előírásoknak megfelelően kell meghatározni.¹¹ Ezt az eljárást csak az Aptima HBV Quant vizsgálat használatára és a fertőző anyagok kezelésére megfelelően kiképzett személyzet végezheti.
- M. A minta épségének megőrzése érdekében a minta szállítása során tartsa fenn a megfelelő tárolási körülményeket. A minták stabilitását az ajánlottól eltérő szállítási körülmények között nem értékelték.
- N. A minták kezelési lépései során óvakodjon a keresztszennyezéstől. Különösen ügyeljen arra, hogy elkerülje az aeroszolok terjedése miatti szennyeződést, amikor a mintákat kilazítja vagy kinyitja. A minták rendkívül nagy mennyiségű organizmust tartalmazhatnak. Ügyeljen arra, hogy a mintatartályok ne érintkezzenek egymással, és ne vigye az elhasznált anyagokat a minták fölé, amikor kidobja azokat. Ha megérinti a vizsgálati mintát, cserélje le a kesztyűjét.

Vizsgálathoz kapcsolódó

- O. Ne használja a reagenskészletet, a kalibrátort vagy a kontrollokat a lejáratási idő után.
- P. Ne cserélje fel, ne keverje vagy kombinálja a különböző törzstételszámú készletekből származó vizsgálati reagenseket. A vizsgálati folyadékok különböző tételszámúak lehetnek. A kontrollok és a kalibrátor különböző tételszámúak lehetnek.
- Q. Kerülje a reagensek mikrobiális vagy nukleázzal történő kontaminációját.
- R. Zárja le és tárolja az összes vizsgálati reagenst a megadott hőmérsékleten. A nem az előírt módon tárolt vizsgálati reagensek befolyásolhatják a vizsgálat teljesítőképességét. További információkért lásd: *Reagenstárolási és -kezelési előírások és A Panther System teszteljárás*.
- S. Ne kombináljon semmilyen vizsgálati reagenst vagy folyadékot külön utasítás nélkül. Ne töltsé utána a reagenseket vagy folyadékokat. A Panther rendszer ellenőrzi a reagensek szintjét.
- T. Kerülje a célfokozó reagens bőrrel, szemmel és nyálkahártyával való érintkezését. Ha ezzel a reagenssel érintkezik, mossa le vízzel. Ha ez a reagens kiömlik, hígítsa fel vízzel, és kövesse a megfelelő helyszíni eljárásokat.
- U. A készletben lévő egyes reagensek R- és S-mondatokkal vannak ellátva.

Megjegyzés: A veszélyjelző mondatok megfelelnek az EU biztonsági adatlapokon (SDS) alkalmazott osztályoknak. Az Ön régiójában használt veszélyjelző információkat lásd a weboldalunkon – www.hologicsds.com – található biztonsági adatlap könyvtár régióspecifikus biztonsági adatlapján (SDS).

**HBV VL készlet kontrollok**

Nátrium-azid 0,2%

Humán szérum 95–100%



**FIGYELMEZTETÉS**

H312 – Bőrrel érintkezve ártalmas

H412 – Hosszan tartó ártalmas hatással van a vízi élővilágra.

P273 – Kerülni kell az anyagnak a környezetbe való kijutását

P280 – Viseljen védőkesztyűt/védő ruházatot/szemvédőt/arcvédőt.

 	Célfokozó reagens Lítium-hidroxid, monohidrát 5–10%
	VESZÉLY H302 – Lenyelve ártalmas H314 – Súlyos bőrsérülést és szemkárosodást okoz. P260 – Ne lélegezze be a port/füstöt/gázt/ködöt/gőzöket/permetet. P280 – Viseljen védőkesztyűt/védő ruházatot/szemvédőt/arcvédőt. P303 + P361 + P353 – HA BŐRRE (vagy hajra) KERÜL: Azonnal távolítsa el/vegye le a szennyezett ruházatot. Öblítse le a bőrt vízzel/zuhannyal P305 + P351 + P338 – SZEMBE KERÜLÉS ESETÉN: Óvatos öblítés vízzel több percen keresztül. Távolítsa el a kontaktlencsét, ha van és könnyen megoldható. Folytassa az öblítést P310 – Azonnal forduljon TOXIKOLÓGIAI KÖZPONTHOZ vagy orvoshoz

Reagenstárolási és -kezelési előírások

- A. A következő táblázat a reagensek, a kontrollok és a kalibrátor tárolási körülményeit és stabilitását mutatja be.

Reagens	Bontatlan tárolás	Nyitott készlet (feloldott)	
		Tárolás	Stabilitás
qHBV Amplification Reagent	2 °C és 8 °C között		
qHBV Amplification Reconstitution Solution	2 °C és 8 °C között	2 °C és 8 °C között	30 nap ^a
qHBV Enzyme Reagent	2 °C és 8 °C között		
qHBV Enzyme Reconstitution Solution	2 °C és 8 °C között	2 °C és 8 °C között	30 nap ^a
qHBV Promoter Reagent	2 °C és 8 °C között		
qHBV Promoter Reconstitution Solution	2 °C és 8 °C között	2 °C és 8 °C között	30 nap ^a
qHBV Target Capture Reagent	2 °C és 8 °C között	2 °C és 8 °C között	30 nap ^a
qHBV PCAL (pozitív kalibrátor)	-15 °C és -35 °C között	15 °C és 30 °C között	Egyszer használatos üveg 24 órán belül felhasználandó
qHBV NC CONTROL – (negatív kontroll)	-15 °C és -35 °C között	15 °C és 30 °C között	Egyszer használatos üveg 24 órán belül felhasználandó
qHBV LPC CONTROL + (alacsony pozitív kontroll)	-15 °C és -35 °C között	15 °C és 30 °C között	Egyszer használatos üveg 24 órán belül felhasználandó
qHBV HPC CONTROL + (magas pozitív kontroll)	-15 °C és -35 °C között	15 °C és 30 °C között	Egyszer használatos üveg 24 órán belül felhasználandó
qHBV Target Enhancer Reagent	15 °C és 30 °C között	15 °C és 30 °C között	30 nap ^a

^a Amikor a reagenseket kiveszik a Panther rendszerből, azonnal vissza kell helyezni őket a megfelelő tárolási hőmérsékletű helyre.

- B. A fel nem használt, feloldott reagenseket, a célmolekula-megkötő reagenst (TCR) és a célfokozó reagenst (TER) ki kell dobni 30 nap elteltével vagy a törzstétel lejárat dátumát követően, attól függően, hogy melyik következik be előbb.

- C. A Panther rendszer fedélzetén tárolt reagensek 72 órás fedélzeti stabilitással rendelkeznek. A reagensek akár 5 alkalommal is betölthetők a Panther rendszerbe. A Panther rendszer minden egyes alkalommal naplózza a reagensek betöltését.
- D. A kalibrátor felolvasztása után az oldatnak tisztának kell lennie, azaz nem lehet zavaros és nem tartalmazhat csapadékot.
- ⚠ E. A promoter reagens és a feloldott promoter reagens fényérzékeny. A tárolás és a felhasználásra való előkészítés során védje ezeket a reagenseket a fénytől.
- F. A qHBV Target Enhancer Reagent reagensnek használat előtt 15 °C és 30 °C között kell lennie.

Mintavétel és -tárolás

Megjegyzés: Minden mintát kezeljen úgy, mintha potenciálisan fertőző ágenseket tartalmazna. Alkalmazzon általános óvintézkedéseket.

Megjegyzés: A minta kezelési lépései során ügyeljen a keresztszennyezés elkerülésére. Például dobja ki a használt anyagot anélkül, hogy nyitott csöveken vinné át.

Megjegyzés: Csak műanyag másodlagos csövek tárolása ajánlott.

A következő üveg- vagy műanyag csövekbe levett teljes vérminták használhatók:

- EDTA vagy ACD antikoagulánsokat tartalmazó csövek
- Plazma előkészítő csövek (PPT)
- Szérumcsövek
- Szérumseparátor csövek (SST)

Szérum esetében a további feldolgozás előtt hagyja, hogy a vérrög kialakuljon.

A. Mintavétel

A teljes vér 2 °C és 30 °C között tárolható, és a mintavételt követő 24 órán belül centrifugálni kell. Válassza el a plazmát vagy szérumot a pelletált vörösvértestektől a gyártó által a használt csőre vonatkozóan megadott utasításokat követve. A plazma vagy szérum vizsgálható a Panther rendszerben egy elsődleges csőben, vagy átvihető egy másodlagos csőbe, például az Aptima minta alikvot csőbe. Az 500 µL-es reakciótér fogat eléréséhez a plazma vagy szérum minimális térfogata az elsődleges gyűjtőcsövek esetében legfeljebb 1200 µL, a másodlagos csövek esetében pedig 700 µL. A következő táblázat meghatározza az egyes elsődleges és másodlagos csőtípusok holt térfogati követelményeit.

Cső (méret és típus)	Holt térfogat a Panther rendszeren
Aptima Sample Aliquot Tube (SAT)	0,2 mL
12x75 mm	0,5 mL
13x100 mm	0,5 mL
13x100 mm géllal	0,3 mL
16x100 mm géllal	0,7 mL

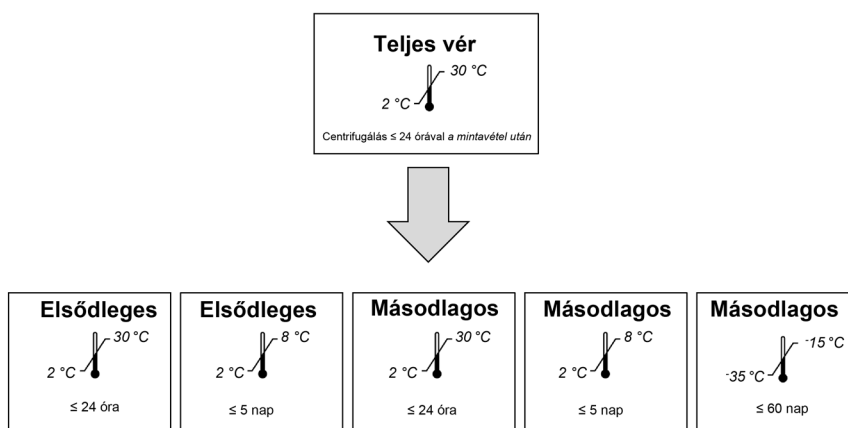
Ha nem tesztelik azonnal, a plazma és a szérum az alábbi előírásoknak megfelelően tárolható. Ha a plazma vagy a szérum másodlagos csőbe kerül, akkor -20 °C-on lefagyasztható. Ne lépje túl a 3 fagyasztási-felolvasztási ciklust. Ne fagyassza le a mintákat az EDTA, ACD vagy szérum elsődleges gyűjtőcsövekben.

B. A minta tárolási feltételei

1. EDTA és ACD plazmaminták

A teljes vér 2 °C és 30 °C között tárolható, és a mintavételt követő 24 órán belül centrifugálni kell. A plazma ezután a következő feltételek valamelyike mellett tárolható:

- Az elsődleges gyűjtőcsőben vagy másodlagos csőben 2 °C és 30 °C között legfeljebb 24 órán keresztül,
- Az elsődleges gyűjtőcsőben vagy másodlagos csőben 2 °C és 8 °C között legfeljebb 5 napig vagy
- A másodlagos csőben -20 °C-on legfeljebb 60 napig.

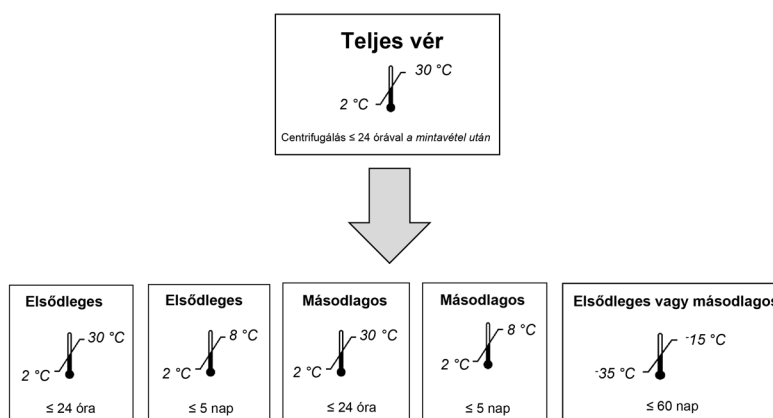


1. ábra. Az EDTA/ACD csövek tárolási körülményei

2. PPT minták

A teljes vér 2 °C és 30 °C között tárolható, és a mintavételt követő 24 órán belül centrifugálni kell. A plazma ezután a következő feltételek valamelyike mellett tárolható:

- A PPT- vagy másodlagos csőben 2 °C és 30 °C között legfeljebb 24 órán keresztül,
- A PPT-ben vagy a másodlagos csőben 2 °C és 8 °C között legfeljebb 5 napig vagy
- A PPT vagy másodlagos csőben -20 °C-on legfeljebb 60 napig.

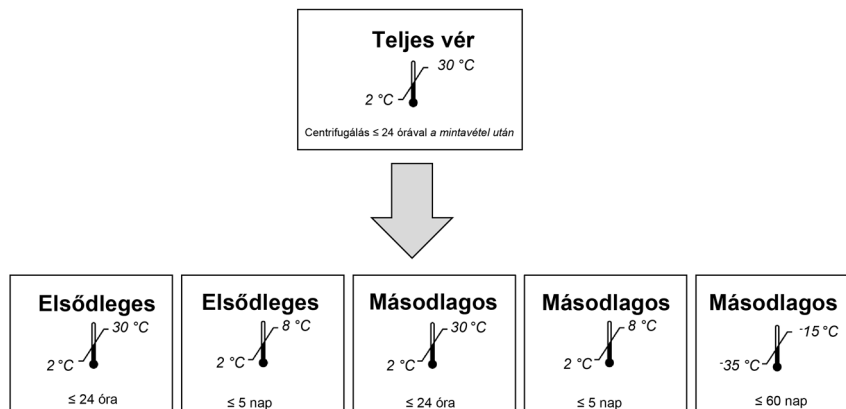


2. ábra. A PPT-k tárolási körülményei

3. Szérumcső minták

A teljes vér 2 °C és 30 °C között tárolható, és a mintavételt követő 24 órán belül centrifugálni kell. A szérum ezután a következő feltételek valamelyike mellett tárolható:

- A szérum csőben vagy másodlagos csőben 2 °C és 30 °C között legfeljebb 24 órán keresztül,
- A szérum csőben vagy másodlagos csőben 2 °C és 8 °C között legfeljebb 5 napig vagy
- A másodlagos csőben -20 °C-on legfeljebb 60 napig.

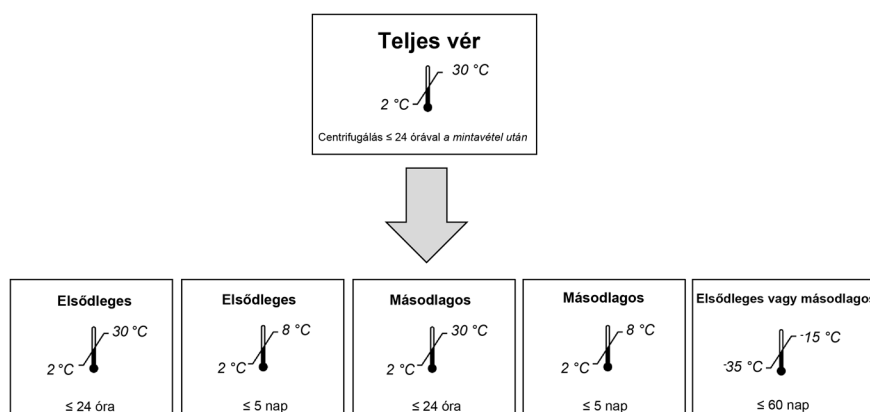


3. ábra. A szérumcsövek tárolási körülményei

4. SST minták

A teljes vér 2 °C és 30 °C között tárolható, és a mintavételt követő 24 órán belül centrifugálni kell. A szérum ezután a következő feltételek valamelyike mellett tárolható:

- A SST- vagy másodlagos csőben 2 °C és 30 °C között legfeljebb 24 órán keresztül,
- A SST-ben vagy a másodlagos csőben 2 °C és 8 °C között legfeljebb 5 napig vagy
- A SST vagy másodlagos csőben -20 °C-on legfeljebb 60 napig.



4. ábra. SST-k tárolási körülményei

C. Hosszú távú fagyasztott tárolás

A plazma- vagy szérumminták -65 °C és -85 °C közötti hőmérsékleten legfeljebb 60 napig tárolhatók SAT-ban.

D. Plazma- és szérumminták hígítása

A plazma- és szérummintákat fel lehet hígítani a SAT-ban vagy egy másodlagos csőben a Panther rendszerrel történő vizsgálathoz. További információért lásd: *A Panther System teszteljárás*, E. bekezdés „A minták kezelése”, 6. lépés.

Megjegyzés: Ha a mintát hígítják, a hígítás után azonnal tesztelni kell. Ne fagyassza le a hígított mintát.

Minták a Panther System fedélzetén

A mintákat a Panther rendszerben legfeljebb 8 órán keresztül lehet fedetlenül hagyni. A minták kivehetők a Panther rendszerből és tesztelhetők, amennyiben a fedélzetén töltött teljes idő nem haladja meg a 8 órát a minta Panther rendszer általi pipettázása előtt.

Vizsgálati minta szállítása

Tartsa fenn a minták tárolási körülményeit a *Mintavétel és -tárolás* című fejezetben leírtak szerint.

Megjegyzés: A mintákat a vonatkozó nemzeti, nemzetközi és regionális szállítási előírásoknak megfelelően kell szállítani.

Panther System

A Panther System készüléken végzett Aptima HBV Quant vizsgálathoz szükséges reagensek listáját lásd alább. A reagensek neve mellett a reagensazonosító szimbólumok is fel vannak tüntetve.

Mellékelt reagensek és anyagok

Megjegyzés: A reagensekkel kapcsolatos esetleges veszélyekre és óvintézkedésekre vonatkozó információkért tekintse meg a www.hologic.com/sds oldalon található biztonsági adatlap-könyvtárat (Safety Data Sheet Library).

Aptima HBV Quant Assay Kit, 100 teszt (Kat. sz. PRD-03424)

(1 vizsgálati doboz, 1 kalibráló készlet, 1 kontrollkészlet és 1 célfokozó reagens doboz)

További kalibrátorok és vezérlők külön rendelhetők. A katalógusszámokat lásd alább.

Aptima HBV Quant Assay Box

(kézhezvétel után 2 °C és 8 °C között kell tárolni)

Szimbólum	Összetevő	Mennyiség
A	qHBV Amplification Reagent <i>Pufferoldatban szárított, nem fertőző nukleinsavak.</i>	1 üveg
E	qHBV Enzyme Reagent <i>Reverz transzkriptáz és RNS-polimeráz HEPES pufferoldatban szárítva.</i>	1 üveg
PRO	qHBV Promoter Reagent <i>Pufferoldatban szárított, nem fertőző nukleinsavak.</i>	1 üveg
AR	qHBV Amplification Reconstitution Solution <i>Glicerint és tartósítószereket tartalmazó vizes oldat.</i>	1 x 7,2 mL
ER	qHBV Enzyme Reconstitution Solution <i>Felületaktív anyagot és glicerint tartalmazó, HEPES-sel pufferelt oldat.</i>	1 x 5,8 mL
PROR	qHBV Promoter Reconstitution Solution <i>Glicerint és tartósítószereket tartalmazó vizes oldat.</i>	1 x 4,5 mL
TCR	qHBV Target Capture Reagent <i>Nukleinsavak szilárd fázist tartalmazó pufferelt sóoldatban, nem fertőző nukleinsavak és belső kalibrátor.</i>	1 x 72,0 mL
	Rekonstitúciós feltétek	3
	Törzstétel vonalkódos lapja	1 lap

Aptima HBV Quant Calibrator Kit (Kat. sz. PRD-03425)
(kézhezvétel után -15 °C és -35 °C között kell tárolni)

Szimbólum	Összetevő	Mennyiség
PCAL	qHBV Positive Calibrator <i>Plazmid DNS puffereelt oldatban</i>	5 x 2,5 mL
	Kalibrátor vonalkódcímke	—

Aptima HBV Quant Control Kit (Kat. sz. PRD-03426)
(kézhezvétel után -15 °C és -35 °C között kell tárolni)

Szimbólum	Összetevő	Mennyiség
NC	qHBV Negative Control <i>HBV negatív defibrinált humán plazma, amely gentamicint és 0,2% nátrium-azidot tartalmaz tartósítószerként.</i>	5 x 0,8 mL
LPC	qHBV Low Positive Control <i>Inaktivált HBV-pozitív plazma defibrinált humán plazmában, amely gentamicint és 0,2% nátrium-azidot tartalmaz tartósítószerként.</i>	5 x 0,8 mL
HPC	qHBV High Positive Control <i>Inaktivált HBV-pozitív plazma defibrinált humán plazmában, amely gentamicint és 0,2% nátrium-azidot tartalmaz tartósítószerként.</i>	5 x 0,8 mL
	Kontroll vonalkódcímke	—

Aptima HBV Quant Target Enhancer Reagent Box
(kézhezvétel után 15 °C és 30 °C között kell tárolni)

Szimbólum	Összetevő	Mennyiség
TER	qHBV Target Enhancer Reagent <i>Lítium-hidroxid oldat koncentrált oldata</i>	1 x 46,0 mL

Szükséges, de külön beszerezhető anyagok

Megjegyzés: Ellenkező megjegyzés hiányában a Hologic által értékesített anyagok mellett fel van tüntetve a katalógusszám.

Anyag	Kat. sz.
Panther System	—
Panther Run Kit for Real Time Assays (csak valós idejű vizsgálatokhoz)	PRD-03455 (5000 teszt)
<i>Aptima Assay Fluids Kit (más néven univerzális folyadékkészlet)</i> <i>tartalma: Aptima Wash Solution, Aptima Buffer for Deactivation Fluid, and Aptima Oil Reagent</i>	303014 (1000 teszt)
<i>Multi-tube units (MTUs)</i>	104772-02
<i>Panther Waste Bag Kit</i>	902731
<i>Panther Waste Bin Cover</i>	504405
vagy Panther System Run Kit <i>(ha a nem valós idejű TMA vizsgálatokat valós idejű TMA vizsgálatokkal párhuzamosan végzik)</i> <i>MTU-kat, hulladékzsákokat, hulladékgyűjtő fedelet, automatikus érzékelőt és vizsgálati folyadékokat tartalmaz.</i>	303096 (5000 teszt)
Hegyek, 1000 µL, vezetőképes, folyadékérzékelő	10612513 (Tecan)
Fehéritőszert, 5%–7%-os (0,7M–1,0M) nátrium-hipoklorit-oldat	—
Eldobható, púdermentes kesztyű	—
Reagens cserekupakok <i>Amplifikációs, enzim-, és promotor reagens rekonstitúciós palackok CL0041 (100 kupak)</i>	
<i>TCR palack</i>	CL0040 (100 kupak)
<i>TER palack</i>	501604 (100 kupak)
Műanyag hátlappal borított laboratóriumi terítő	—
Szöszmentes törülközők	—
Pipettor	—
Hegyek	—
Elsődleges gyűjtőcső opciók:	
<i>13 mm x 100 mm</i>	—
<i>13 mm x 75 mm</i>	—
<i>16 mm x 100 mm</i>	—
Centrifuga	—
Vortex keverő	—

Opcionális anyagok

Anyag	Kat. sz.
Másodlagos cső opciók:	
12 mm x 75 mm	—
13 mm x 100 mm	—
16 mm x 100 mm	—
<i>Aptima Specimen Aliquot Tubes (SAT) (100-as csomag)</i>	503762
Szállítócső kupak (100 csomag) <i>kupak SAT-hoz</i>	504415
Aptima Specimen Diluent	PRD-03003
Aptima Specimen Diluent Kit <i>vizsgálatiminta-hígítót, 100 SAT-ot és 100 kupakot tartalmaz</i>	PRD-03478
Transzferpipetták	—
A kereskedelemben kapható panelek például: <i>HBV panelek a Quality Control for Molecular Diagnostics-tól (QCMD, molekuláris diagnosztikai minőségellenőrzés)</i>	—
Vattapálcák	—
Csőbillegtető	—

A Panther System teszteljárás

Megjegyzés: A további eljárásleírásokat lásd a Panther System kezelői kézikönyvében.

A. A munkaterület előkészítése

1. Tisztítsa meg a reagensek készítéséhez használt munkafelületeket. Törölje le a munkafelületeket 2,5–3,5%-os (0,35–0,5 M) nátrium-hipoklorit oldattal. Hagyja, hogy a nátrium-hipoklorit oldat legalább 1 percig érintkezzen a felületekkel, majd öblítse le deionizált (DI) vízzel. Ne hagyja megszáradni a nátrium-hipoklorit oldatot. Fedje le a munkaasztal felületét tiszta, műanyag hátlappal borított, nedvszívó laboratóriumi terítővel.
2. Tisztítson meg egy külön munkafelületet, ahol a minták előkészítése történik. A fent leírt eljárást alkalmazza (A.1. lépés).
3. Tisztítson meg minden pipettort. A fent leírt tisztítási eljárást alkalmazza (A.1 lépés).

B. Kalibrátor és kontrollok előkészítése

Hagyja, hogy a kalibrátor és a kontrollok elérjék a 15 °C és 30 °C közötti hőmérsékletet a feldolgozás előtt az alábbiak szerint:

1. Vegye ki a kalibrátort és a vezérlőket a tárolóból (-15 °C és -35 °C között), és helyezze 15 °C és 30 °C közötti hőmérsékletű helyre. A felolvasztás során óvatosan fordítsa meg az egyes kémcsöveket, hogy alaposan összekeveredjenek. Használat előtt győződjön meg arról, hogy a kémcső tartalma teljesen felolvadt.

Választási lehetőség. A kalibrátort és a kontrollt tartalmazó csöveket egy csőbillegtetőre lehet helyezni, hogy alaposan összekeveredjenek. Használat előtt győződjön meg arról, hogy a kémcső tartalma teljesen felolvadt.

Megjegyzés: Kerülje a túlzott habképződést a kalibrátor és a kontrollok megfordításakor. A hab zavarja a Panther rendszer szintérezékelő funkcióját.

2. Amikor a kémcső tartalma felolvadt, törölje szárazra a kémcső külsejét egy tiszta, száraz, eldobható törlőkendővel.

3. A szennyeződés elkerülése érdekében ne nyissa ki a csöveket ekkor.

C. Reagens feloldása/új készlet előkészítése

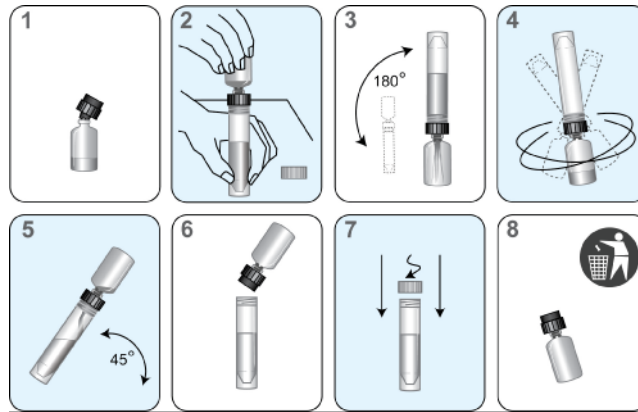
Megjegyzés: A reagens feloldását a Panther rendszeren végzett bármilyen munka megkezdése előtt el kell végezni.

1. A célmolekula-megkötő reagens (TCR) elkészítéséhez hajtsa végre a következőket:
 - a. Vegye ki a TCR-t a tárolóhelyről (2 °C és 8 °C között). Ellenőrizze a TCR palackon lévő tételszámot, hogy az megegyezik-e a törzstétel vonalkód-lapján szereplő tételszámmal.
 - b. Azonnal rázza fel 10-szer erőteljesen a TCR palackot. Hagyja a TCR palackot legalább 45 percig 15 °C és 30 °C közötti hőmérsékleten melegedni. Ez idő alatt legalább 10 percenként meg kell forgatni és fel kell fordítani a TCR palackot.

Választási lehetőség. A TCR palack az alábbi utasításokat követve készíthető el csőbilligetével: Vegye ki a TCR-t a tárolóhelyről (2 °C és 8 °C között), és azonnal rázza fel erőteljesen 10-szer. Helyezze a TCR-palackot egy csőbilligetőre, és hagyja a TCR-t legalább 45 percig 15 °C és 30 °C közötti hőmérsékleten melegedni.
 - c. Használat előtt győződjön meg arról, hogy az összes csapadék oldatban van, és a mágneses részecskék szuszpendálva vannak.
2. Az amplifikációs, enzim- és promoter reagens feloldásához végezze el a következőket:
 - a. Vegye ki a liofilizált reagenset és a megfelelő rekonstitúciós oldatokat a tárolóból (2 °C és 8 °C között). Párosítsa össze az egyes rekonstitúciós oldatokat a megfelelő liofilizált reagenssel.
 - b. Győződjön meg arról, hogy a rekonstitúciós oldat és a liofilizált reagens címkéje azonos színű. A törzstétel vonalkódos lapja segítségével ellenőrizze, hogy megfelelő reagenset párosított-e össze.
 - i. Nyissa ki a liofilizált reagenst tartalmazó üveget a fémtömítés és a gumidugó eltávolításával.
 - ii. Határozott mozdulattal illessze a rekonstitúciós feltét bevágott végét (fekete) az üvegre (5. ábra, 1. lépés).
 - iii. Nyissa fel a megfelelő rekonstitúciós oldatos palackot, és helyezze a kupakját tiszta, lefedett munkafelületre.
 - iv. Helyezze a rekonstitúciós oldatos palackot stabil felületre (pl. munkaasztalra). Ezután fordítsa meg a liofilizált reagenspalackot a rekonstitúciós oldatos üveg fölé, és erősítse a feloldó gallért a rekonstitúciós oldatos palackhoz (5. ábra, 2. lépés).
 - v. Lassan fordítsa meg az összeszerelt palackokat (az oldatos palackhoz csatlakoztatott üveg), hogy az oldat lefolyjon az üvegbe (5. ábra, 3. lépés).
 - vi. Vegye fel az összeszerelt palackokat, és legalább 10 másodpercig forgassa őket (5. ábra, 4. lépés).
 - vii. Várjon legalább 30 percet, amíg a liofilizált reagens oldatba kerül.
 - viii. Miután a liofilizált reagens oldatba került, legalább 10 másodpercig forgassa az összeállított palackokat, majd az üvegben lévő oldatot az alapos keverés érdekében enyhén hintáztassa előre-hátra.
 - c. Lassan döntse meg újra az összeszerelt palackokat, hogy az összes oldat vissza tudjon folyni a rekonstitúciós oldatos palackba (5. ábra, 5. lépés).
 - d. Óvatosan vegye le a rekonstitúciós feltétet és a porüveget (5. ábra, 6. lépés).

- e. Helyezze vissza a palack kupakját. Írja fel a kezelő monogramját és a rekonstitúciós dátumot a címkére (5. ábra, 7. lépés).
- f. Dobja ki a használt rekonstitúciós feltétet és porüveget (5. ábra, 8. lépés).

Figyelmeztetés: Reagensek feloldása során kerülje a túlzott habképződést. A hab zavarja a Panther rendszer szintérzékelő funkcióját.



5. ábra. Reagens rekonstitúciós eljárás

3. Vegye ki a qHBV célfokozó reagenst a tárolóhelyről (15 °C és 30 °C között). Jegyezze fel a kezelő monogramját és a felbontás dátumát a címkére. Ellenőrizze a TER palackon lévő tételszámot, hogy az megegyezik-e a törzstétel vonalkód-lapján szereplő tételszámmal.
- D. Reagensek elkészítése korábban elkészített reagensekhez
1. Vegye ki a korábban elkészített reagenst a tárolóhelyről (2 °C és 8 °C között). Az előzőleg elkészített amplifikációs, enzim-, promoter reagenseknek és TCR reagenseknek a vizsgálat megkezdése előtt el kell érniük a 15 °C és 30 °C közötti hőmérsékletet.
 2. Vegye ki a TER-t a tárolóhelyről (15 °C és 30 °C között).
 3. Korábban elkészített TCR esetében a fenti C.1 lépést a rendszerbe töltés előtt hajtsa végre.
 4. Az amplifikációs, enzim- és promoter reagenseket a rendszerbe töltés előtt alaposan keverje össze és fordítsa meg. A reagensek megfordításakor kerülje a túlzott habképződést.
 5. A reagenspalackokat nem szabad utántölteni. A Panther rendszer felismeri és elutasítja az utántöltött palackokat.
- E. Minta kezelése
1. Győződjön meg arról, hogy az elsődleges csövekben lévő feldolgozott mintákat vagy a másodlagos csövekben lévő hígítatlan mintákat megfelelően tárolták a következő rész szerint: „Mintavétel és -tárolás”, 7. oldal
 2. Biztosítsa, hogy a fagyasztott minták alaposan felolvadjanak. A felolvasztott mintákat 3–5 másodpercig vortexelje, hogy alaposan összekeveredjenek.
 3. Hagyja, hogy a minták a feldolgozás előtt elérjék a 15 °C és 30 °C közötti hőmérsékletet. További fedélzeti információkért lásd: *Minták a Panther System fedélzetén*.

4. Biztosítsa, hogy minden egyes elsődleges gyűjtőcső legfeljebb 1200 µL mintát, vagy minden egyes SAT legalább 700 µL mintát tartalmazzon. Az egyes elsődleges és másodlagos csőtípusokhoz szükséges holt térfogati követelmények meghatározásához tekintse meg a következő fejezetben található táblázatot: *Mintavétel* 7. oldal. Ha a minta hígítása szükséges, további információkért lásd az alábbi E.6 lépést.
5. Közvetlenül a mintáknak a mintatartó állványba történő betöltése előtt centrifugálja az egyes mintákat 1000-3000 g-nél 10 percig. Ne távolítsa el a kupakokat. A csőben lévő buborékok megzavarhatják a Panther rendszer szintérzékelését.

Az állvány betöltésével és a kupakok eltávolításával kapcsolatos információkért lásd: *A rendszer előkészítése*, F.2 lépés.

6. Hígítsa a mintát 1:3 arányban egy SAT-ban vagy 1:100 arányban egy másodlagos csőben.

A mintát fel lehet hígítani egy másodlagos csőben a Panther rendszerrel történő vizsgálathoz.

Megjegyzés: Ha a mintát hígítják, a hígítás után azonnal tesztelni kell.

a. Kis térfogatú minták hígítása

A minták térfogata az Aptima Specimen Diluent segítségével növelhető a minimálisan szükséges térfogatra (700 µL). A legalább 240 µL térfogatú mintákat két rész mintahígítóval (1:3) lehet hígítani az alábbiak szerint:

- i. Helyezzen 240 µL mintát a SAT-ba.
- ii. Adjon hozzá 480 µL Aptima Specimen Diluent mintahígítót.
- iii. Zárja le a csövet.
- iv. Óvatosan fordítsa meg 5-ször, hogy összekeverje.

Az 1:3 arányban hígított minták a Panther rendszer 1:3 opciójával vizsgálhatók (további információkért lásd a *Panther System kezelői kézikönyvét*). A szoftver a hígítási tényező alkalmazásával automatikusan megadja a tiszta eredményt. Ezek a minták hígított mintaként lesznek megjelölve.

b. Magas titerű minták hígítása

Ha egy minta eredménye a kvantitatív felső határérték (ULoQ) felett van, a minta 99 rész Aptima Specimen Diluent mintahígítóval (1:100) hígítható az alábbiak szerint:

- i. Helyezzen 30 µL mintát a SAT-ba vagy egy másodlagos csőbe.
- ii. Adjon hozzá 2970 µL Aptima Specimen Diluent mintahígítót.
- iii. Zárja le a csövet.
- iv. Óvatosan fordítsa meg 5-ször, hogy összekeverje.

Az 1:100 arányban hígított minták a Panther rendszer 1:100 opciójával vizsgálhatók (további információkért lásd a *Panther System kezelői kézikönyvét*). A szoftver a hígítási tényező alkalmazásával automatikusan megadja a tiszta eredményt. Ezek a minták hígított mintaként lesznek megjelölve.

Megjegyzés: Az ULoQ-nál nagyobb tiszta koncentrációjú hígított minták esetében az eredményeket tudományos jelöléssel kell közölni.

F. A rendszer előkészítése

1. Állítsa be a rendszert a *Panther System kezelői kézikönyv* és a *Megjegyzések az eljáráshoz* utasításai szerint. Ügyeljen arra, hogy megfelelő méretű reagensállványokat és TCR adaptereket használjanak.

2. Töltse be a mintákat a mintatartó állványba. Végezze el a következő lépéseket minden egyes mintacsövön (minta, és ha szükséges, kalibrátor és kontrollok):
 - a. Lazítsa meg az egyik mintacső kupakját, de még ne vegye le.

Megjegyzés: Különösen ügyeljen arra, hogy elkerülje az aeroszolak terjedése miatti szennyeződést. Óvatosan lazítsa meg a minták kupakját.
 - b. Töltse be a mintatartó csövet a mintatartó állványba.
 - c. Ismétlje meg a 2.a és 2.b lépést minden egyes fennmaradó minta esetében.
 - d. Miután a mintákat betöltötte a mintatartó állványba, vegye le és dobja ki az egyes mintatartó állványokban lévő mintatartó csövek kupakjait. A szennyeződés elkerülése érdekében ne helyezzen kupakot más mintatartó állványokra vagy mintacsövekre.
 - e. Ha szükséges, használjon új, eldobható transzferpipettát az esetleges buborékok vagy hab eltávolításához.
 - f. Amikor az utolsó kupakot is eltávolította, töltse be a mintatartó állványt a mintabeviteli sorba.

Megjegyzés: Ha egyidejűleg más vizsgálatokat és mintatípusokat is futtat, rögzítse a mintarögzítőt, mielőtt a mintatartó állványt betöltené a mintabeviteli sorba.
 - g. Ismétlje meg a 2.a–2.f lépéseket a következő mintatartó állványhoz.

Megjegyzések az eljáráshoz

A. Kalibrátor és kontrollok

1. A qHBV pozitív kalibrátor, a qHBV alacsony pozitív kontroll, a qHBV magas pozitív kontroll és a qHBV negatív kontroll csövek a Panther rendszerben a mintatartó állvány bármelyik pozíciójába és bármelyik mintabeviteli sorba betölthetők. A minták pipettázása akkor indul el, ha az alábbi feltételek egyike teljesül:
 - a. A kalibrátort és a kontrollokat jelenleg feldolgozza a rendszer.
 - b. A kalibrátorra és a kontrollokra vonatkozó érvényes eredményeket a rendszer regisztrálja.
2. Miután a kalibrátor- és kontrollcsöveket pipettázták és az Aptima HBV Quant vizsgálat reagenskészlethez feldolgozták, a mintákat a kapcsolódó, feloldott készlettel legfeljebb 24 órán keresztül lehet vizsgálni, **kivéve, ha:**
 - a. A kalibrátor vagy a kontroll eredmények érvénytelenek.
 - b. A kapcsolódó vizsgálati reagenskészletet eltávolítják a rendszerből.
 - c. A kapcsolódó vizsgálati reagenskészlet meghaladta a stabilitási határértékeket.
3. A kalibrátor és minden egyes kontrollcső egyszer használható. A cső többszöri használatára tett kísérletek feldolgozási hibákhoz vezethetnek.

B. Púderes kesztyűk

Mint más reagensrendszerek esetében, az egyes típusú kesztyűkön található túlzott mennyiségű púder a felnyitott csövek szennyeződéséhez vezethet. Púdermentes kesztyűk használata javasolt.

Minőségellenőrzés

A futtatást vagy a minta eredményét a kezelő érvénytelenítheti, ha a vizsgálat elvégzése során technikai, kezelői vagy műszeres nehézségeket észlelnek, és ezeket dokumentálják. Ebben az esetben a mintákat újra kell tesztelni.

A vizsgálat kalibrálása

Az érvényes eredmények előállításához el kell végezni a vizsgálat kalibrálását. Minden alkalommal, amikor egy reagenskészletet betöltenek a Panther rendszerbe, egyetlen pozitív kalibrátort futtatnak le háromszorosan. Ha a kalibrálás megtörtént, az legfeljebb 24 óráig érvényes. A Panther rendszer szoftvere figyelmezteti a kezelőt, ha kalibrációra van szükség. A kezelő beolvassa a kalibrációs együtthatót, amely a reagenskészletekhez mellékelt törzstétel vonalkódos lapján található.

A feldolgozás során a kalibrátor elfogadásának kritériumait a Panther rendszer szoftvere automatikusan ellenőrzi. Ha a kalibratori ismétlések közül kettőnél kevesebb érvényes, a szoftver automatikusan érvényteleníti a futtatást. Az érvénytelenített futtatásban lévő mintákat frissen készített kalibrátor és frissen készített kontrollok felhasználásával újra kell tesztelni.

Negatív és pozitív kontrollok

Érvényes eredmények előállításához egy sor vizsgálati kontrollt kell tesztelni. A negatív kontroll, az alacsony pozitív kontroll és a magas pozitív kontroll egy-egy példányát kell tesztelni minden alkalommal, amikor egy reagenskészletet betöltenek a Panther rendszerbe. Miután ez megtörtént, a kontrollok legfeljebb 24 óráig érvényesek. A Panther rendszer szoftvere figyelmezteti a kezelőt, ha kontrollokra van szükség.

A feldolgozás során a kontrollok elfogadásának kritériumait a Panther rendszer szoftvere automatikusan ellenőrzi. Az érvényes eredmények előállításához a negatív kontrollnak „Nem észlelt” eredményt, a pozitív kontrolloknak pedig az előre meghatározott paramétereken belüli eredményeket kell adniuk (LPC névleges cél: 2,7 Log₁₀ IU/mL, HPC névleges cél: 4,6 Log₁₀ IU/mL). Ha a kontrollok bármelyike érvénytelen eredményt ad, a szoftver automatikusan érvényteleníti a futtatást. Az érvénytelenített futtatásban lévő mintákat frissen készített kalibrátor és frissen készített kontrollok felhasználásával újra kell tesztelni.

Belső kalibrátor/belső kontroll

Minden minta tartalmaz egy belső kalibrátort/belső kontrollt (IC). A feldolgozás során az IC elfogadási kritériumokat a Panther rendszer szoftver automatikusan ellenőrzi. Ha egy IC-eredmény érvénytelen, a mintaeredmény érvénytelenné válik. Minden érvénytelen IC-eredménnyel járó mintát újra kell vizsgálni, hogy érvényes eredmény szülessen.

A Panther rendszer szoftverét úgy tervezték, hogy pontosan ellenőrizze a folyamatokat, amikor az eljárásokat az ebben a használati utasításban és a *Panther System kezelői kézikönyvben megadott utasítások szerint hajtják végre*.

Az eredmények értelmezése

A Panther rendszer automatikusan meghatározza a minták és a kontrollok HBV DNS-koncentrációját az eredmények kalibrációs görbével való összehasonlításával. A HBV DNS-koncentrációk NE/mL-ben és \log_{10} NE/mL-ben vannak megadva. Az eredmények értelmezését az 1. táblázat tartalmazza. Ha a hígított minták esetében hígítási opciót használnak, a Panther rendszer automatikusan kiszámítja a tiszta minta HBV koncentrációját a hígított koncentráció és a hígítási tényező szorzatával, és a hígított mintákat hígítottként jelöli meg.

Megjegyzés: Hígított minták esetében a „Nem érzékelt” vagy „<10 érzékelt” eredmények a LoD (kimutatási határ) vagy LLoQ (mennyiségi meghatározás alsó határa) feletti, de ahhoz közeli koncentrációjú minta hígításával keletkezhetnek. Ha nem születik mennyiségi eredmény, ajánlott egy másik tiszta mintát levenni és megvizsgálni.

1: táblázat: Eredmény értelmezése

Az Aptima HBV Quant vizsgálat jelentett eredménye		Értelmezés
IU/mL	Log ₁₀ érték ^a	
Nem érzékelt	Nem érzékelt	HBV-DNS nem érzékelt.
<10 érzékelt	<1,0	A HBV-DNS érzékelhető, de a LLoQ alatti szinten
10 és 1 000 000 000 között	1,0 és 9,0 között	A HBV DNS-koncentráció a 10 és 1 000 000 000 NE/mL közötti lineáris tartományban van.
>1 000 000 000	>9,0	A HBV DNS-koncentráció az ULoQ felett van
Érvénytelen ^b	Érvénytelen ^b	Az eredmény generálásában hiba történt. A mintát újra kell tesztelni.

^aAz érték két tizedesjegyre van kerekítve.

^bAz érvénytelen eredmények kék színű betűtípussal jelennek meg.

Megjegyzés: Az ULoQ-nál nagyobb tiszta koncentrációjú hígított minták esetében az eredményeket tudományos jelöléssel kell közölni.

Korlátozások

- Ezt a vizsgálatot csak az eljárásra kiképzett személyzet használhatja. A használati utasításban szereplő utasítások be nem tartása hibás eredményeket eredményezhet.
- A megbízható eredmények a megfelelő mintavétel, szállítás, tárolás és feldolgozás függvényei.
- Bár ritkán, de az Aptima HBV Quant vizsgálat primerei és/vagy próbái által lefedett, erősen konzervált vírusgenom régiókban bekövetkező mutációk a vírus alulkvantifikálását vagy kimutathatatlanosságát eredményezhetik.

Teljesítőképesség**Kimutatási határ a WHO 3. nemzetközi szabványának alkalmazásával**

A vizsgálat kimutatási határa (LoD) a CLSI EP17-A2.¹² szerint a HBV-DNS azon koncentrációja, amely 95%-os vagy nagyobb valószínűséggel kimutatható.

Az LoD meghatározására a WHO 3. nemzetközi hepatitis B-vírus DNS-szabványának (3rd WHO International Standard for Hepatitis B Virus DNA, NIBSC 10/264) HBV-negatív humán plazmában és szérumban hígított paneljeinek tesztelésével került sor.

Minden hígításból legalább 36 ismétlés került tesztelésre három reagens tétel mindegyikével, így hígításonként legalább 108 ismétlés készült. Probit-analízisre került sor az előre jelzett kimutatási határértékek létrehozásához. A 2. táblázat által feltüntetett LoD-értékek a legmagasabb előre jelzett érzékelési határral rendelkező reagens-tétel eredményei. A 3. WHO nemzetközi szabványt használó Aptima HBV Quant vizsgálat LoD értéke 5,58 NE/mL plazma és 4,29 NE/mL szérum esetében.

2: táblázat: Kimutatási határ a WHO 3. nemzetközi HBV-szabványának alkalmazásával

Előre jelzett kimutatási határ	Koncentráció (NE/mL)	
	Plazma	Szérum
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

A kimutatási határ a HBV genotípusok között

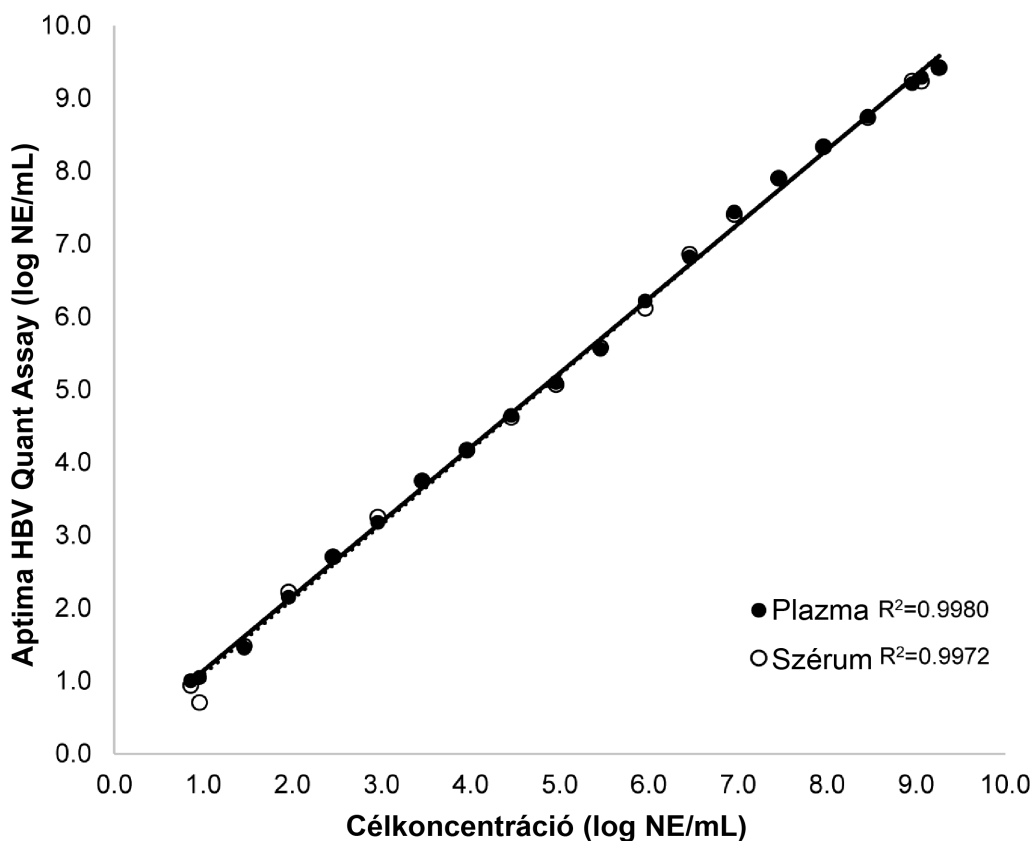
Az LoD meghatározása HBV-pozitív klinikai minták A, B, C, D, E, F, G és H genotípusú hígításainak HBV-negatív humán plazmában és szérumban történő tesztelésével történt. A koncentrációk meghatározása CE-jelzéssel ellátott és a Health Canada által engedélyezett összehasonlító vizsgálat segítségével történt. Minden paneltagból legalább 24 ismétlés került tesztelésre két reagens tétel mindegyikével, így paneltagonként legalább 48 ismétléssel. Probit-analízisre került sor az 50%-os és 95%-os előre jelzett kimutatási határértékek létrehozásához. A 3. táblázat által feltüntetett LoD-értékek a legmagasabb előre jelzett érzékelési határral rendelkező reagens-tétel eredményei.

3: táblázat: A kimutatási határ a HBV genotípusok között klinikai minták felhasználásával

Genotípus	Előre jelzett kimutatási határ	Koncentráció (NE/mL)	
		Plazma	Szérum
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

Lineáris tartomány

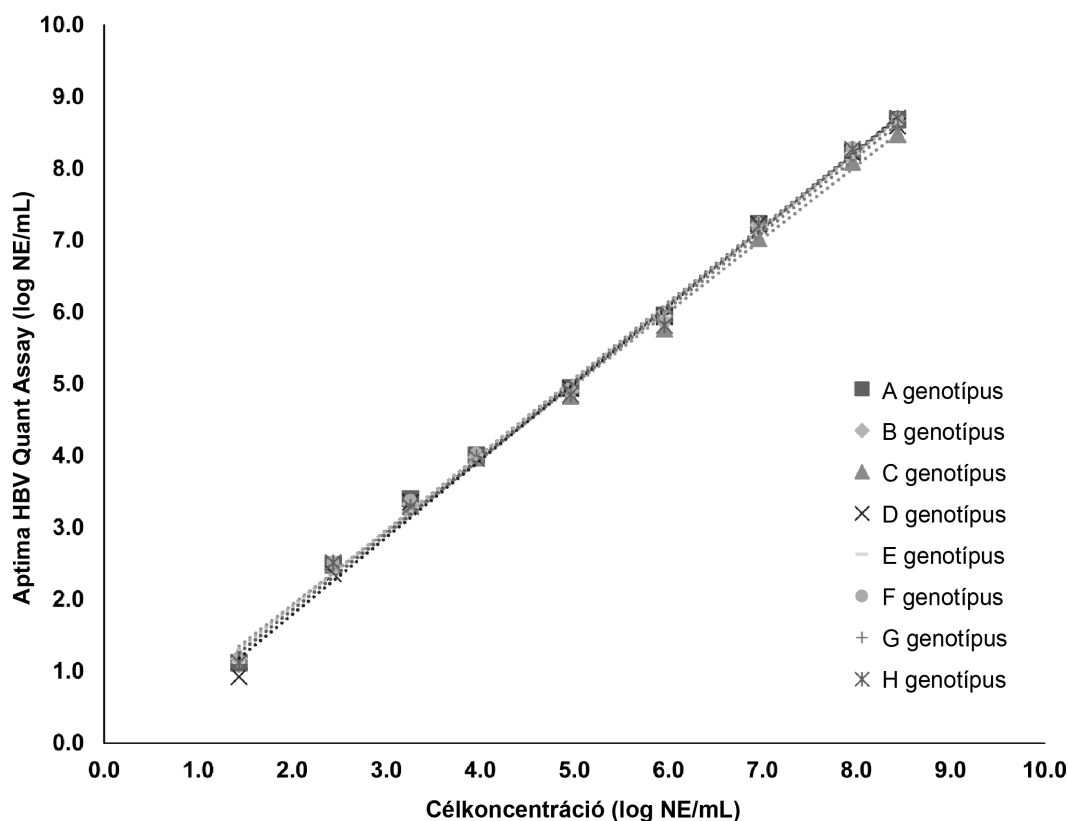
A lineáris tartomány a HBV negatív humán plazmában és szérumban hígított HBV-DNS panelek vizsgálatával került meghatározásra a CLSI EP06-A szabvány szerint¹³. A panelek koncentrációja 0,86 log NE/mL és 9,26 log NE/mL között változott. Az Aptima HBV Quant vizsgálat linearitást mutatott a tesztelt tartományban, a kvantitatív meghatározás felső határa (ULoQ) 9 IU/mL volt, amint azt a 6. ábra mutatja.



6. ábra. Linearitás plazmában és szérumban

Linearitás a HBV genotípusok között

Az A, B, C, D, E, F, G és H genotípusokra vonatkozó lineáris válasz a pufferben hígított HBV-DNS-panelek vizsgálatával igazolódott 1,44 log NE/mL és 8,44 log NE/mL közötti koncentrációban. A linearitás a vizsgált tartományban minden vizsgált genotípus esetében kimutatható volt, amint azt a 7. ábra mutatja.



7. ábra. Linearitása HBV A-H genotípusok között

A mennyiségi meghatározás alsó határa a 3. WHO nemzetközi szabvány felhasználásával

A mennyiségi meghatározás alsó határa (LLOQ) a CLSI EP17-A2 szerint az a legalacsonyabb koncentráció, amelynél a HBV-DNS megbízhatóan, teljes hibán belül határozható meg.¹² A teljes hiba becslése két módszerrel történt: Total Analytical Error (teljes analitikai hiba, TAE) = |eltérés| + 2SD, és Total Error (teljes hiba, TE) = SQRT(2) x 2SD. A mérések pontosságának és precizitásának biztosítása érdekében az Aptima HBV Quant vizsgálat teljes hibája 1 log NE/mL-ben lett meghatározva (azaz a LLOQ-nál két mérés közötti 1 log NE/mL-nél nagyobb különbség statisztikailag szignifikáns).

A LLoQ meghatározására a WHO 3. nemzetközi hepatitis B-vírus DNS-szabványának (3rd WHO International Standard for Hepatitis B Virus DNA, NIBSC 10/264)¹⁴ HBV-negatív humán plazmában és szérumban hígított paneljeinek vizsgálatával került sor. Minden hígításból legalább 45 ismétlés került tesztelésre három reagens tétel mindegyikével, így hígításonként legalább 135 ismétlés készült. A 6. táblázat a TE- és TAE-követelményeknek megfelelő legmagasabb koncentrációjú reagenstétel eredményeit mutatja. A WHO hepatitis B-vírusra vonatkozó 3. nemzetközi WHO-szabványra számított LLoQ 4,80 NE/mL a plazma esetében és 6,34 NE/mL a szérumban vonatkozásában.

4: táblázat: Az LLoQ meghatározása a plazmában hígított HBV-re vonatkozó 3. WHO nemzetközi szabvány segítségével

Reagenstétel	Célkoncentráció		Aptima HBV Quant	SD	Eltérés	Számított TE	Számított TAE
	(NE/mL)	(log NE/mL)	(log NE/mL)	(log NE/mL)	(log NE/mL)	(log NE/mL)	(log NE/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=standard deviáció

5: táblázat: Az LLoQ meghatározása a szérumban hígított HBV-re vonatkozó 3. WHO nemzetközi szabvány segítségével

Reagenstétel	Célkoncentráció		Aptima HBV Quant	SD	Eltérés	Számított TE	Számított TAE
	(NE/mL)	(log NE/mL)	(log NE/mL)	(log NE/mL)	(log NE/mL)	(log NE/mL)	(log NE/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=standard deviáció

6: táblázat: A számított LLoQ összegzése a WHO 3. nemzetközi HBV-szabványának alkalmazásával

Reagenstétel	Plazma LLoQ		Szérumban LLoQ	
	(log NE/mL)	(NE/mL)	(log NE/mL)	(NE/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=standard deviáció

A kvantitatív alsó határérték meghatározása a HBV genotípusok között

Az LLoQ meghatározása HBV-pozitív klinikai minták A, B, C, D, E, F, G és H genotípusú hígításainak HBV-negatív humán plazmában és szérumban történő tesztelésével történt. Minden paneltagból legalább 36 ismétlés került tesztelésre két reagens tétel mindegyikével, így paneltagonként legalább 72 ismétléssel. A TE- és TAE-követelményeknek megfelelő legmagasabb koncentrációjú reagens-tétel eredményeit a 7. táblázat mutatja a plazma és a 8. táblázat a szérum esetében. Az A, B, C, D, E, F, G és H genotípusokra számított LLoQ értékeket a plazmában és a szérumban a 9. táblázat foglalja össze. Ez a vizsgálat általános LLoQ értékét 10 NE/mL-ben határozta meg.

7: táblázat: Az LLoQ meghatározása genotípusok között plazmában

Genotípus	Célkoncentráció		Aptima	SD	Eltérés	Számított TE	Számított TAE
	(NE/mL)	(log NE/mL)	HBV Quant (log NE/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=standard deviáció

8: táblázat: Az LLoQ meghatározása genotípusok között szérumban

Genotípus	Célkoncentráció		Aptima HBV Quant		SD	Eltérés	Számított TE	Számított TAE
	(NE/mL)	(log NE/mL)	(log NE/mL)	(log NE/mL)	(log NE/mL)	(log NE/mL)	(log NE/mL)	(log NE/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=standard deviáció

9: táblázat: Az LLoQ összefoglalása a plazma és a szérumban genotípusai között

Genotípus	Plazma LLoQ		Szérumban LLoQ	
	(log NE/mL)	(NE/mL)	(log NE/mL)	(NE/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

Reprodukálhatóság

A reprodukálhatóság értékeléséhez 28 tagú panel készült HBV-pozitív klinikai minták (A és C genotípus) hígításával vagy HBV DNS (A és C genotípus) HBV-negatív plazmába és szérumba történő adalékolásával. A panelt három kezelő három reagenstétel felhasználásával három Panther rendszeren 20 vagy több tesztnapon keresztül tesztelte.

A 10. táblázat és a 11. táblázat a vizsgálat eredményeinek reprodukálhatóságát mutatja (log NE/mL-ben) a műszerek, a kezelők, a tételek, a futások között, a futásokon belül és összességében. A teljes változékonyságot elsősorban a futáson belüli változékonyság (azaz a véletlen hiba) okozta.

10: táblázat: Az Aptima HBV Quant vizsgálat reprodukálhatósága az A genotípusra vonatkozóan

Mátrix	N	Átlagos koncentráció (log NE/mL)	Kezelők között		Műszerek között		Tételek között		Futtatások között		Futáson belül		Összesen	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Plazma	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
Plazma	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
Plazma	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
Plazma	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
Plazma	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
Plazma	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
Plazma	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
Szérum	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
Szérum	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
Szérum	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
Szérum	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
Szérum	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
Szérum	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
Szérum	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 = variációs együttható, SD = standard deviáció

Megjegyzés: Az egyes tényezőkből eredő változékonyság számszerűen negatív lehet, ami akkor fordulhat elő, ha az e tényezőkből eredő változékonyság nagyon kicsi. Ilyenkor az SD és a CV feltüntetett értéke 0.

11: táblázat: Az Aptima HBV Quant vizsgálat reprodukálhatósága a C genotípusra vonatkozóan

Mátrix	N	Átlagos koncentráció (log NE/mL)	Kezelők között		Műszerek között		Tételek között		Futtatások között		Futáson belül		Összesen	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Plazma	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
Plazma	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
Plazma	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
Plazma	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
Plazma	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
Plazma	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
Plazma	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
Szérum	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
Szérum	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
Szérum	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
Szérum	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
Szérum	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
Szérum	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
Szérum	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 = variációs együttható, SD = standard deviáció

Megjegyzés: Az egyes tényezőkből eredő változékonyság számszerűen negatív lehet, ami akkor fordulhat elő, ha az e tényezőkből eredő változékonyság nagyon kicsi. Ilyenkor az SD és a CV feltüntetett értéke 0.

Potenciálisan interferáló anyagok

Értékelésre került az Aptima HBV Quant vizsgálat érzékenysége az endogén anyagok emelkedett szintje és a HBV fertőzöttek számára gyakran felírt gyógyszerek által okozott interferenciával szemben. HBV-negatív plazmaminták és 4,3 log NE/mL HBV-DNS-koncentrációjú HBV-vel adalékolt minták tesztelésére került sor.

A következők jelenléte nem okozott interferenciát a vizsgálat teljesítményében: albumin (90 mg/mL), hemoglobin (5 mg/mL), trigliceridek (30 mg/mL) vagy nem konjugált bilirubin (0,2 mg/mL).

A meghatározott anyagok emelkedett szintjével rendelkező vagy a 12. táblázat szerinti betegségben szenvedő betegektől származó klinikai plazmaminták tesztelése az Aptima HBV Quant vizsgálattal történt. A vizsgálat teljesítményében nem volt megfigyelhető interferencia.

12: táblázat: Tesztelt klinikai mintatípusok

Klinikai mintatípusok	
1	Antinukleáris antitest (ANA)
2	Reumafaktor (RF)
3	Alkoholos cirrózis (AC)
4	Alkoholos hepatitis
5	Nem alkoholos hepatitis
6	Autoimmun hepatitis
7	Emelkedett alanin-aminotranszferáz (ALT)
8	Hepatocelluláris karcinóma (HCC)
9	Szklerózis multiplex (MS)
10	Szisztémás lupus erythematosus (SLE)
11	Hiperglobulinémia
12	Reumatoid artritisz (RA)
13	Anti-Jo-1 antitest (JO-1)
14	Mielóma multiplex (MM)
15	Hemolizált (emelkedett hemoglobin)
16	Ikterikus (emelkedett bilirubin)
17	Lipémiás (emelkedett lipid)
18	Emelkedett fehérje
19	HBV-antitestek (vakcinázva)
20	HCV antitestek
21	HIV-1 és HIV-2 antitestek

A 13. táblázat által felsorolt exogén anyagok jelenlétében, a C_{max} (humán plazma) legalább háromszorosának megfelelő koncentrációban nem volt megfigyelhető interferencia a vizsgálat teljesítményében.

13: táblázat: Exogén anyagok

Exogén anyagkészlet	Tesztelt exogén anyagok
1	Szakinavir, ritonavir, amprenavir, indinavir, lopinavir, nelfinavir-mezilát
2	Klaritromicin, valganciklovir-hidroklorid, efavirenz, nevirapin
3	Paroxetin HCl, enfuvirtid, zidovudin, didanozin, abakavir-szulfát
4	ribavirin, entekavir, adefovir-dipivoxil, tenofovir-diszoproxil-fumarát, lamivudin, ganciklovir, aciklovir
5	Sztavudin, ciprofloxacín, fluoxetin, azitromicin, valaciklovir, szertralin, zalcitabin
6	Interferon alfa -2a, interferon alfa -2b, pegilált interferon alfa-2b

Specifititás

A specifititás meghatározása 292 friss és 747 fagyasztott HBV-negatív klinikai minta felhasználásával történt. Összesen 521 plazma- és 518 szérumminta vizsgálatára került sor. A specifititás kiszámítása a „Nem észlelt” eredményt adó HBV-negatív minták százalékos arányaként történt. 1038 mintában nem mutattak ki HBV-DNS-t. A specifititás 99,9% volt (1038/1039, 95%-os KI: 99,5–100%).

14: táblázat: Specifititás plazma és szérum klinikai mintákban

	Friss plazma	Fagyasztott plazma	Plazma Összesen	Friss Szérum	Fagyasztott szérum	Szérum Összesen	Kombinált
Érvényes ismétlések (n)	145	376	521	147	371	518	1 039
Nem érzékelt	145	376	521	147	370	517	1 038
Specifititás (95%-os KI)	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)

KI = konfidenciaintervallum

Analitikai specifitás

A 15. táblázat által felsorolt kórokozókkal szembeni potenciális keresztreaktivitás értékelése HBV-negatív humán plazmában történt 4,3 log NE/mL HBV-DNS jelenlétében vagy hiányában. Nem volt megfigyelhető keresztreaktivitás vagy interferencia bakteriálisan szennyezett plazmában vagy más, vér útján terjedő kórokozókkal fertőzött, illetve HBV- és influenza elleni vakcinát kapott alanyok mintáiban.

15: táblázat: Az analitikai specifitás szempontjából vizsgált kórokozók

Mikroorganizmus/kórokozó	Forrás	Mikroorganizmus/kórokozó	Forrás
Hepatitis C vírus	Klinikai minta	8-as típusú humán herpeszvírus	Tenyésztő folyadék
Hepatitis A vírus	Klinikai minta	Japán encefalitisz vírus	Ascites folyadék
HBV vakcinázott	Klinikai minta	Murray-völgyi encefalitisz vírus	Sejtlizátum
HIV-1 és -2	Klinikai minta	St. Louis encefalitisz vírus	Tenyésztő folyadék
Humán T-sejtes limfotróp 1-es és 2-es típusú vírus	Klinikai minta	Vaccinia vírus	Sejtlizátum
Parvovírus B19	Klinikai minta	Sárgaláz vírus	Tenyésztő folyadék
Cytomegalovírus	Klinikai minta	<i>Candida albicans</i>	Kultúra
1-4. típusú Dengue-vírus	Klinikai minta	<i>Chlamydia trachomatis</i>	Kultúra
Epstein-Barr vírus	Klinikai minta	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	Kultúra
Influenza ellen vakcinázott	Klinikai minta	<i>Mycobacterium gordonae</i>	Kultúra
Humán papillomavírus	Klinikai minta	<i>Mycobacterium smegmatis</i>	Kultúra
Herpes simplex vírus 1 és 2	Klinikai minta	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Kultúra
Rubeola vírus	Klinikai minta	<i>Propionibacterium acnes</i>	Kultúra
Varicella zoster vírus	Klinikai minta	<i>Staphylococcus aureus</i>	Kultúra
Nyugat-nílusi vírus	Klinikai minta	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Kultúra
BK humán poliomavírus	Sejtlizátum	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Kultúra
Humán herpeszvírus 6B	Tenyésztő folyadék	<i>Trichomonas vaginalis</i>	Kultúra

Klinikai minták ismételhetősége

Az ismételhetőség értékelése természetes módon fertőzött HBV-pozitív plazma- és szérumban klinikai minták három ismétlésének tesztelésével történt. A vizsgált plazma- és szérumban minták átlagos koncentrációját és standard deviációját lásd: 16.táblázat és 17 táblázat.

16: táblázat: Klinikai plazmaminták ismételhetősége

Plazmaminta	Átlagos koncentráció (log NE/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=standard deviáció

17: táblázat: Klinikai szérumban minták ismételhetősége

Szérumban minta	Átlagos koncentráció (log NE/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=standard deviáció

Minta hígítása mintahígítóval

A HBV-DNS visszanyerésének értékeléséhez az Aptima mintahígító segítségével hígított mintákban a lineáris tartományt átfogó plazma- és szérumbinták 1:3 arányban lettek hígítva az Aptima mintahígító segítségével. Ezenkívül a magas titerű, természetesen fertőzött klinikai minták és az ULoQ feletti koncentrációjú HBV-DNS-tartalmú minták hígítása 1:100 arányban történt az Aptima mintahígítóval. Minden minta tesztelése tisztán és hígítva (1:3 vagy 1:100) három példányban történt. A jelentett átlagos koncentráció (a hígított minta eredményére alkalmazott hígítási tényező) és az átlagos tiszta koncentráció közötti különbségeket a 18. táblázat mutatja a plazma és a 19. táblázat a szérum esetében. A mintakonzentrációk pontosan visszanyerhetőek voltak a hígított mintákban.

18: táblázat: Minta hígítása Aptima mintahígítóval plazmában

Hígítás	Átlagos tiszta koncentráció (log NE/mL)	Átlagos jelentett koncentráció ^a (log NE/mL)	Különbség (log NE/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

^aA jelentett koncentráció a hígítási tényező alkalmazása után számított érték.

^bAdalékolt minta

^cA célkoncentráció értéke, amely az ULoQ felett van.

19: táblázat: Minta hígítása Aptima mintahígítóval szérumban

Hígítás	Átlagos tiszta koncentráció (log NE/mL)	Átlagos jelentett koncentráció ^a (log NE/mL)	Különbség (log NE/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

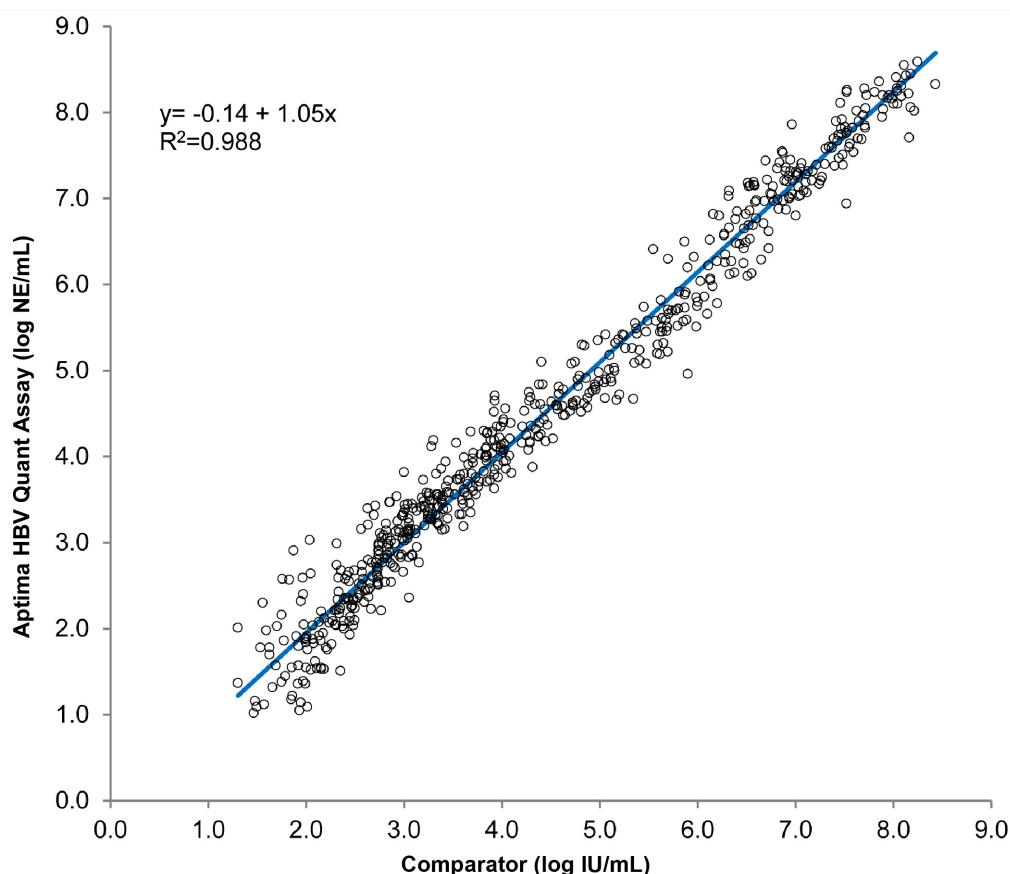
^aA jelentett koncentráció a hígítási tényező alkalmazása után számított érték.

^bAdalékolt minta

^cA célkoncentráció értéke, amely az ULoQ felett van.

Módszerkorreláció

Az Aptima HBV Quant vizsgálat teljesítménye egy CE-jelzéssel ellátott és egy Health Canada által engedélyezett összehasonlító vizsgálatával szemben került értékelésre HBV-fertőzött betegekből származó hígítatlan klinikai minták tesztelésével. A 8. ábra szerint a lineáris regresszióhoz összesen 614 klinikai minta került felhasználásra a két vizsgálat közös lineáris tartományán belül.



8. ábra. Az Aptima HBV Quant Assay és a Comparator Assay közötti korreláció

Átvitel

Annak megállapítása érdekében, hogy a Panther rendszer minimalizálja az átvitelből eredő hamis pozitív eredmények kockázatát, egy analitikai vizsgálatra került sor három Panther rendszerrel, adalékolt panelek felhasználásával. Az átvitel értékelése magas titerű HBV-DNS-sel adalékolt plazmaminták (8 log IU/mL) felhasználásával történt, amelyeket sakkasztás mintázatban HBV-negatív minták közé helyeztek. A tesztelés tizenöt futtatáson keresztül zajlott. A teljes átviteli arány 0,0% volt (0/705).

Irodalomjegyzék

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

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

Műszaki támogatás: +1 888 484 4747
molecularsupport@hologic.com

További elérhetőségekért látogasson el a www.hologic.com oldalra.



Hologic BV
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

A Hologic, az Aptima és a Panther a Hologic, Inc. vállalatnak és/vagy leányvállalatainak a védjegyei, illetve bejegyzett védjegyei az Egyesült Államokban és/vagy más országokban. A jelen használati utasításban esetlegesen megjelenő minden további védjegy a mindenkori tulajdonosok tulajdonát képezi.

Ezt a terméket egy vagy több, a www.hologic.com/patents címen felsorolt egyesült államokbeli szabadalom védheti.

© 2016-2020 Hologic, Inc. Minden jog fenntartva.
AW-13182-2801 Rev. 007
2020-12