

## Test Aptima™ HBV Quant

Do diagnostyki *in vitro*.

Tylko na eksport poza USA

<b>Informacje ogólne</b> .....	<b>2</b>
Przeznaczenie .....	2
Podsumowanie i objaśnienie testu .....	2
Zasady procedury .....	3
Ostrzeżenia i środki ostrożności .....	4
Wymagania dotyczące przechowywania odczynników i postępowania z nimi .....	7
Pobieranie i przechowywanie próbek .....	8
Próbki w Panther System .....	11
Transport próbek .....	11
<b>Panther System</b> .....	<b>12</b>
Dostarczone odczynniki i materiały .....	12
Materiały wymagane, ale dostępne osobno .....	14
Materiały opcjonalne .....	15
Procedura testu w Panther System .....	15
Uwagi dotyczące procedury .....	19
<b>Kontrola jakości</b> .....	<b>21</b>
Kalibracja testu .....	21
Kontrole ujemne i dodatnie .....	21
Kalibrator wewnętrzny / kontrola wewnętrzna .....	21
<b>Interpretacja wyników</b> .....	<b>22</b>
<b>Ograniczenia</b> .....	<b>22</b>
<b>Skuteczność</b> .....	<b>23</b>
Granica wykrywalności przy zastosowaniu 3. Międzynarodowego Standardu WHO .....	23
Granica wykrywalności dla różnych genotypów HBV .....	24
Zakres liniowy .....	25
Liniowość według genotypów HBV .....	26
Dolna granica oznaczalności przy zastosowaniu 3. Międzynarodowego Standardu WHO .....	26
Określenie dolnej granicy oznaczalności dla różnych genotypów HBV .....	28
Odtwarzalność .....	30
Potencjalne substancje zakłócające .....	32
Swoistość .....	33
Swoistość analityczna .....	34
Powtarzalność próbek klinicznych .....	35
Rozcieńczanie próbek przy użyciu rozcieńczalnika do próbek .....	36
Korelacja metod .....	38
Przenoszenie .....	38
<b>Bibliografia</b> .....	<b>39</b>

## Informacje ogólne

### Przeznaczenie

Test Aptima HBV Quant to test amplifikacji kwasów nukleinowych *in vitro* do ilościowego oznaczania DNA wirusa zapalenia wątroby typu B (HBV) w ludzkim osoczu i surowicy w całkowicie zautomatyzowanym systemie Panther™ System.

Osocze można przygotować w kwasie etylenodiaminotetraoctowym (EDTA), w roztworze antykoagulantu cytrynianu dekstrozy (ACD) oraz w probówkach do przygotowania osocza (PPT). Surowicę można przygotować w probówkach do surowicy lub w probówkach do separacji surowicy (SST). Próbkę są badane przy użyciu w pełni zautomatyzowanego Panther® System do przetwarzania próbek, amplifikacji i oznaczania ilościowego. Próbkę zawierające genotypy A, B, C, D, E, F, G i H wirusa HBV są zatwierdzone do oznaczania ilościowego w teście.

Test Aptima HBV Quant jest przeznaczony do stosowania jako pomoc w prowadzeniu pacjentów z przewlekłym zakażeniem HBV, poddawanych terapii lekami przeciwwirusowymi na HBV. Test może być używany do pomiaru poziomu DNA wirusa HBV na poziomie wyjściowym i podczas leczenia, aby pomóc w ocenie reakcji wirusa na leczenie. Wyniki testu Aptima HBV Quant należy interpretować w kontekście wszystkich istotnych wyników badań klinicznych i laboratoryjnych.

Test Aptima HBV Quant nie jest przeznaczony do stosowania jako przesiewowy test krwi lub produktów z krwi na obecność HBV ani jako test diagnostyczny w celu potwierdzenia obecności zakażenia HBV.

### Podsumowanie i objaśnienie testu

Wirus zapalenia wątroby typu B (HBV), jeden z kilku wirusów wywołujących zapalenie wątroby, powoduje trwałe całe życie zakażenie HBV, marskość wątroby, raka wątroby, niewydolność wątroby i potencjalnie śmierć. Światowa Organizacja Zdrowia (WHO) wymienia HBV jako jedną z najczęstszych chorób zakaźnych na świecie. Częstość występowania zakażenia HBV i sposób transmisji są na całym świecie bardzo zróżnicowane. Około jedna trzecia światowej populacji ma serologiczne dowody na występowanie w przeszłości lub obecnie zakażenia HBV, przy czym przewlekłe zakażenie HBV występuje u ponad 350 milionów ludzi na całym świecie.<sup>1,2,3</sup> Zakażenie HBV powoduje zwiększone ryzyko dekompensacji czynności wątroby, marskości i raka wątrobowokomórkowego (hepatocellular carcinoma – HCC) ze śmiertelnością od 0,5 do 1,2 miliona zgonów i 5-10% przypadków transplantacji wątroby rocznie na całym świecie.<sup>4,5</sup> Bez odpowiedniego leczenia, zabiegów i monitorowania po postawieniu diagnozy, 5-letnia skumulowana częstość występowania marskości wątroby wynosi od 8 do 20%. Po wystąpieniu marskości wątroby roczne ryzyko wystąpienia raka wątrobowokomórkowego (HCC) wynosi 2-5%.<sup>6</sup>

HBV zawiera kolistę, częściowo dwuniciowy genom DNA o długości około 3200 par zasad, który koduje cztery częściowo nakładające się na siebie otwarte ramki odczytu (ORF) wyrażające polimerazę, powierzchnię, precore/core oraz białko X. ORF polimerazy nakłada się na pozostałe 3 ORF i koduje kluczowe białko wirusowej replikacji, polimerazę. W ORF powierzchniowym dochodzi do ekspresji trzech białek, które są niezbędne do morfogenezy wirusa, wnikania wirusa do hepatocytów i prowokowania reakcji immunologicznej nosiciela.<sup>7</sup> Istnieje 8 genotypów HBV (A-H), które zwykle występują w różnych lokalizacjach geograficznych. Obecnie oznaczenie ilościowe DNA wirusa HBV jest wykorzystywane do określenia, których pacjentów z przewlekłym zakażeniem należy leczyć, do monitorowania reakcji na leczenie oraz do oceny zmian wirerii, które mogą wskazywać na oporność na leki.<sup>5</sup>

Test Aptima HBV Quant jest testem amplifikacji kwasów nukleinowych *in vitro*, który wykorzystuje technologię amplifikacji z mediacją transkrypcji (TMA) w czasie rzeczywistym w Panther System do ilościowego oznaczania DNA wirusa HBV, genotypów A, B, C, D, E, F, G i H. Test Aptima HBV Quant jest skierowany na dwa wysoce konserwatywne regiony w genach polimerazy i powierzchni (w celu zwiększenia tolerancji na potencjalne mutacje). Test jest standaryzowany do 3. Międzynarodowego Standardu WHO dla wirusa zapalenia wątroby typu B (kod NIBSC: 10/264).

## Zasady procedury

Test Aptima HBV Quant można podzielić na trzy podstawowe etapy, przy czym wszystkie odbywają się w pojedynczej probówce w aparacie Panther System: wychwytywanie cząsteczek szukanych, amplifikacja cząsteczek szukanych metodą TMA oraz detekcja produktów amplifikacji (amplikonów) wyznakowanymi fluorescencyjnie sondami (typu torch).

Podczas wychwytywania cząsteczek szukanych, z próbek izolowane jest DNA wirusa. Próbka jest poddawana działaniu detergentu w celu solubilizacji otoczki wirusowej, denaturacji białek i uwolnienia genomowego DNA wirusa. Oligonukleotydy wychwytyjące hybrydują do wysoce konserwatywnych regionów DNA wirusa HBV, jeśli są one obecne w badanej próbce. Po hybrydyzacji cząsteczka szukana jest wychwytywana przez mikrocząstki magnetyczne, które następnie są oddzielane od próbki w polu magnetycznym. W celu usunięcia zbędnych składników z próbki reakcyjnej wykonywane są etapy płukania.


Amplifikacja cząsteczek szukanych jest wykonywana metodą TMA. Jest to metoda amplifikacji kwasów nukleinowych z mediacją transkrypcji, w której wykorzystywane są dwa enzymy – odwrotna transkryptaza wirusa białaczki mysiej Moloneya (Moloney murine leukemia virus, MMLV) oraz polimeraza RNA bakteriofaga T7. Odwrotna transkryptaza jest wykorzystywana do produkcji kopii DNA (zawierającej sekwencję promotora dla polimerazy RNA bakteriofaga T7) sekwencji szukanej. Polimeraza RNA bakteriofaga T7 produkuje liczne kopie amplikonu RNA na podstawie matrycy kopii DNA. Test Aptima HBV Quant wykorzystuje metodę TMA do amplifikacji dwóch regionów genomu HBV (gen polimerazy i gen powierzchniowy). Amplifikacja tych regionów jest osiągana przy użyciu specyficznych starterów zaprojektowanych do amplifikacji genotypów A, B, C, D, E, F, G i H wirusa HBV. Podwójne podejście do regionu szukanego wraz z projektowaniem starterów ukierunkowanych na wysoce konserwatywne regiony zapewnia dokładną kwantyfikację DNA HBV.

Detekcja następuje dzięki zastosowaniu sond jednoniciowego kwasu nukleinowego, które są obecne w czasie amplifikacji cząstki szukanej i ulegają swoistej hybrydyzacji z amplikonem w czasie rzeczywistym. Każda sonda typu torch składa się z fluoroforu i wygaszacza. Gdy sonda typu torch nie hybryduje do amplikonu, wygaszacz znajduje się w pobliżu fluoroforu i tłumi fluorescencję. Gdy sonda wiąże się z amplikonem, wygaszacz jest odsuwany dalej od fluoroforu i po wzbudzeniu przez źródło światła emituje sygnał o swoistej długości fali. Gdy więcej sond typu torch hybryduje do amplikonu, generowany jest wyższy sygnał fluorescencyjny. Czas potrzebny do osiągnięcia przez sygnał fluorescencyjny określonego progu jest proporcjonalny do wyjściowego stężenia wirusa HBV. Każda reakcja posiada wewnętrzny kalibrator / kontrolę wewnętrzną (IC), która kontroluje zmiany w przetwarzaniu próbki, amplifikacji i wykrywaniu. Stężenie próbki jest określane przez oprogramowanie Panther System przy użyciu sygnałów wirusa HBV i IC dla każdej reakcji i porównanie ich z informacjami o kalibracji.

**Ostrzeżenia i środki ostrożności**

- A. Wyłącznie do diagnostyki *in vitro*.
- B. Aby zmniejszyć ryzyko uzyskania nieważnych wyników, przed wykonaniem tego testu należy uważnie przeczytać całą ulotkę załączoną do opakowania oraz *Instrukcję obsługi Panther System*.
- C. qHBV Odczynnik wzmocnienia cząstek szukanych (TER) ma działanie żrące. Patrz „Kwestie dotyczące testu” na stronie 5., aby uzyskać pełną listę ostrzeżeń.

**Kwestie związane z laboratorium**

-  D. PRZESTROGA: Kontrole dla tego testu zawierają ludzkie osocze. Osocze jest ujemne w kierunku antygeny powierzchniowego zapalenia wątroby typu B (HBsAg), przeciwciał HCV, przeciwciał HIV-1 i HIV-2 oraz antygeny HIV podczas testowania zgodnie z procedurami zatwierdzonymi przez US Food and Drug Administration. Ponadto, osocze jest niereaktywne dla DNA wirusa HBV, RNA wirusa HCV i RNA wirusa HIV-1 podczas testowania licencjonowanymi testami kwasów nukleinowych z wykorzystaniem pul próbek. Wszystkie materiały pochodzące z krwi ludzkiej powinny być uważane za potencjalnie zakaźne i powinny być traktowane z zastosowaniem uniwersalnych środków ostrożności.<sup>8,9,10</sup>
- E. Procedurę tę powinien wykonywać wyłącznie personel odpowiednio przeszkolony w zakresie stosowania testu Aptima HBV Quant oraz postępowania z materiałami potencjalnie zakaźnymi. Jeśli dojdzie do rozlania, natychmiast zdezynfekować zgodnie z odpowiednimi procedurami w miejscu pracy.
- F. Stosować wyłącznie dostarczone lub określone jednorazowe wyposażenie laboratoryjne.
- G. Przestrzegać rutynowych środków ostrożności stosowanych w laboratorium. Nie pipetować ustami. Nie jeść, nie pić i nie palić w wyznaczonych obszarach pracy. W czasie pracy z próbkami i odczynnikami zestawu nosić jednorazowe rękawiczki bezpudrowe, osłonę oczu oraz odzież laboratoryjną. Dokładnie umyć ręce po pracy z próbkami i odczynnikami zestawu.
- H. Powierzchnie robocze, pipety i inne wyposażenie należy regularnie odkażać, stosując roztwór podchlorynu sodu w stężeniu od 2,5% do 3,5% (od 0,35 M do 0,5 M).
- I. Usunąć wszystkie materiały, które miały kontakt z próbkami i odczynnikami zgodnie z lokalnymi, stanowymi i federalnymi przepisami.<sup>8,9,10,11</sup> Dokładnie oczyścić i zdezynfekować wszystkie powierzchnie robocze.
- J. Kontrole zawierają azydek sodu jako środek konserwujący. Nie należy używać metalowych przewodów rurowych do przenoszenia odczynników. Jeżeli roztwory zawierające związki azydku sodu są usuwane do instalacji wodociągowej, należy je rozcieńczyć i spłukać dużą ilością bieżącej wody. Te środki ostrożności są zalecane w celu uniknięcia gromadzenia się osadów w metalowych przewodach rurowych, w których mogłyby powstać warunki wybuchowe.
- K. Dobre standardowe praktyki dla laboratoriów molekularnych obejmują monitorowanie środowiska. Aby monitorować środowisko laboratorium, sugeruje się następującą procedurę:
  - 1. Przygotować wymazówkę z końcówką bawełnianą i dołączyć do próbki do porcjowania próbek Aptima (SAT).
  - 2. Odpowiednio oznakować każdą SAT.

3. Napełnić każdą SAT 1 mL rozcieńczalnika do próbek Aptima.
4. Aby pobrać próbki powierzchniowe, należy lekko zwilżyć wymazówkę wolną od nukleaz dejonizowaną wodą.
5. Wymazać powierzchnię zainteresowania, wykonując pionowe ruchy z góry na dół. Obrócić wymazówkę o około pół obrotu podczas wymazywania miejsca.
6. Natychmiast umieścić próbkę wymazu w próbówce i delikatnie odwirować wymazówkę w rozcieńczalniku w celu wyodrębnienia potencjalnych materiałów wymazowych. Przycisnąć wymazówkę do boku próbówki transportowej, aby wydobyć jak najwięcej płynu. Wyrzucić wymazówkę i zakręcić próbówkę.
7. Powtórzyć czynności dla pozostałych próbek wymazu.
8. Zbadać wymaz przy pomocy testu molekularnego.

### Kwestie dotyczące próbek





- L. Próbki mogą być zakaźne. W czasie wykonywania tego testu przestrzegać uniwersalnych środków ostrożności<sup>8,9,10</sup>. Właściwe metody postępowania oraz metody usuwania należy określić na podstawie lokalnych przepisów.<sup>11</sup> Procedurę tę powinien wykonywać wyłącznie personel odpowiednio przeszkolony w zakresie stosowania testu Aptima HBV Quant i przeszkolony w zakresie postępowania z materiałami zakaźnymi.
- M. W trakcie transportu próbek zapewnić prawidłowe warunki przechowywania, pozwoli to zachować ich prawidłowy stan. Nie oceniono stabilności próbek w warunkach transportu innych niż zalecane.
- N. W czasie etapów pracy z próbkami unikać zanieczyszczenia krzyżowego. Zachować szczególną ostrożność, aby uniknąć kontaminacji poprzez rozprzestrzenienie się aerozolu w czasie luzowania lub zdejmowania zakrętek z próbek. W próbkach może występować niezwykle wysokie stężenie mikroorganizmów. Należy dopilnować, aby pojemniki na próbki nie stykały się ze sobą, a zużyte materiały wyrzucić bez przesuwania ich nad jakimkolwiek otwartymi pojemnikami. Zmienić rękawiczki, jeżeli miały kontakt z próbką.

### Kwestie dotyczące testu

- O. Nie używać zestawu odczynników, kalibratora lub kontroli po upływie ich terminu ważności.
- P. Nie wymieniać, nie mieszać ani nie łączyć odczynników analitycznych pochodzących z zestawów o różnych numerach serii głównej. Płyny do testu mogą pochodzić z partii o różnych numerach. Kontrole i kalibrator mogą pochodzić z partii o różnych numerach.
- Q. Unikać kontaminacji odczynników przez drobnoustroje i nukleazy.
- R. Wszystkie odczynniki analityczne należy przechowywać zamknięte i w określonych temperaturach. W przypadku użycia odczynników analitycznych przechowywanych w niewłaściwych warunkach skuteczność testu może ulec zmianie. Zobacz *Wymagania dotyczące przechowywania odczynników i postępowania z nimi* oraz *Procedura testu w Panther System*, aby uzyskać więcej informacji.
- S. Nie łączyć odczynników analitycznych ani płynów bez konkretnej instrukcji. Nie wolno dopełniać butelek z odczynnikiem lub płynami. Aparat Panther System weryfikuje poziom odczynników.
- T. Unikać kontaktu odczynnika wzmocnienia cząstek szukanych ze skórą, oczami i błonami śluzowymi. W przypadku zetknięcia z tym odczynnikiem przemyć miejsce kontaktu wodą. Jeśli dojdzie do rozlania tego odczynnika, należy rozcieńczyć go wodą i postępować zgodnie z odpowiednimi lokalnie obowiązującymi procedurami.

U. Niektóre odczynniki w tym zestawie są oznakowane symbolami zagrożenia i bezpieczeństwa.

**Uwaga:** Stosowane informacje dotyczące zagrożeń są określone przez klasyfikacje kart charakterystyki substancji (Safety Data Sheets, SDS) obowiązujące w UE. Informacje dotyczące zagrożeń występujących w konkretnym regionie opisano w kartach SDS właściwych dla regionów. Dokumenty te znajdują się w bibliotece kart charakterystyki pod adresem [www.hologicds.com](http://www.hologicds.com).

	<b>Kontrole z zestawu HBV VL</b>
	<p><b>Azydek sodu 0,2%</b> Surowica ludzka 95-100%</p> <p><b>OSTRZEŻENIE</b> H312 – Działa szkodliwie w kontakcie ze skórą H412 – Działa szkodliwie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki P273 – Unikać uwolnienia do środowiska P280 – Stosować rękawice ochronne / odzież ochronną / ochronę oczu / ochronę twarzy</p>
	<b>Odczynnik wzmocnienia cząstek szukanych</b>
	<p><b>Wodorotlenek litu, monohydrat 5-10%</b></p> <p><b>NIEBEZPIECZEŃSTWO</b> H302 – Działa szkodliwie po połknięciu H314 – Powoduje poważne oparzenia skóry oraz uszkodzenia oczu P260 – Nie wdychać pyłu/dymu/gazu/mgły/par/rozpylonej cieczy P280 – Stosować rękawice ochronne / odzież ochronną / ochronę oczu / ochronę twarzy P303 + P361 + P353 – W PRZYPADKU KONTAKTU ZE SKÓRĄ (lub z włosami): Natychmiast zdjąć całą zanieczyszczoną odzież. Spłukać skórę pod strumieniem wody lub prysznicem. P305 + P351 + P338 – W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO OCZU: Ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Kontynuować płukanie. P310 – Natychmiast skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUĆ lub lekarzem</p>

## Wymagania dotyczące przechowywania odczynników i postępowania z nimi

- A. W poniższej tabeli przedstawiono warunki przechowywania i stabilność odczynników, kontroli i kalibratora.

Odczynnik	Przechowywanie nieotwartych odczynników	Zestaw po otwarciu (po przygotowaniu odczynników)	
		Przechowywanie	Stabilność
Odczynnik amplifikacji qHBV	2°C do 8°C		
Roztwór do przygotowania odczynnika amplifikacji qHBV	2°C do 8°C	2°C do 8°C	30 dni <sup>a</sup>
Odczynnik enzymatyczny qHBV	2°C do 8°C		
Roztwór do przygotowania odczynnika enzymatycznego qHBV	2°C do 8°C	2°C do 8°C	30 dni <sup>a</sup>
Odczynnik promotora qHBV	2°C do 8°C		
Roztwór do przygotowania odczynnika promotora qHBV	2°C do 8°C	2°C do 8°C	30 dni <sup>a</sup>
Odczynnik do wychwytywania cząsteczek szukanych qHBV	2°C do 8°C	2°C do 8°C	30 dni <sup>a</sup>
PCAL (kalibrator dodatni) qHBV	-15°C do -35°C	15°C do 30°C	Fiolka jednorazowego użytku Zużyć w ciągu 24 godzin
NC CONTROL – (kontrola ujemna) qHBV	-15°C do -35°C	15°C do 30°C	Fiolka jednorazowego użytku Zużyć w ciągu 24 godzin
LPC CONTROL + (kontrola niskododatnia) qHBV	-15°C do -35°C	15°C do 30°C	Fiolka jednorazowego użytku Zużyć w ciągu 24 godzin
HPC CONTROL + (kontrola wysokodatnia) qHBV	-15°C do -35°C	15°C do 30°C	Fiolka jednorazowego użytku Zużyć w ciągu 24 godzin
Odczynnik wzmocnienia cząstek szukanych qHBV	15°C do 30°C	15°C do 30°C	30 dni <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Po wyjęciu odczynników z aparatu Panther System należy je niezwłocznie przenieść do miejsca o odpowiedniej temperaturze przechowywania.

- B. Wyrzucić nieużyte pozostałości odczynników po przygotowaniu, odczynnika do wychwytywania cząsteczek szukanych (TCR) oraz odczynnika wzmocnienia cząstek szukanych (TER) po 30 dniach lub po upływie daty ważności serii głównej, w zależności od tego, co nastąpi wcześniej.
- C. Odczynniki przechowywane w aparacie Panther System charakteryzują się stabilnością wewnętrzną wynoszącą 72 godzin. Odczynniki można ładować do Panther System do 5 razy. Panther System rejestruje każde załadowanie odczynników.
- D. Po rozmrożeniu kalibratora roztwór musi być klarowny, tzn. nie może być mętny ani nie mogą się w nim wytrącać osady.
- ⚠ E. Odczynnik promotora i przygotowany odczynnik promotora są wrażliwe na światło. Te odczynniki należy chronić przed światłem w trakcie przechowywania i przygotowania do stosowania.
- F. Odczynnik wzmocnienia cząstek szukanych qHBV należy przechowywać przed użyciem w temperaturze od 15°C do 30°C.

## Pobieranie i przechowywanie próbek

**Uwaga:** Z wszystkimi próbkami należy obchodzić się tak, jak gdyby zawierały czynniki potencjalnie zakaźne. Przestrzegać uniwersalnych środków ostrożności.

**Uwaga:** Należy dopilnować, aby w czasie etapów pracy z próbkami unikać zanieczyszczenia krzyżowego. Należy na przykład wyrzucać zużyty materiał bez przemieszczania go nad otwartymi probówkami.

**Uwaga:** Do przechowywania zalecane są wyłącznie plastikowe probówki wtórne.

Można użyć próbek krwi pełnej zebranych w poniższych szklanych lub plastikowych probówkach:

- Probówki zawierające antykoagulanty EDTA lub ACD
- Probówki do przygotowania osocza (PPT)
- Probówki z surowicą
- Probówki do separacji surowicy (SST)

W przypadku surowicy, należy pozwolić na utworzenie się skrzepu przed dalszą obróbką.

### A. Pobieranie próbek

Krew pełna może być przechowywana w temperaturze od 2°C do 30°C i musi być odwirowana w ciągu 24 godzin od pobrania próbki. Oddzielić osocze lub surowicę od granulowanych krwinek czerwonych, postępując zgodnie z instrukcjami producenta używanej probówki. Osocze lub surowica mogą być badane w Panther System w probówce pierwotnej lub przeniesione do probówki dodatkowej, takiej jak probówka do porcjowania próbek Aptima. Aby uzyskać objętość reakcji 500 µL, minimalna objętość osocza lub surowicy w pierwotnych probówkach do pobierania próbek wynosi do 1200 µL, a w przypadku probówek dodatkowych minimalna objętość wynosi 700 µL. W poniższej tabeli określono wymagania dotyczące objętości martwej dla każdego typu probówki głównej i dodatkowej.

Probówka (rozmiar i typ)	Objętość martwa w Panther System
Probówka do porcjowania próbek Aptima (SAT)	0,2 mL
12x75 mm	0,5 mL
13x100 mm	0,5 mL
13x100 mm z żelem	0,3 mL
16x100 mm z żelem	0,7 mL

Jeżeli nie są testowane natychmiast, osocze i surowica mogą być przechowywane zgodnie z poniższymi specyfikacjami. Po przeniesieniu do probówki dodatkowej, osocze lub surowicę można zamrozić w temperaturze -20°C. Nie należy przekraczać 3 cykli zamrażania i rozmrażania. Nie zamrażać próbek w roztworach EDTA, ACD lub w pierwotnych probówkach do pobierania surowicy.

### B. Warunki przechowywania próbek

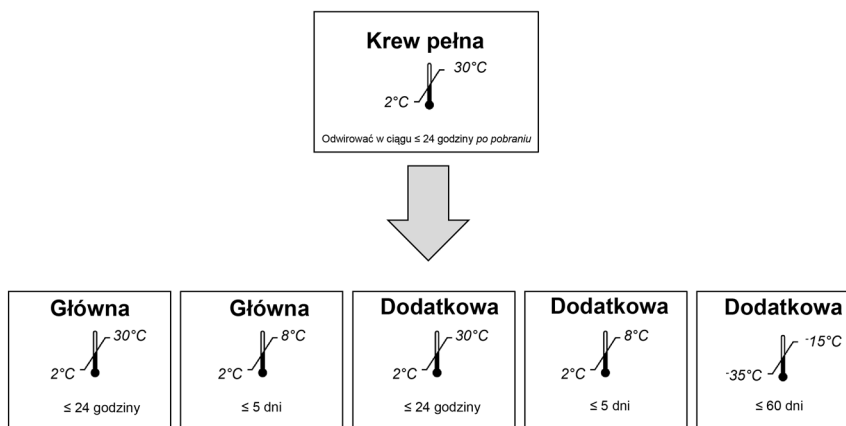
#### 1. Próbkki osocza w EDTA i ACD

Krew pełna może być przechowywana w temperaturze od 2°C do 30°C i musi być odwirowana w ciągu 24 godzin od pobrania próbki. Osocze można następnie przechowywać w jednym z następujących warunków:

- W pierwotnej lub dodatkowej probówce do pobierania w temperaturze od 2°C do 30°C przez okres do 24 godzin,



- W pierwotnej lub dodatkowej probówce do pobierania w temperaturze od 2°C do 8°C przez okres do 5 dni, lub
- W probówce dodatkowej w temperaturze -20°C do 60 dni.

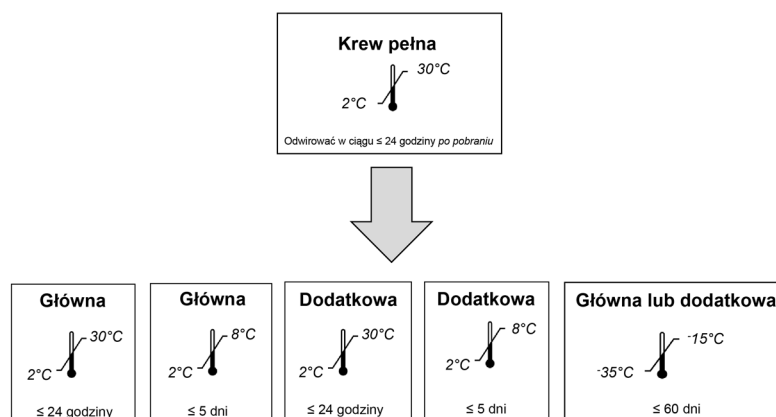


**Rysunek 1. Warunki przechowywania próbek z EDTA/ACD**

## 2. Próbkę w probówkach PPT

Krew pełna może być przechowywana w temperaturze od 2°C do 30°C i musi być odwirowana w ciągu 24 godzin od pobrania próbki. Osocze można następnie przechowywać w jednym z następujących warunków:

- W probówce PPT lub dodatkowej w temperaturze od 2°C do 30°C przez okres do 24 godzin,
- W probówce PPT lub dodatkowej w temperaturze od 2°C do 8°C przez okres do 5 dni, lub
- W probówce PPT lub dodatkowej w temperaturze -20°C przez okres do 60 dni.

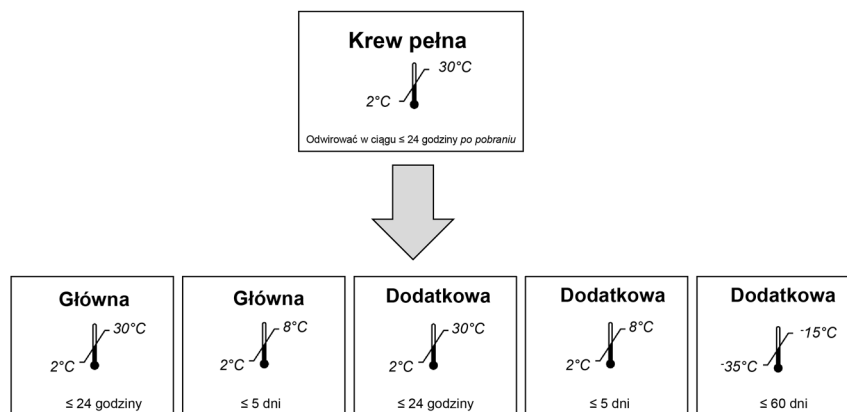


**Rysunek 2. Warunki przechowywania dla próbek PPT**

### 3. Próbkę w probówkach z surowicą

Krew pełna może być przechowywana w temperaturze od 2°C do 30°C i musi być odwirowana w ciągu 24 godzin od pobrania próbki. Surowicę można następnie przechowywać w jednym z następujących warunków:

- W probówce na surowicę lub dodatkowej w temperaturze od 2°C do 30°C przez okres do 24 godzin,
- W probówce na surowicę lub dodatkowej w temperaturze od 2°C do 8°C przez okres do 5 dni, lub
- W probówce dodatkowej w temperaturze -20°C do 60 dni.

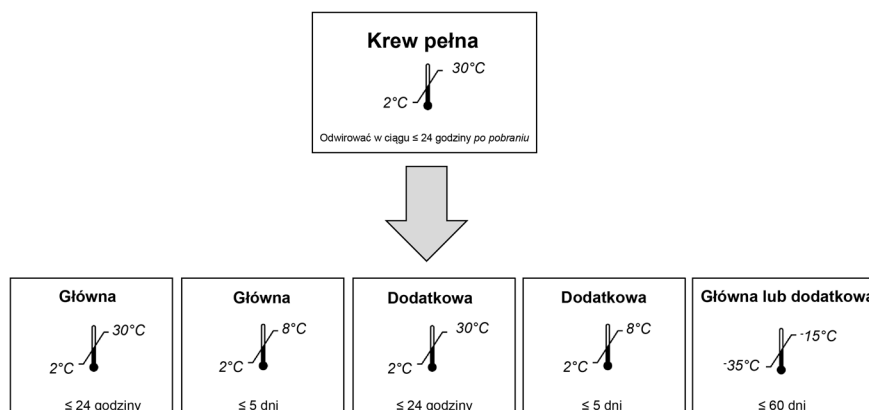


**Rysunek 3. Warunki przechowywania probówek z surowicą**

### 4. Próbkę w probówkach SST

Krew pełna może być przechowywana w temperaturze od 2°C do 30°C i musi być odwirowana w ciągu 24 godzin od pobrania próbki. Surowicę można następnie przechowywać w jednym z następujących warunków:

- W probówce SST lub dodatkowej w temperaturze od 2°C do 30°C przez okres do 24 godzin,
- W probówce SST lub dodatkowej w temperaturze od 2°C do 8°C przez okres do 5 dni, lub
- W probówce SST lub dodatkowej w temperaturze -20°C przez okres do 60 dni.



**Rysunek 4. Warunki przechowywania dla probówek SST**

C. Przechowywanie długotrwałe w zamrożeniu

Próbki osocza lub surowicy można przechowywać w temperaturze od -65°C do -85°C przez okres do 60 dni w probówkach SAT.

D. Rozcieńczanie próbek osocza i surowicy

Próbki osocza i surowicy można rozcieńczać w probówce SAT lub dodatkowej w celu wykonania testu w Panther System. Zobacz *Procedura testu w Panther System*, akapit E „Obchodzenie się z próbkami”, etap 6, aby uzyskać więcej informacji.

**Uwaga:** Jeżeli próbka zostanie rozcieńczona, powinna być badana natychmiast po rozcieńczeniu. Nie należy zamrażać rozcieńczonej próbki.

## Próbki w Panther System

Próbki można pozostawiać w Panther System bez zamknięcia na okres do 8 godzin. Próbki można wyjąć z Panther System i poddać badaniu, o ile całkowity czas przebywania w systemie nie przekracza 8 godzin przed pipetowaniem próbki przez Panther System.

## Transport próbek

Zachować warunki przechowywania próbek zgodnie z opisem w *Pobieranie i przechowywanie próbek*.

**Uwaga:** Próbki należy przesyłać zgodnie z odpowiednimi krajowymi, międzynarodowymi i regionalnymi przepisami transportowymi.

## Panther System

Odczynniki do testu Aptima HBV Quant dla Panther System zostały wymienione poniżej. Obok nazwy odczynnika wymieniono także symbole identyfikujące odczynniki.

### Dostarczone odczynniki i materiały

**Uwaga:** Informacje dotyczące zwrotów wskazujących zagrożenia i środki ostrożności, które mogą się wiązać z odczynnikami, przedstawiono w bibliotece kart charakterystyki produktów na stronie [www.hologic.com/sds](http://www.hologic.com/sds).

**Zestaw testów Aptima HBV Quant**, 100 testów (kat. nr PRD-03424)  
(1 pudełko z testami, 1 zestaw kalibratorów, 1 zestaw kontroli oraz 1 pudełko z odczynnikami wzmocnienia cząstek szukanych)

Dodatkowe kalibratory i kontrole można zamówić oddzielnie. Poniżej przedstawiono poszczególne numery katalogowe.

#### Pudełko z testami Aptima HBV Quant

(po odbiorze przechowywać w temperaturze od 2°C do 8°C)

Symbol	Element	Liczba sztuk
A	<b>Odczynnik amplifikacji qHBV</b> <i>Liofilizowane, niezakaźne kwasy nukleinowe w roztworze buforowanym.</i>	1 fiolka
E	<b>Odczynnik enzymatyczny qHBV</b> <i>Liofilizowana odwrotna transkryptaza i polimeraza RNA w roztworze buforowanym HEPES.</i>	1 fiolka
PRO	<b>Odczynnik promotora qHBV</b> <i>Liofilizowane, niezakaźne kwasy nukleinowe w roztworze buforowanym.</i>	1 fiolka
AR	<b>Roztwór do przygotowania odczynnika amplifikacji qHBV</b> <i>Wodny roztwór zawierający glicerol i środki konserwujące.</i>	1 x 7,2 mL
ER	<b>Roztwór do przygotowania odczynnika enzymatycznego qHBV</b> <i>Roztwór buforowany HEPES zawierający środek powierzchniowo czynny i glicerol.</i>	1 x 5,8 mL
PROR	<b>Roztwór do przygotowania odczynnika promotora qHBV</b> <i>Wodny roztwór zawierający glicerol i środki konserwujące.</i>	1 x 4,5 mL
TCR	<b>Odczynnik do wychwytywania cząsteczek szukanych qHBV</b> <i>Kwasy nukleinowe w buforowanym roztworze soli z fazą stałą, niezakaźne kwasy nukleinowe i kalibrator wewnętrzny.</i>	1 x 72,0 mL
	<b>Kołnierze do przygotowania odczynników</b>	3
	<b>Karta z kodami kreskowymi partii głównych</b>	1 karta

**Zestaw kalibratorów Aptima HBV Quant** (kat. nr PRD-03425)  
(po odbiorze przechowywać w temperaturze od -15°C do -35°C)

Symbol	Element	Liczba sztuk
PCAL	<b>Kalibrator dodatni qHBV</b> <i>Plazmidowe DNA w roztworze buforowanym</i>	5 x 2,5 mL
	<b>Etykieta z kodem kreskowym kalibratora</b>	—

**Zestaw kontroli Aptima HBV Quant** (kat. nr PRD-03426)  
(po odbiorze przechowywać w temperaturze od -15°C do -35°C)

Symbol	Element	Liczba sztuk
NC	<b>Kontrola ujemna qHBV</b> <i>HBV-ujemne defibrynowane osocze ludzkie zawierające gentamycynę i 0,2% azydku sodu jako środki konserwujące.</i>	5 x 0,8 mL
LPC	<b>Kontrola niskododatnia qHBV</b> <i>Metabolizowane osocze HBV-dodatnie w defibrynowanym osoczu ludzkim zawierającym gentamycynę i 0,2% azydku sodu jako środki konserwujące.</i>	5 x 0,8 mL
HPC	<b>Kontrola wysokodatnia qHBV</b> <i>Metabolizowane osocze HBV-dodatnie w defibrynowanym osoczu ludzkim zawierającym gentamycynę i 0,2% azydku sodu jako środki konserwujące.</i>	5 x 0,8 mL
	<b>Etykieta z kodem kreskowym kontroli</b>	—

**Pudełko z odczynnikiem wzmocnienia cząstek szukanych Aptima HBV Quant**  
(po odbiorze przechowywać w temperaturze od 15°C do 30°C)

Symbol	Element	Liczba sztuk
TER	<b>Odczynnik wzmocnienia cząstek szukanych qHBV</b> <i>Stężony roztwór wodorotlenku litu</i>	1 x 46,0 mL

**Materiały wymagane, ale dostępne osobno**

**Uwaga:** Materiały dostarczane przez Hologic są zaopatrzone w numery katalogowe, chyba że podano inaczej.

<b>Materiał</b>	<b>Kat. Nr</b>
Panther System	—
Zestaw wstępny Panther do testów w czasie rzeczywistym (tylko do testów w czasie rzeczywistym)	PRD-03455 (5000 testów)
<i>Zestaw płynów do testu Aptima (znany także jako zestaw uniwersalnych płynów) zawiera roztwór do płukania Aptima, bufor do płynu dezaktywującego Aptima oraz odczynnik olejowy Aptima</i>	303014 (1000 testów)
<i>Zestawy wieloprobówkowe (MTU)</i>	104772-02
<i>Zestaw torby na odpady Panther</i>	902731
<i>Ośłona pojemnika na odpady Panther</i>	504405
Albo zestaw wstępny do aparatu Panther System <i>(w przypadku wykonywania testów TMA nie w czasie rzeczywistym równoległe z testami TMA w czasie rzeczywistym) zawiera MTU, torby na odpady, osłony pojemników na odpady, płyny Auto Detect i płyny do testu</i>	303096 (5000 testów)
Końcówki, 1000 µL, przewodzące, z detekcją cieczy	10612513 (Tecan)
Wybielacz, roztwór podchlorynu sodu w stężeniu od 5% do 7% (od 0,7 M do 1,0 M)	—
Rękawiczki jednorazowe, bezpudrowe	—
Zakrętki zamienne na odczynniki	
<i>Butelki do przygotowania odczynników amplifikacji, enzymatycznego i promotora</i>	CL0041 (100 zakrętek)
<i>Butelka TCR</i>	CL0040 (100 zakrętek)
<i>Butelka TER</i>	501604 (100 zakrętek)
Wzmocnione plastikiem osłony stołu laboratoryjnego	—
Ściereczki bezpyłowe	—
Pipetor	—
Końcówki	—
Opcje pierwotnej probówki do pobierania próbek:	
<i>13 mm x 100 mm</i>	—
<i>13 mm x 75 mm</i>	—
<i>16 mm x 100 mm</i>	—
Wirówka	—
Wstrząsarka	—

## Materiały opcjonalne

Materiał	Kat. Nr
Probówki dodatkowe w opcjach:	
12 mm x 75 mm	—
13 mm x 100 mm	—
16 mm x 100 mm	—
<i>Probówki do porcjowania próbek Aptima (SAT) (opakowanie 100 szt.)</i>	503762
Zakrętki probówek transportowych (opakowanie 100 szt.) <i>zakrętka do SAT</i>	504415
Rozcieńczalnik do próbek Aptima	PRD-03003
Zestaw rozcieńczalnika do próbek Aptima <i>zawiera rozcieńczalnik do próbek, 100 SAT i 100 zakrętek</i>	PRD-03478
Pipety transportowe	—
Dostępne komercyjnie panele, na przykład: <i>Panele HBV uzyskane z organizacji Quality Control for Molecular Diagnostics (QCMD)</i>	—
Wymazówki z bawełnianą końcówką	—
Wytrząsarka probówek	—

## Procedura testu w Panther System

**Uwaga:** Dodatkowe informacje na temat procedury przedstawiono w Instrukcji obsługi Panther System.

### A. Przygotowanie obszaru roboczego

- Oczyszczyć powierzchnie robocze, na których będą przygotowywane odczynniki. Przetrzeć powierzchnie robocze roztworem podchlorynu sodu w stężeniu od 2,5% do 3,5% (od 0,35 M do 0,5 M). Roztwór podchlorynu sodu powinien mieć kontakt z powierzchniami przez co najmniej 1 minutę, a następnie należy je spłukać wodą dejonizowaną (DI). Nie wolno dopuszczać do wyschnięcia roztworu podchlorynu sodu. Zakryć powierzchnię stołu czystymi, wzmocnionymi plastikiem, chłonnymi osłonami stołu laboratoryjnego.
- Oczyszczyć odrębną powierzchnię roboczą jako miejsce do przygotowania próbek. Postępować zgodnie z procedurą opisaną powyżej (etap A.1).
- Wyczyścić wszystkie pipety. Postępować zgodnie z procedurą czyszczenia opisaną powyżej (etap A.1).

### B. Przygotowanie kalibratora i kontroli

Przed przystąpieniem do przetwarzania kalibrator i kontrole powinny osiągnąć temperaturę od 15°C do 30°C w sposób opisany poniżej:

- Wyjąć kalibrator i kontrole z miejsca przechowywania (-15°C do -35°C) i umieścić w temperaturze 15°C do 30°C. Podczas całego procesu rozmrażania delikatnie odwracać każdą probówkę, aby dokładnie wymieszać próbki. Przed użyciem należy upewnić się, że zawartość probówki jest całkowicie rozmrożona.

**Opcja.** Probówki z kalibratorem i kontrolą można umieścić na wytrząsarce do probówek w celu dokładnego wymieszania. Przed użyciem należy upewnić się, że zawartość probówki jest całkowicie rozmrożona.

**Uwaga:** Unikać tworzenia nadmiernej piany podczas odwracania kalibratora i kontroli. Piana negatywnie wpływa na wykrywanie poziomu przez Panther System.

2. Po rozmrożeniu zawartości próbówki osuszyć jej zewnętrzną część czystą, suchą ściereczką jednorazowego użytku.
3. Aby zapobiec kontaminacji, nie należy w tym momencie otwierać próbówek.

C. Przygotowanie odczynników / przygotowanie nowego zestawu

**Uwaga:** Przygotowanie odczynników należy przeprowadzić przed rozpoczęciem jakichkolwiek prac w aparacie Panther System.

1. Aby przygotować odczynnik do wychwywania cząsteczek szukanych (TCR), należy wykonać poniższe czynności:
  - a. Wyjąć TCR z miejsca przechowywania (2°C do 8°C). Sprawdź numer partii na butelce z TCR, aby upewnić się, że zgadza się on z numerem partii na Karcie kodów kreskowych głównej partii.
  - b. Natychmiast 10 razy energicznie wstrząsnąć butelką TCR. Pozostawić butelkę TCR w temperaturze od 15°C do 30°C do ogrzania przez co najmniej 45 minut. W tym czasie należy odwirować i odwrócić butelkę TCR co najmniej co 10 minut.

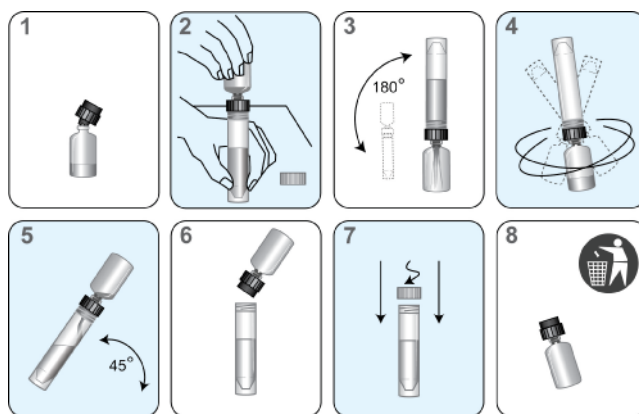
**Opcja.** Butelkę TCR można przygotować na wytrząsarce próbówek, postępując zgodnie z poniższymi instrukcjami: Wyjąć TCR z miejsca przechowywania (2°C do 8°C) oraz natychmiast energicznie wstrząsnąć 10 razy. Umieścić butelkę TCR na wytrząsarce próbówek i pozostawić TCR w temperaturze 15°C do 30°C do ogrzania przez co najmniej 45 minut.

- c. Przed użyciem należy upewnić się, że cały osad znajduje się w roztworze, a cząstki magnetyczne są zawieszone.
2. W celu odtworzenia odczynników amplifikacji, enzymatycznych i promotorów należy wykonać następujące czynności:
  - a. Wyjąć liofilizowane odczynniki i odpowiednie roztwory do przygotowania z miejsca przechowywania (2°C do 8°C). Dopasować odpowiedni roztwór do każdego liofilizowanego odczynnika.
  - b. Upewnić się, że roztwór do przygotowania i liofilizowany odczynnik mają etykiety w tym samym kolorze. Sprawdzić numery partii na karcie z kodami kreskowymi partii głównych, aby mieć pewność, że połączono odpowiednie odczynniki.
    - i. Otworzyć fiolkę z liofilizowanym odczynnikiem, zdejmując metalową uszczelkę i gumowy korek.
    - ii. Mocno włożyć karbowany koniec kołnierza do przygotowania odczynników (czarnego) na fiolkę (Rysunek 5, etap 1).
    - iii. Otworzyć buteleczkę zawierającą odpowiedni roztwór do przygotowania i odłożyć zakrętkę na czystą, przykrytą powierzchnię roboczą.
    - iv. Umieścić butelkę z roztworem do przygotowania na stabilnej powierzchni (np. na stole). Następnie odwrócić fiolkę z liofilizowanym odczynnikiem nad butelką z roztworem do przygotowania i mocno przymocować kołnierz do butelki z roztworem do przygotowania (Rysunek 5, etap 2).
    - v. Powoli odwrócić połączone butelki (fiolka dołączona do butelki z roztworem), aby umożliwić spływanie roztworu do szklanej fiołki (Rysunek 5, etap 3).
    - vi. Podnieść połączone butelki i odwirować je przez co najmniej 10 sekund (Rysunek 5, etap 4).



- vii. Odczekać co najmniej 30 minut, aby liofilizowany odczynnik przeszedł do roztworu.
- viii. Po przejściu liofilizowanego odczynnika do roztworu odwirować połączone butelki przez co najmniej 10 sekund, a następnie lekko wstrząsać roztworem w szklanej fiolce w przód i w tył w celu dokładnego wymieszania.
- c. Ponownie powoli przechylić połączone butelki, aby umożliwić spłynięcie całego roztworu z powrotem do butelki z roztworem do przygotowywania odczynników (Rysunek 5, etap 5).
- d. Ostrożnie zdjąć kołnierz do przygotowywania i szklaną fiolkę (Rysunek 5, etap 6).
- e. Nałożyć zakrętkę na buteleczkę. Na etykiecie wpisać inicjały operatora i datę przygotowania odczynników (Rysunek 5, etap 7).
- f. Wyrzucić kołnierz do przygotowania odczynników i szklaną fiolkę (Rysunek 5, etap 8).

**Ostrzeżenie:** Unikać tworzenia nadmiernej piany podczas przygotowywania odczynników. Piana negatywnie wpływa na wykrywanie poziomu przez Panther System.



**Rysunek 5. Proces przygotowania odczynników**

- 3. Wyjąć odczynnik wzmocnienia cząstek szukanых qHBV z miejsca przechowywania (15°C do 30°C). Na etykiecie wpisać inicjały operatora i datę otwarcia. Sprawdzić numer partii na butelce TER, aby upewnić się, że zgadza się z numerem partii na Karcie kodów kreskowych głównej partii.
- D. Przygotowanie odczynników dla odczynników przygotowanych wcześniej
- 1. Wyjąć wcześniej przygotowane odczynniki z miejsca przechowywania (2°C do 8°C). Przed rozpoczęciem testu uprzednio przygotowane odczynniki amplifikacji, enzymatyczny, promotora i TCR muszą osiągnąć temperaturę pokojową od 15°C do 30°C.
  - 2. Wyjąć TER z miejsca przechowywania (15°C do 30°C).
  - 3. W przypadku wcześniej przygotowanego TCR, przed załadowaniem do systemu należy wykonać etap C.1 powyżej.
  - 4. Odwirować i odwrócić odczynniki amplifikacji, enzymatyczny i promotora, aby dokładnie wymieszać przed załadowaniem do systemu. Unikać tworzenia nadmiernej piany podczas odwracania odczynników.
  - 5. Nie wolno dopełniać butelek z odczynnikami. Panther System rozpozna butelki po dopełnieniu i odrzuci je.

## E. Obchodzenie się z próbkami

1. Należy upewnić się, że przetworzone próbki w probówkach pierwotnych lub nierozcieńczone próbki w probówkach dodatkowych były odpowiednio przechowywane, zgodnie z „Pobieranie i przechowywanie próbek” na stronie 8.
2. Upewnić się, że zamrożone próbki są dokładnie rozmrożone. Rozmrożone próbki należy wirować przez 3 do 5 sekund w celu dokładnego wymieszania.
3. Przed rozpoczęciem obróbki próbki powinny osiągnąć temperaturę od 15°C do 30°C. Dodatkowe informacje dotyczące systemu znajdują się w *Próbki w Panther System*.
4. Należy upewnić się, że każda pierwotna probówka do pobierania próbek zawiera do 1200 µL próbki lub każdy SAT zawiera co najmniej 700 µL próbki. W tabeli znajdującej się w sekcji *Pobieranie próbek* na stronie 8 określono wymagania dotyczące objętości martwej dla każdego typu probówki pierwotnej i dodatkowej. Jeśli konieczne jest rozcieńczenie próbki, patrz etap E.6 poniżej, aby uzyskać więcej informacji.
5. Tuż przed umieszczeniem próbek w statywie na próbki, odwirować każdą próbkę przy 1000-3000g przez 10 minut. Nie zdejmować zakrętek. Pęcherzyki powietrza w probówce mogą wpłynąć negatywnie na wykrywanie poziomu przez Panther System. Zobacz *Przygotowanie systemu*, etap F.2 poniżej, aby uzyskać informacje dotyczące ładowania statywu i zdjęcia zakrętki.
6. Rozcieńczyć próbkę w stosunku 1:3 w SAT lub 1:100 w probówce dodatkowej. Próbka może zostać rozcieńczona w probówce dodatkowej w celu wykonania testu w Panther System.

**Uwaga:** *Jeżeli próbka zostanie rozcieńczona, musi zostać zbadana natychmiast po rozcieńczeniu.*

## a. Rozcieńczanie próbek o małej objętości

Objętość próbek może zostać zwiększona do minimalnej wymaganej objętości (700 µL) przy użyciu rozcieńczalnika do próbek Aptima. próbki o objętości co najmniej 240 µL można rozcieńczyć w dwóch częściach rozcieńczalnika do próbek (1:3) w następujący sposób:

- i. Umieścić 240 µL próbki w SAT.
- ii. Dodać 480 µL rozcieńczalnika do próbek Aptima.
- iii. Zakręcić probówkę.
- iv. Delikatnie odwrócić 5 razy, aby wymieszać.

Próbki rozcieńczone w stosunku 1:3 mogą być badane przy użyciu opcji 1:3 Panther System (więcej informacji na ten temat znajduje się w *Instrukcji obsługi Panther System*). Oprogramowanie automatycznie poda dokładny wynik po zastosowaniu współczynnika rozcieńczenia. Próbki te zostaną oznaczone jako próbki rozcieńczone.

## b. Rozcieńczanie próbek o wysokim mianie

Jeżeli wynik próbki jest powyżej górnej granicy oznaczalności (ULoQ), można ją rozcieńczyć 99 częściami rozcieńczalnika do próbek Aptima (1:100) w następujący sposób:

- i. Umieścić 30 µL próbki w SAT lub w probówce dodatkowej.
- ii. Dodać 2970 µL rozcieńczalnika do próbek Aptima.
- iii. Zakręcić probówkę.
- iv. Delikatnie odwrócić 5 razy, aby wymieszać.

Próbki rozcieńczone w stosunku 1:100 mogą być badane przy użyciu opcji 1:100 Panther System (więcej informacji na ten temat znajduje się w *Instrukcji obsługi Panther System*). Oprogramowanie automatycznie poda dokładny wynik po zastosowaniu współczynnika rozcieńczenia. Próbki te zostaną oznaczone jako próbki rozcieńczone.

**Uwaga:** W przypadku rozcieńczonych próbek o stężeniach czystych większych niż ULoQ, wyniki będą podawane w notacji naukowej.

#### F. Przygotowanie systemu

1. Skonfigurować system zgodnie z instrukcjami, które zawiera *Instrukcja obsługi Panther System* i „*Uwagi dotyczące procedury*”. Sprawdzić, czy stosowane są statywy na odczynniki o odpowiedniej wielkości oraz adaptery TCR.
2. Załadowanie próbek do statywów na próbki. Wykonać następujące czynności dla każdej probówki z próbką (próbka oraz, jeśli to konieczne, kalibrator i kontrole):
  - a. Poluzować jedną zakrętkę probówki, ale jeszcze jej nie zdejmować.

**Uwaga:** Zachować szczególną ostrożność, aby uniknąć kontaminacji poprzez rozprzestrzenienie się aerozolu. Delikatnie poluzować zakrętki na próbkach.

- b. Załadować probówki z próbkami do statywów na próbki.
- c. Powtórzyć etapy 2.a i 2.b dla każdej pozostałej próbki.
- d. Po załadowaniu próbek do statywu na próbki, zdjąć i wyrzucić każdą zakrętkę probówki z próbką z jednego statywu na próbki. Aby uniknąć kontaminacji, nie przenosić zakrętki nad innymi statywami na próbki lub probówkami na próbki.
- e. W razie potrzeby użyć nowej, jednorazowej pipety do usuwania pęcherzyków powietrza lub piany.
- f. Po zdjęciu ostatniej zakrętki, załadować statyw z próbkami do wnęki na próbki.

**Uwaga:** Jeśli jednocześnie przeprowadzane są inne testy i typy próbek, należy zabezpieczyć mocowniki próbek przed załadowaniem statywu na próbki do wnęki na próbki.

- g. Potworzyć etapy 2.a do 2.f dla kolejnego statywu na próbki.

### Uwagi dotyczące procedury

#### A. Kalibrator i kontrole

1. Probówki z kalibratorem dodatnim qHBV, kontrolą niskododatnią qHBV, kontrolą wysokododatnią qHBV i kontrolą ujemną qHBV można umieścić na dowolnej pozycji w statywie na próbki i w dowolnym torze wnęki na próbki w Panther System. Pipetowanie próbek pobranych od pacjentów rozpocznie się po spełnieniu jednego z dwóch następujących warunków:
  - a. Kalibrator i kontrole są w trakcie przetwarzania przez system.
  - b. Zarejestrowano w systemie ważne wyniki dla kalibratora i kontroli.
2. Po odpipetowaniu probówek z kalibratorem i kontrolami oraz obróbce pod kątem zestawu odczynników analitycznych Aptima HBV Quant Dx próbki można badać powiązany, przygotowanym zestawem w okresie do 24 godzin, **o ile nie wystąpiły następujące sytuacje:**
  - a. Wyniki kalibratora lub kontroli są nieważne.
  - b. Usunięto z systemu powiązany zestaw odczynników analitycznych.

- c. Przekroczono granice stabilności powiązanego zestawu odczynników analitycznych.
  - 3. Kalibrator i każda próbka kontrolna mogą być użyte tylko raz. Próby użycia próbki więcej niż jeden raz mogą prowadzić do błędów przetwarzania.
- B. Puder z rękawiczek
- Podobnie jak w przypadku każdego systemu odczynników, nadmiar pudru na niektórych rękawiczkach może spowodować kontaminację otwartych próbek. Zaleca się stosować rękawiczki bezpudrowe.

## **Kontrola jakości**

Operator może unieważnić wyniki serii lub próbki w przypadku zaobserwowania i udokumentowania problemów technicznych, związanych z operatorem lub aparatem w trakcie testu. W takim przypadku próbki należy ponownie przebadać.

### **Kalibracja testu**

Aby wygenerować ważne wyniki, należy wykonać kalibrację testu. Pojedynczy kalibrator dodatni jest wykonywany w trzech seriach za każdym razem, gdy do Panther System ładowany jest zestaw odczynników. Raz ustalona kalibracja jest ważna przez okres do 24 godzin. Oprogramowanie Panther System alarmuje operatora, gdy wymagana jest kalibracja. Operator skanuje współczynnik kalibracji znajdujący się na arkuszu kodów kreskowych partii głównej dostarczonym z każdym zestawem odczynników.

Podczas przetwarzania kryteria akceptacji kalibratora są automatycznie weryfikowane przez Panther System. Jeśli ważny jest wynik mniej niż dwóch replikatów kalibratora, oprogramowanie automatycznie unieważnia badanie. Próbki w unieważnionej serii muszą być ponownie przebadane przy użyciu świeżo przygotowanego kalibratora i świeżo przygotowanych kontroli.

### **Kontrole ujemne i dodatnie**

Aby wygenerować ważne wyniki, należy przetestować zestaw kontroli testu. Należy przetestować jeden replikat kontroli ujemnej, kontroli niskododatniej i kontroli wysokododatniej za każdym razem, gdy do Panther System ładowany jest zestaw odczynników. Raz ustalone kontrole są ważne przez okres do 24 godzin. Oprogramowanie Panther System alarmuje operatora, gdy wymagane są kontrole.

Podczas przetwarzania kryteria akceptacji kontroli są automatycznie weryfikowane przez Panther System. Aby wygenerować ważne wyniki, kontrola ujemna musi dawać wynik „Nie wykryto”, a kontrole dodatnie muszą dawać wyniki mieszczące się we wcześniej zdefiniowanych parametrach (Nominalna ilość cząstek szukanych LPC: 2,7 Log<sub>10</sub> j.m./mL, Nominalna ilość cząstek szukanych HPC: 4,6 Log<sub>10</sub> j.m./mL). Jeśli którakolwiek z kontroli ma nieważny wynik, oprogramowanie automatycznie unieważnia badanie. Próbki w unieważnionej serii muszą być ponownie przebadane przy użyciu świeżo przygotowanego kalibratora i świeżo przygotowanych kontroli.

### **Kalibrator wewnętrzny / kontrola wewnętrzna**

Każda próbka zawiera wewnętrzny kalibrator / kontrolę wewnętrzną (IC). W trakcie przetwarzania kryteria akceptacji IC są automatycznie weryfikowane przez oprogramowanie Panther System. Jeżeli wynik IC jest nieważny, wynik próbki jest unieważniony. Każda próbka z nieważnym wynikiem IC musi zostać ponownie przebadana w celu uzyskania ważnego wyniku.

Oprogramowanie Panther System zostało zaprojektowane w celu dokładnej weryfikacji procesów, gdy procedury są wykonywane zgodnie z instrukcjami zawartymi w niniejszej ulotce dołączonej do opakowania oraz *Instrukcją obsługi Panther System*.

## Interpretacja wyników

Panther System automatycznie określa stężenie DNA wirusa HBV dla próbek i kontroli poprzez porównanie wyników z krzywą kalibracyjną. Stężenia DNA wirusa HBV podawane są w j.m./mL i  $\log_{10}$  j.m./mL. Interpretacja wyników przedstawiona jest w Tabeli 1. Jeżeli opcja rozcieńczenia jest stosowana dla rozcieńczonych próbek, Panther System automatycznie oblicza stężenie wirusa HBV dla czystej próbki poprzez pomnożenie rozcieńczonego stężenia przez współczynnik rozcieńczenia, a rozcieńczone próbki zostaną oznaczone jako rozcieńczone.

**Uwaga:** W przypadku rozcieńczonych próbek, wyniki oznaczone jako „Nie wykryto” lub „wykryto < 10” mogą być generowane przez rozcieńczenie próbki o stężeniu powyżej, ale blisko LoD (granicy wykrywalności) lub LLoQ (dolnej granicy oznaczalności). Zaleca się pobranie i przebadanie innej czystej próbki, jeśli nie uzyskano wyniku ilościowego.

Tabela 1: Interpretacja wyniku

Zgłoszony wynik testu Aptima HBV Quant		Interpretacja
j.m./mL	Wartość $\log_{10}$ <sup>a</sup>	
Nie wykryto	Nie wykryto	Nie wykryto DNA wirusa HBV.
Wykryto < 10	< 1,0	Wykryto DNA wirusa HBV, ale poziom poniżej LLoQ
od 10 do 1 000 000 000	od 1,0 do 9,0	Stężenie DNA wirusa HBV mieści się w zakresie liniowym od 10 do 1 000 000 000 j.m./mL
> 1 000 000 000	> 9,0	Stężenie DNA wirusa HBV jest powyżej ULoQ
Nieważny <sup>b</sup>	Nieważny <sup>b</sup>	Wystąpił błąd w czasie tworzenia wyniku. Należy ponownie przetestować próbki

<sup>a</sup>Wartość jest obcięta do dwóch miejsc po przecinku.

<sup>b</sup>Nieważne wyniki są wyświetlane niebieską czcionką.

**Uwaga:** W przypadku rozcieńczonych próbek o stężeniach czystych większych niż ULoQ, wyniki będą podawane w notacji naukowej.

## Ograniczenia

- Niniejszy test powinien być wykonywany wyłącznie przez osoby przeszkolone w zakresie procedury testowej. Nieprzestrzeganie instrukcji przedstawionych w niniejszej ulotce załączonej do opakowania może spowodować uzyskanie błędnych wyników.
- Wiarygodne wyniki zależą od właściwego pobrania próbek, ich transportu, przechowywania i przetwarzania.
- Choć rzadko, mutacje w wysoce konserwatywnych regionach genomu wirusowego objętych starterami i/lub sondami w teście Aptima HBV Quant mogą powodować zaniżenie ilości lub niewykrycie wirusa.

**Skuteczność****Granica wykrywalności przy zastosowaniu 3. Międzynarodowego Standardu WHO**

Granica wykrywalności (LoD) testu jest definiowana jako stężenie DNA wirusa HBV, które jest wykrywane z 95% lub większym prawdopodobieństwem zgodnie z CLSI EP17-A2.<sup>12</sup>

LoD określono poprzez badanie paneli 3. Międzynarodowego Standardu WHO dla DNA wirusa zapalenia wątroby typu B (NIBSC 10/264) rozcieńczonego w osoczu i surowicy ludzkiej HBV-ujemnej. Zbadano co najmniej 36 replikatów każdego rozcieńczenia z każdą z trzech partii odczynników, co daje co najmniej 108 replikatów na rozcieńczenie.

Przeprowadzono analizę probitową w celu wygenerowania przewidywanych granic wykrywalności. Wartości LoD przedstawione w Tabeli 2 to wyniki z partii odczynnika o najwyższej przewidywanej granicy wykrywalności. LoD dla testu Aptima HBV Quant wykorzystującego 3. Międzynarodowy Standard WHO wynosi 5,58 j.m./mL dla osocza i 4,29 j.m./mL dla surowicy.

Tabela 2: Granica wykrywalności przy zastosowaniu 3. Międzynarodowego Standardu WHO dla HBV

Przewidywana granica wykrywalności	Stężenie (j.m./mL)	
	Osocze	Surowica
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

### Granica wykrywalności dla różnych genotypów HBV

LoD została określona poprzez badanie rozcieńczeń próbek klinicznych HBV-dodatnich dla genotypów A, B, C, D, E, F, G i H w ludzkim osoczu i surowicy ujemnych pod względem HBV. Stężenia oznaczono przy użyciu testu porównawczego posiadającego znak CE i licencję Health Canada. Przebadano co najmniej 24 replikaty każdego elementu panelu przy użyciu każdej z dwóch serii odczynników, co daje co najmniej 48 replikatów dla każdego elementu panelu. Przeprowadzono analizę probitową w celu wygenerowania przewidywanych granic wykrywalności 50% i 95%. Wartości LoD przedstawione w Tabeli 3 to wyniki z partii odczynnika o najwyższej przewidywanej granicy wykrywalności.

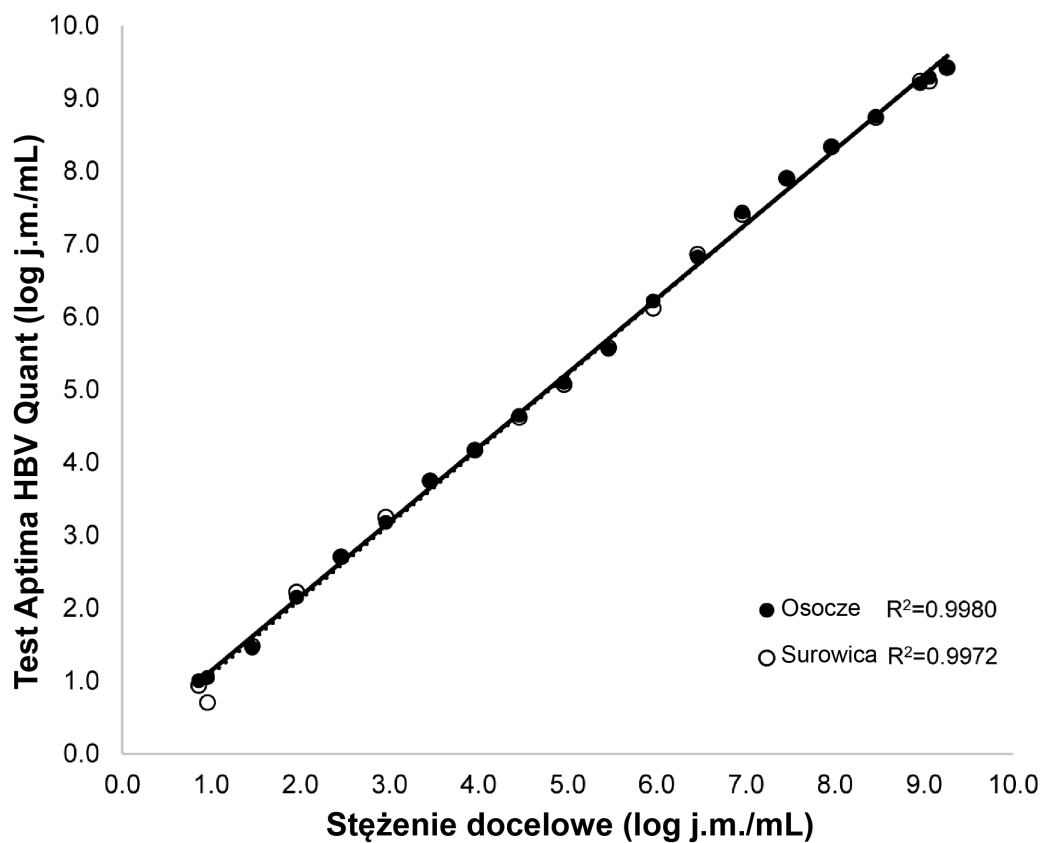
Tabela 3: Granica wykrywalności dla różnych genotypów HBV przy użyciu próbek klinicznych

Genotyp	Przewidywana granica wykrywalności	Stężenie (j.m./mL)	
		Osocze	Surowica
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



### Zakres liniowy

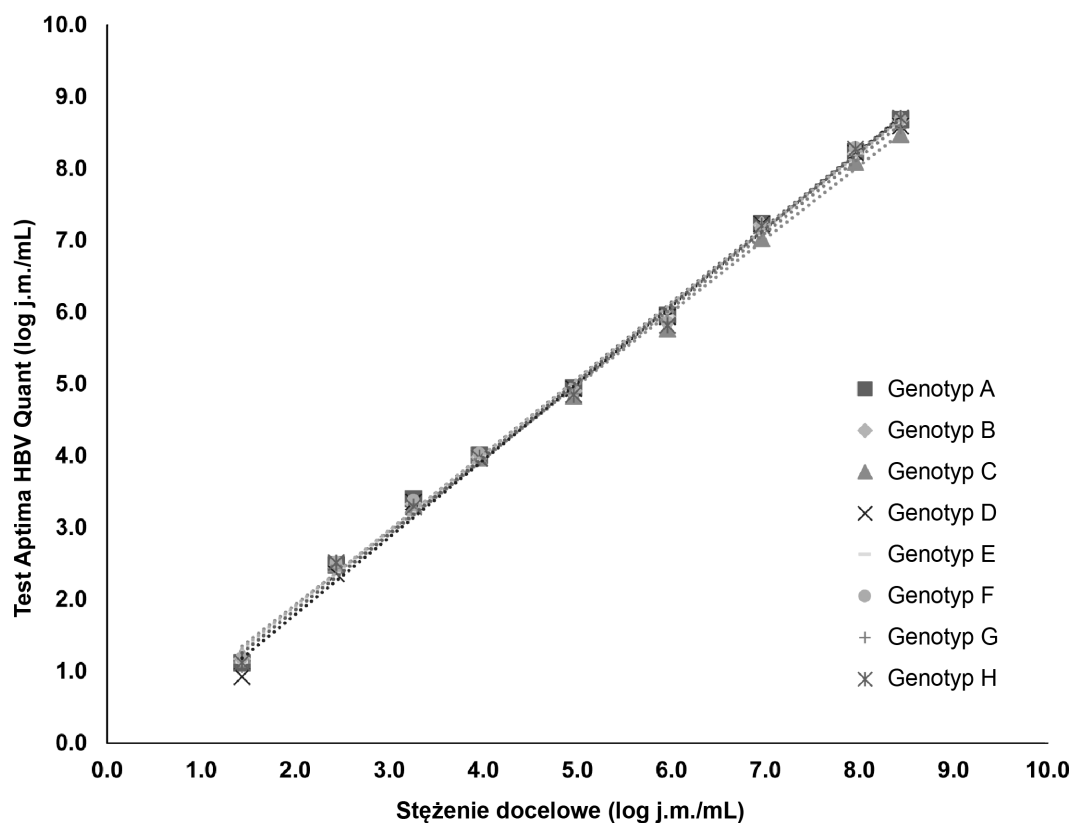
Zakres liniowy został ustalony poprzez badanie paneli DNA wirusa HBV rozcieńczonego w HBV-ujemnym ludzkim osoczu i surowicy zgodnie z CLSI EP06-A.<sup>13</sup> Panele miały stężenie od 0,86 log j.m./mL do 9,26 log j.m./mL. Test Aptima HBV Quant wykazał liniowość w całym badanym zakresie, z górną granicą oznaczalności (ULoQ) wynoszącą 9 log j.m./mL, jak pokazano na Rysunek 6.



Rysunek 6. Liniowość w osoczu i surowicy

### Liniowość według genotypów HBV

Odpowiedź liniowa dla genotypów A, B, C, D, E, F, G i H została potwierdzona przez badanie paneli DNA wirusa HBV rozcieńczonego w buforze w stężeniach od 1,44 log j.m./mL do 8,44 log j.m./mL. Liniowość została wykazana w całym badanym zakresie dla wszystkich badanych genotypów, jak pokazano na Rysunek 7.



Rysunek 7. Liniowość dla genotypów HBV od A do H

### Dolna granica oznaczalności przy zastosowaniu 3. Międzynarodowego Standardu WHO

Dolna granica oznaczalności (LLoQ) jest definiowana jako najniższe stężenie, przy którym DNA wirusa HBV jest wiarygodnie oznaczane ilościowo w ramach błędu całkowitego (TE), zgodnie z CLSI EP17-A2.<sup>12</sup> Błąd całkowity oszacowano dwiema metodami: Całkowity błąd analityczny (TAE) = |obciążenie| + 2SD, a Całkowity błąd (TE) = SQRT(2) x 2SD. Aby zapewnić dokładność i precyzję pomiarów, błąd całkowity testu Aptima HBV Quant został ustalony na poziomie 1 log j.m./mL (tj. w LLoQ różnica między dwoma pomiarami większa niż 1 log j.m./mL jest statystycznie istotna).

LLoQ określono poprzez badanie paneli 3. Międzynarodowego Standardu WHO dla DNA wirusa zapalenia wątroby typu B (NIBSC 10/264)<sup>14</sup> rozcieńczonego w osoczu i surowicy ludzkiej HBV-ujemnej. Zbadano co najmniej 45 replikatów każdego rozcieńczenia z każdą z trzech partii odczynników, co daje co najmniej 135 replikatów na rozcieńczenie. Wyniki z partii odczynnika o najwyższym stężeniu spełniającym wymagania TE i TAE przedstawiono w Tabeli 6. Obliczone LLoQ dla 3. Międzynarodowego Standardu WHO dla wirusa zapalenia wątroby typu B wynosi 4,80 j.m./mL dla osocza i 6,34 j.m./mL dla surowicy.

Tabela 4: Oznaczenie LLoQ przy zastosowaniu 3. Międzynarodowego Standardu WHO dla HBV rozcieńczonego w osoczu

Partia odczynników	Stężenie docelowe		Aptima HBV Quant	SD	Obciążenie	Obliczone TE	Obliczone TAE
	(j.m./mL)	(log j.m./mL)	(log j.m./mL)	(log j.m./mL)	(log j.m./mL)	(log j.m./mL)	(log j.m./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 = odchylenie standardowe

Tabela 5: Oznaczenie LLoQ przy zastosowaniu 3. Międzynarodowego Standardu WHO dla HBV rozcieńczonego w surowicy

Partia odczynników	Stężenie docelowe		Aptima HBV Quant	SD	Obciążenie	Obliczone TE	Obliczone TAE
	(j.m./mL)	(log j.m./mL)	(log j.m./mL)	(log j.m./mL)	(log j.m./mL)	(log j.m./mL)	(log j.m./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 = odchylenie standardowe

Tabela 6: Podsumowanie obliczonej LLoQ przy zastosowaniu 3. Międzynarodowego Standardu WHO dla HBV

Partia odczynników	LLoQ osocza		LLoQ surowicy	
	(log j.m./mL)	(j.m./mL)	(log j.m./mL)	(j.m./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 = odchylenie standardowe

### Określenie dolnej granicy oznaczalności dla różnych genotypów HBV

LLoQ określono poprzez badanie rozcieńczeń próbek klinicznych HBV-dodatnich dla genotypów A, B, C, D, E, F, G i H w ludzkim osoczu i surowicy ujemnych pod kątem HBV. Przebadano co najmniej 36 replikaty każdego elementu panelu przy użyciu każdej z dwóch serii odczynników, co daje co najmniej 72 replikatów dla każdego elementu panelu. Wyniki z partii odczynnika o najwyższym stężeniu spełniającym wymagania TE i TAE przedstawiono w Tabeli 7 dla osocza i Tabeli 8 dla surowicy. Obliczone LLoQ dla genotypów A, B, C, D, E, F, G i H w osoczu i surowicy są podsumowane w Tabeli 9. Ustaliło to ogólną wartość LLoQ dla testu na 10 j.m./mL.

Tabela 7: Określenie LLoQ w osoczu w zależności od genotypu

Genotyp	Stężenie docelowe		Aptima HBV Quant	SD	Obciążenie	Obliczony TE	Obliczone TAE
	(j.m./mL)	(log j.m./mL)	(log j.m./mL)	(log j.m./mL)	(log j.m./mL)	(log j.m./mL)	(log j.m./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 = odchylenie standardowe

Tabela 8: Określenie LLoQ w surowicy w zależności od genotypu

Genotyp	Aptima						Obliczone TAE (log j.m./mL)
	Stężenie docelowe (j.m./mL)	Stężenie docelowe (log j.m./mL)	HBV Quant (log j.m./mL)	SD (log j.m./mL)	Obciążenie  (log j.m./mL)	Obliczony TE (log j.m./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 = odchylenie standardowe

Tabela 9: Podsumowanie LLoQ w osoczu i surowicy w zależności od genotypu

Genotyp	LLoQ osocza		LLoQ surowicy	
	(log j.m./mL)	(j.m./mL)	(log j.m./mL)	(j.m./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

## Odtwarzalność

Aby ocenić odtwarzalność, utworzono 28-elementowy panel poprzez rozcieńczenie próbek klinicznych HBV-dodatnich (genotyp A i C) lub dodanie DNA wirusa HBV (genotyp A i C) do osocza i surowicy HBV-ujemnych. Panel był testowany przez trzech operatorów przy użyciu trzech partii odczynników na trzech aparatach Panther System w ciągu 20 lub więcej dni testowych.

Tabela 10 i Tabela 11 przedstawiają odtwarzalność wyników oznaczeń (w log j.m./mL) pomiędzy urządzeniami, pomiędzy operatorami, pomiędzy partiami, pomiędzy seriami, w obrębie serii i ogólnie. Całkowita zmienność wynikała głównie ze zmienności w ramach serii (tj. błędu losowego).

Tabela 10: Odtwarzalność testu Aptima HBV Quant dla genotypu A

Matryca	N	Średnie stężenie (log j.m./mL)	Pomiędzy operatorami		Pomiędzy urządzeniami		Pomiędzy partiami		Pomiędzy seriami		W ramach serii		Ogółem	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Osocze	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
Osocze	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
Osocze	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
Osocze	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
Osocze	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
Osocze	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
Osocze	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
Surowica	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
Surowica	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
Surowica	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
Surowica	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
Surowica	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
Surowica	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
Surowica	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 = współczynnik zmienności, SD = odchylenie standardowe

**Uwaga:** Zmienność w przypadku niektórych czynników może być liczbowo ujemna, co może mieć miejsce jeśli zmienność w wyniku tych czynników jest bardzo niska. W takich przypadkach wartości SD i CV przedstawiono jako 0.

Tabela 11: Odtwarzalność testu Aptima HBV Quant dla genotypu C

Matryca	N	Średnie stężenie (log j.m./mL)	Pomiędzy operatorami		Pomiędzy urządzeniami		Pomiędzy partiami		Pomiędzy seriami		W ramach serii		Ogółem	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Osocze	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
Osocze	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
Osocze	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
Osocze	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
Osocze	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
Osocze	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
Osocze	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
Surowica	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
Surowica	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
Surowica	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
Surowica	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
Surowica	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
Surowica	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
Surowica	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 = współczynnik zmienności, SD = odchylenie standardowe

**Uwaga:** Zmienność w przypadku niektórych czynników może być liczbowo ujemna, co może mieć miejsce jeśli zmienność w wyniku tych czynników jest bardzo niska. W takich przypadkach wartości SD i CV przedstawiono jako 0.

### Potencjalne substancje zakłócające

Oceniono podatność testu Aptima HBV Quant na zakłócenia spowodowane podwyższonym poziomem substancji endogennych lub lekami powszechnie przepisywanymi osobom zakażonym wirusem HBV. Badano próbki osocza ujemne w kierunku HBV oraz próbki z domieszką HBV do stężenia 4,3 log j.m./mL DNA wirusa HBV.

Nie zaobserwowano zakłóceń w wynikach testu w obecności albuminy (90 mg/mL), hemoglobiny (5 mg/mL), trójglicerydów (30 mg/mL) lub niezwiązanej bilirubiny (0,2 mg/mL).

Próbki osocza pobrane od pacjentów z podwyższonym poziomem zdefiniowanych substancji lub od pacjentów z chorobami wymienionymi w Tabeli 12 zostały przebadane przy użyciu testu Aptima HBV Quant. Nie zaobserwowano żadnych zakłóceń w przeprowadzaniu testu.

Tabela 12: Badane typy próbek klinicznych

Typy próbek klinicznych	
1	Przeciwciała przeciwjądrowe (ANA)
2	Czynnik reumatoidalny (RF)
3	Alkoholowa marskość wątroby (AC)
4	Alkoholowe zapalenie wątroby
5	Niealkoholowe zapalenie wątroby
6	Autoimmunologiczne zapalenie wątroby
7	Podwyższona aminotransferaza alaninowa (ALT)
8	Rak wątrobowokomórkowy (HCC)
9	Stwardnienie rozsiane (MS)
10	Toczeń rumieniowaty (SLE)
11	Hiperglobulinemia
12	Reumatoidalne zapalenie stawów (RA)
13	Przeciwciała anty-Jo1 (JO-1)
14	Szpiczak plazmocytowy (MM)
15	Hemoliza (podwyższona hemoglobina)
16	Żółtaczka (podwyższona bilirubina)
17	Lipemia (podwyższony poziom lipidów)
18	Podwyższony poziom białek
19	Przeciwciała HBV (wszczepione)
20	Przeciwciała HCV
21	Przeciwciała HIV-1 i HIV-2



Nie zaobserwowano zakłóceń wyników testu w obecności substancji egzogennych wymienionych w Tabeli 13 w stężeniach co najmniej trzykrotnie większych niż  $C_{max}$  (ludzkie osocze).

Tabela 13: Substancje egzogenne

Pula substancji egzogennych	Badane substancje egzogenne
1	Sakwinawir, rytonawir, amprenawir, indynawir, lopinawir, mesylan nelfinawiru
2	Klarytromycyna, chlorowoderek walgancyklowiru, efawirenz, newirapina
3	Paroksetyna HCl, enfuwirtyd, zydowudyna, didanozyna, siarczan abakawiru
4	Rybawiryne, entekawir, dipiwoksyl adefowiru, fumaran tenofowiru dizoproksylu, lamiwudyna, gancyklowir, acyklowir
5	Stawudyna, cyprofloksacyna, fluoksetyna, azytromycyna, walacyklowir, sertralina, zalcytabina
6	Interferon alfa -2a, interferon alfa -2b, pegylowany interferon alfa-2b

## Swoistość

Swoistość określono na podstawie 292 świeżych i 747 zamrożonych próbek klinicznych ujemnych w kierunku HBV. Łącznie przebadano 521 próbek osocza i 518 próbek surowicy. Swoistość została obliczona jako procent próbek ujemnych w kierunku HBV z wynikami „Nie wykryto”. W 1038 próbkach nie wykryto DNA wirusa HBV. Swoistość wyniosła 99,9% (1038/1039, 95-procentowy przedział ufności: 99,5-100%).

Tabela 14: Swoistość w próbkach klinicznych osocza i surowicy

	Świeże osocze	Zamrożone osocze	Osocze Ogółem	Świeża Surowica	Zamrożona surowica	Surowica Ogółem	Połączone
Ważne replikaty (n)	145	376	521	147	371	518	1 039
Nie wykryto	145	376	521	147	370	517	1 038
<b>Swoistość (95% CI)</b>	100% (97,4-100)	100% (99,0-100)	100% (99,3-100)	100% (97,5-100)	99,7% (98,5-100)	99,8% (98,9-100)	99,9% (99,5-100)

CI = Przedział ufności

**Swoistość analityczna**

Potencjalna reaktywność krzyżowa z patogenami wymienionymi w Tabeli 15 została oceniona w ludzkim HBV-ujemnym osoczu w obecności lub nieobecności 4,3 log j.m./mL DNA wirusa HBV. Nie stwierdzono reaktywności krzyżowej ani zakłóceń w osoczu skażonym bakteriami ani w próbkach pobranych od osób zakażonych innymi patogenami krwiopochodnymi lub osób, które otrzymały szczepionki przeciwko HBV i grypie.

Tabela 15: Patogeny badane pod kątem swoistości analitycznej

Mikroorganizm/patogen	Źródło	Mikroorganizm/patogen	Źródło
Wirus zapalenia wątroby typu C	Próbka kliniczna	Ludzki herpeswirus typu 8	Płyn hodowlany
Wirus zapalenia wątroby typu A	Próbka kliniczna	Wirus japońskiego zapalenia mózgu koni	Płyn otrzewnowy
Zaszczepione przeciwko HBV	Próbka kliniczna	Wirus zapalenia mózgu doliny Murray	Lizat komórkowy
HIV-1 i -2	Próbka kliniczna	Wirus zapalenia mózgu St. Louis	Płyn hodowlany
Ludzki wirus T-limfotropowy typu 1 i 2	Próbka kliniczna	Wirus krowianki	Lizat komórkowy
Parwowirus B19	Próbka kliniczna	Wirus żółtej gorączki	Płyn hodowlany
Cytomegalowirus	Próbka kliniczna	<i>Candida albicans</i>	Hodowla
Wirus dengi typu 1-4	Próbka kliniczna	<i>Chlamydia trachomatis</i>	Hodowla
Wirus Epsteina-Barr	Próbka kliniczna	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	Hodowla
Szczepienie przeciwko grypie	Próbka kliniczna	<i>Mycobacterium gordonae</i>	Hodowla
Ludzki wirus brodawczaka (Papillomavirus)	Próbka kliniczna	<i>Mycobacterium smegmatis</i>	Hodowla
Wirus opryszczki pospolitej typu 1 i 2	Próbka kliniczna	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Hodowla
Wirus różyczki	Próbka kliniczna	<i>Propionibacterium acnes</i>	Hodowla
Wirus ospy wietrznej-półpaśca	Próbka kliniczna	<i>Staphylococcus aureus</i>	Hodowla
Wirus Zachodniego Nilu	Próbka kliniczna	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Hodowla
Ludzki poliomawirus BK	Lizat komórkowy	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Hodowla
Ludzki herpeswirus typu 6B	Płyn hodowlany	<i>Trichomonas vaginalis</i>	Hodowla

### Powtarzalność próbek klinicznych

Powtarzalność oceniano poprzez testowanie trzech replikatów naturalnie zakażonych HBV-dodatnich próbek klinicznych osocza i surowicy. Średnie stężenie i odchylenie standardowe dla badanych próbek osocza i surowicy są przedstawione odpowiednio w Tabeli 16 i 17.

Tabela 16: Powtarzalność próbek klinicznych osocza

Próbka osocza	Średnie stężenie (log j.m./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 = odchylenie standardowe

Tabela 17: Powtarzalność próbek klinicznych surowicy

Próbka surowicy	Średnie stężenie (log j.m./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 = odchylenie standardowe

### Rozcieńczanie próbek przy użyciu rozcieńczalnika do próbek

Aby ocenić odzysk DNA wirusa HBV w próbkach rozcieńczonych rozcieńczalnikiem do próbek Aptima, próbki osocza i surowicy, które obejmowały zakres liniowy, zostały rozcieńczone w stosunku 1:3 rozcieńczalnikiem do próbek Aptima. Dodatkowo, naturalnie zakażone próbki kliniczne o wysokim mianie oraz próbki z domieszką DNA wirusa HBV o stężeniu powyżej ULoQ zostały rozcieńczone w stosunku 1:100 przy użyciu rozcieńczalnika do próbek Aptima. Każda próbka była badana w postaci czystej i rozcieńczonej (1:3 lub 1:100) w trzech replikatach. Różnice między średnim podawanym stężeniem (współczynnik rozcieńczenia zastosowany do wyniku rozcieńczonej próbki) a średnim czystym stężeniem są pokazane w Tabeli 18 dla osocza i Tabeli 19 dla surowicy. Stężenia próbek zostały dokładnie odtworzone w rozcieńczonych próbkach.

Tabela 18: Rozcieńczenie próbek za pomocą rozcieńczalnika do próbek Aptima w osoczu

Rozcieńczenie	Średnie stężenie czyste (log j.m./mL)	Średnie zgłoszone stężenie <sup>a</sup> (log j.m./mL)	Różnica (log j.m./mL)
1:3	2,08	1,71	-0,37
	2,98	3,02	0,04
	2,45	2,30	-0,15
	2,32	2,06	-0,26
	2,58	2,46	-0,12
	3,60	3,62	0,02
	3,45	3,36	-0,09
	3,95	3,91	-0,04
	3,81	3,72	-0,09
	4,26	4,24	-0,02
	5,65	5,50	-0,15
	6,32	6,08	-0,24
	6,79	6,40	-0,39
	7,40	7,06	-0,34
8,17	8,05	-0,12	
1:100	8,17	7,82	-0,35
	> 9,00 <sup>b</sup> (10,20 <sup>c</sup> )	10,40	0,20

<sup>a</sup>Zgłoszone stężenie to wartość obliczona po zastosowaniu współczynnika rozcieńczenia.

<sup>b</sup>Próbka z domieszką.

<sup>c</sup>Docelowa wartość stężenia, która jest wyższa niż ULoQ.

Tabela 19: Rozcieńczenie próbek za pomocą rozcieńczalnika do próbek Aptima w surowicy

Rozcieńczenie	Średnie czyste Stężenie (log j.m./mL)	Średnie zgłoszone stężenie <sup>a</sup> (log j.m./mL)	Różnica (log j.m./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 <sup>b</sup> (10,20 <sup>c</sup> )	10,43	0,23

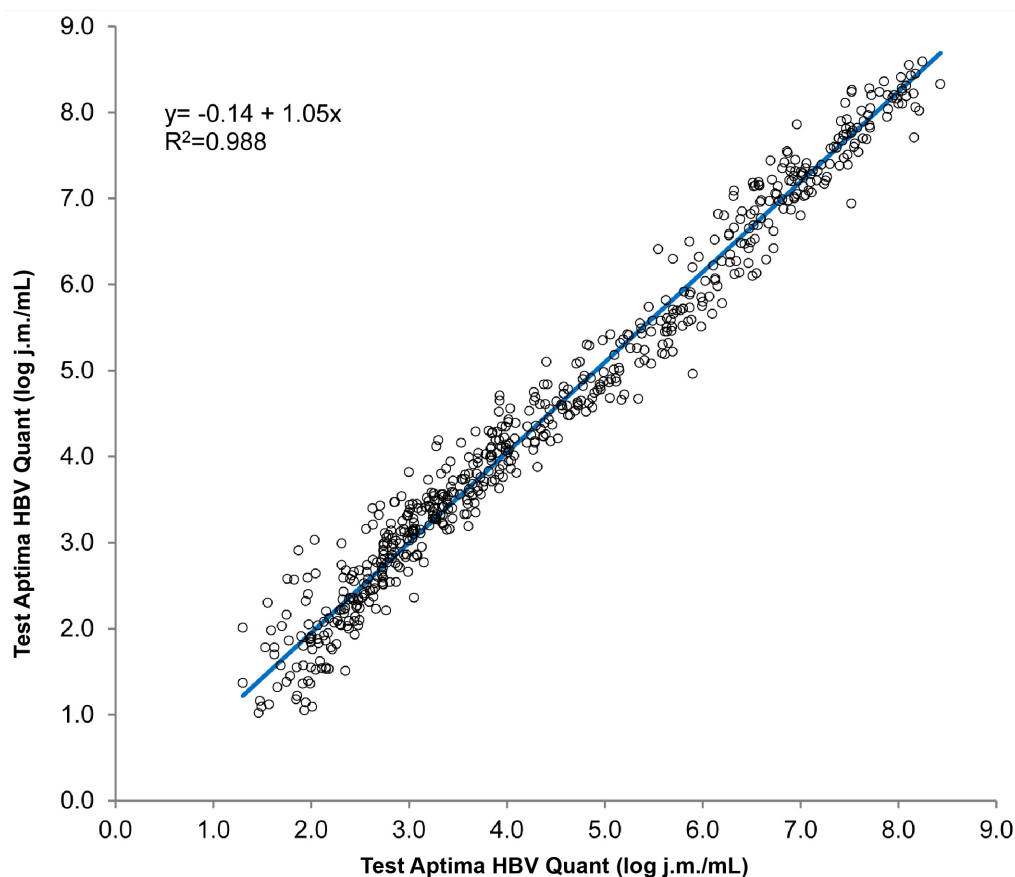
<sup>a</sup>Zgłoszone stężenie to wartość obliczona po zastosowaniu współczynnika rozcieńczenia.

<sup>b</sup>Próbka z domieszką.

<sup>c</sup>Docelowa wartość stężenia, która jest wyższa niż ULoQ.

## Korelacja metod

Skuteczność testu Aptima HBV Quant została oceniona w porównaniu z testem porównawczym posiadającym znak CE i licencję Health Canada poprzez badanie nierozcieńczonych próbek klinicznych od pacjentów zakażonych wirusem HBV. Do regresji liniowej wykorzystano łącznie 614 próbek klinicznych w zakresie liniowym wspólnym dla obu testów, jak pokazano w Rysunek 8.



**Rysunek 8. Korelacja pomiędzy testem Aptima HBV Quant a testem porównawczym**

## Przenoszenie

Aby ustalić, że Panther System minimalizuje ryzyko fałszywie dodatnich wyników wynikających z zanieczyszczenia przez przeniesienie, przeprowadzono badanie z wykorzystaniem paneli z domieszkami na trzech aparatach Panther System. Przenoszenie oceniono przy użyciu próbek osocza z domieszką DNA wirusa HBV o wysokim mianie (8 log j.m./mL), przeplatanych między próbkami ujemnymi w kierunku HBV w szachownicy. Testy przeprowadzono w piętnastu seriach. Ogólny wskaźnik przenoszenia wyniósł 0,0% (0/705).

## Bibliografia

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 maja 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 dokument MM13-A. Wayne, PA.
9. **29 CFR część 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); wersja bieżąca.
11. **Clinical and Laboratory Standards Institute.** 2002. Clinical Laboratory Waste Management. CLSI dokument 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 dokument 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

**Dział obsługi klienta:** +1 800 442 9892  
customersupport@hologic.com

**Wsparcie techniczne:** +1 888 484 4747  
molecularsupport@hologic.com

Więcej informacji kontaktowych zamieszczono na stronie [www.hologic.com](http://www.hologic.com).



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

Hologic, Aptima i Panther są znakami towarowymi i/lub zastrzeżonymi znakami towarowymi firmy Hologic, Inc. i/lub jej spółek zależnych na terenie Stanów Zjednoczonych i/lub innych krajów. Wszystkie inne znaki towarowe, które mogą się pojawić w tej ulotce załączonej do opakowania, należą do ich odpowiednich właścicieli.

Opisywany produkt może być objęty co najmniej jednym patentem USA, przedstawionym na stronie [www.hologic.com/patents](http://www.hologic.com/patents).

© 2016-2020 Hologic, Inc. Wszelkie prawa zastrzeżone.  
AW-13182-3401 Wer. 007  
2020-12