

Aptima™ HBV Quant Assay

Til *in vitro*-diagnostisk bruk.

Kun for USA-eksport

Generell informasjon	2
Tiltent bruk	2
Oppsummering og forklaring av testen	2
Prosedyrens prinsipper	3
Advarsler og forholdsregler	3
Oppbevaring av reagenser og håndteringskrav	6
Prøvetaking og oppbevaring	7
Prøver ombord i Panther-systemet	10
Prøvetransport	10
Panther-systemet	11
Reagenser og materialer som følger med	11
Nødvendige materialer som er tilgjengelige separat	13
Alternative materialer	14
Panther-systemets testprosedyre	14
Prosedyrenotater	18
Kvalitetskontroll	19
Assaykalibrering	19
Negative og positive kontroller	19
Intern kalibrator/intern kontroll	19
Tolkning av resultater	20
Begrensninger	20
Ytelse	21
Deteksjonsgrense ved bruk av WHO's 3. internasjonale standard	21
Deteksjonsgrensen på tvers av HBV-genotyper	22
Lineært område	23
Lineæritet på tvers av HBV-genotyper	24
Nedre kvantifiseringsgrense med WHO's 3. internasjonale standard	24
Bestemmelse av den nedre kvantifiseringsgrensen på tvers av HBV-genotyper	26
Reproduserbarhet	28
Potensielt forstyrrende stoffer	30
Spesifisitet	31
Analytisk spesifisitet	32
Repeterbarhet ved kliniske prøver	33
Prøvefortynning med prøvefortynningsmiddel	34
Metodekorrelasjon	36
Overføring	36
Bibliografi	37

Generell informasjon

Tiltenkt bruk

Aptima HBV Quant Assay er en *in vitro* amplifikasjonstest av nukleinsyre til kvantifisering av hepatitt B-virus (HBV) DNA i humant plasma og serum med det helautomatiserte Panther™-systemet.

Plasma kan tilberedes i etylendiaminetetraacetat (EDTA), antikoagulant citratdektrose (ACD)-løsning og plasmatilberedningsrør (PPT-er). Serum kan tilberedes i serumrør og serumseparatorrør (SST-er). Prøvene testes ved bruk av det helautomatiserte Panther-systemet til prøvebehandling, amplifikasjon og kvantifisering. Prøvene som inneholder HBV-genotypene A, B, C, D, E, F, G og H, valideres for kvantifisering i assayet.

Aptima HBV Quant Assay er tiltenkt brukt som en hjelp ved behandling av pasienter med kroniske HBV-infeksjoner som gjennomgår HBV antiviral legemiddelbehandling. Assayet kan brukes til å måle HBV DNA-nivåene på baselinjen og under behandling som en hjelp i vurdering av virusresponsen til behandlingen. Resultatene fra Aptima HBV Quant Assay skal tolkes i sammenheng med alle relevante kliniske og laboratoriefunn.

Aptima HBV Quant Assay er ikke tiltenkt brukt som en screening-test i blod eller blodprodukter for HBV eller som diagnostisk test for å bekrefte tilstedeværelsen av HBV-infeksjon.

Oppsummering og forklaring av testen

Hepatitt B-virus (HBV), som er en av flere virus som man vet forårsaker hepatitt, er blitt tilskrevet livslang HBV-infeksjon, levercirrhosis, leverkreft, leversvikt og potensiell død. Verdens helseorganisasjon (WHO) har listet opp HBV som en av verdens vanligste infeksjonssykdommer. Det er store variasjoner i forekomsten av HBV-infeksjon og overføringsmetoden rundt om i verden. Omtrent en tredel av verdens befolkning har serologisk bevis på tidligere eller nåværende HBV-infeksjon og der det skjer HBV-infeksjon i flere enn 350 millioner person i hele verden.^{1,2,3} HBV-infeksjon fører til økt fare for leverdekompensasjon, cirrhosis og hepatocellulær karsinom (HCC) med en dødlighetsrate på 0,5 til 1,2 million og 5-10 % tilfeller med levertransplantasjoner hvert år på verdensbasis.^{4,5} Uten egnet behandling, intervensjon og overvåking etter diagnosen, er 5-års samlede tilfeller av cirrhosis i området 8-20 %. Etter at cirrhosis har utviklet seg, er den årlige risikoen for hepatocellulær karsinom (HCC) 2-5 %.⁶

HBV inneholder en sirkelformet, delvis dobbeltrådet DNA-genom med omtrent 3200 basispar, som koder fire delvis overlappende åpne leserammer (ORF) som uttrykker polymerase, overflate, pre-kjerne/kjerne og X-proteiner. Polymerase ORF overlapper de andre tre ORF-ene og koder en nøkkelvirus-kopieringsprotein, polymerase. Overflate-ORF uttrykker tre proteiner som er essensielle for virusmorfogenese, virusinngang i hepatocytter og trigger verdens immunrespons.⁷ Det finnes 8 HBV-genotyper (A-H), og disse påvises vanligvis på atskilte geografiske steder. Kvantifisering av HBV DNA brukes for å fastslå hvilke pasienter med kronisk infeksjon som skal behandles, for å overvåke responsen til behandlingen og for å vurdere tilbakeslag i virusbelastning som kan indikere resistens mot legemidlet.⁵

Aptima HBV Quant Assay er en *in vitro* amplifikasjonstest til nukleinsyrer som bruker sanntids transkripsjonsmediert amplifikasjonsteknologi (TMA) på Panther-systemet for å kvantifisere HBV DNA, genotypene A, B, C, D, E, F, G og H. Aptima HBV Quant Assay retter seg mot to svært konserverte regioner i polymerase- og overflategenene (for økt toleranse mot mulige mutasjoner). Assayet er standardisert iht. WHO's 3. internasjonale standard for hepatitt B-virus (NIBSC-kode: 10/264).

Prosedurens prinsipper

Aptima HBV Quant Assay har tre hovedtrinn og alle skjer i et enkelt rør på Panther-systemet: målinnfanging, målampifikasjon av TMA og deteksjon av amplifikasjonsprodukter (amplicon) av fluorescensmerkede prober (torches).

Under en målinnfanging blir virus-DNA isolert fra prøvene. Prøven blir behandlet med en detergent for å oppløse viruskappen, denaturere proteiner og frigjøre viralt genomisk DNA. Innfangingsoligonukleotider hybridiseres til konserverte regioner på HBV DNA i testrøret, hvis disse er tilstede. Det hybridiserte målet blir deretter fanget inn på magnetiske mikropartikler som er atskilt fra prøven i magnetfeltet. Vasketrinnene fjerner overflødige komponenter fra reaksjonsrøret.

Målampifikasjonen foregår via TMA, som er en transkripsjonsmediert amplifikasjonsmetode med nukleinsyre som bruker to enzymer, Moloney murint leukemivirus (MMLV) revers transkriptase og T7 RNA-polymerase. Den reverse transkriptasen brukes til å generere en DNA-kopi (som inneholder en promotersekvens for T7 RNA-polymerase) av målsekvensen. T7 RNA-polymerase produserer flere kopier av RNA-amplicon fra DNA-kopi templatet. Aptima HBV Quant Assay benytter TMA-metoden for å amplifisere to regioner i HBV-genom (polymerasegen og overflategen). Amplifikasjon av disse regionene oppnås ved bruk av spesifikke primere utformet for å amplifisere HBV-genotypene A, B, C, D, E, F, G og H. Fremgangsmåten med dobbel målregion og primerdesign som retter seg mot svært konserverte regioner, sikrer nøyaktig kvantitering av HBV DNA.


Deteksjon oppnås med enkelttrådet nukleinsyreprobe, som er tilstede under amplifikasjonen av målet og som hybridiserer spesifikt til ampliconet i sanntid. Hver probe har en fluorofor og en quencher. Når proben ikke er hybridisert til amplicon, er quencheren nær fluoroforen og undertrykker fluorescensen. Når proben bindes til amplicon, har quencheren større avstand til fluoroforen, og den vil sende ut et signal med et spesifikk bølgelengde når den eksiteres av lyskilden. Når flere prober hybridiseres til amplicon, genereres signaler med høyere fluorescens. Tiden det tar for fluorescenssignalet å nå en satt terskelverdi er proporsjonal med starten på HBV-konsentrasjonen. Hver reaksjon har en intern kalibrator/intern kontroll (IC) som kontrollerer variasjoner i prøvebehandling, amplifikasjon og deteksjon. Konsentrasjonen i en prøve bestemmes av Panther-systemets programvare som bruker HBV- og IC-signaler for hver reaksjon og sammenligner dem med kalibreringsinformasjonen.

Advarsler og forholdsregler

- A. Kun til *in vitro*-diagnostisk bruk.
- B. For å redusere risikoen for ugyldige resultater må du lese *Håndbok for Panther-systemet* før du utfører dette assayet.
- C. qHBV-målforbedringsreagensen (TER) er korrosiv. Se "Assayrelatert" på side 5 for en fullstendig liste over advarslene.



Laboratorierelatert

-  D. FORSIKTIG: Kontrollene for dette assayet inneholder humant plasma. Plasmaet er negativt for hepatitt B-overflateantigen (HBsAg), antistoffer for HCV, antistoffer for HIV-1 og HIV-2, og HIV antigen når den testes med de lisensierte prosedyrene fra US Food and Drug Administration. I tillegg er plasmaet ikke-reaktivt for HBV DNA, HCV RNA og HIV-1 RNA når det testes med lisensierte nukleinsyretester med poolede prøver. Alt materiale fra humane blodkilder skal betraktes som infeksiosøse og skal håndteres med universelle forholdsregler.^{8,9,10}
- E. Bare personell med tilstrekkelig opplæring i bruken av Aptima HBV Quant Assay og håndtering av potensielt infeksiosøst materiale, skal utføre denne prosedyren. Hvis det forekommer søl, skal det desinfiseres umiddelbart i samsvar med egnede prosedyrer for stedet.
- F. Bruk bare medfølgende eller spesifiserte engangs laboratorievarer.
- G. Bruk rutinemessige laboratorieforholdsregler. Ikke pipetter med munnen. Ikke spis, drikk eller røyk i anviste arbeidsområder. Bruk engangshansker uten pulver, øyenvern og laboratoriefrakker når du håndterer prøver og kitreagenser. Vask hendene grundig når du har håndtert prøver og kitreagenser.
- H. Arbeidsflater, pipetter og annet utstyr skal jevnlig dekontamineres med 2,5 % til 3,5 % (0,35 M til 0,5 M) natriumhypoklorittløsning.
- I. Kast alle materialene som har vært i kontakt med prøvene og reagensene, iht. de aktuelle nasjonale, internasjonale og regionale forskrifter.^{8,9,10,11} Alle arbeidsflater skal rengjøres og desinfiseres grundig.
- J. Kontrollene inneholder natriumazid som konserveringsmiddel. Ikke bruk metallrør til overføring av reagens. Hvis løsninger som inneholder natriumazidsammensetninger avhendes i et VVS-system, skal de fortynnes og skylles med store mengder rennende vann. Disse forholdsreglene anbefales for å unngå oppsamling av avleiringer i metallrør der det kan utvikles eksplosjonsfare.
- K. God standard praksis for molekylærlaboratorier inkluderer miljøovervåkning. Laboratoriemiljøet overvåkes med følgende anbefalte prosedyre:
1. Bruk en pinne med bomullspiss og et Aptima-prøvealikovtrør (SAT).
 2. Merk hver SAT riktig.
 3. Fyll hver SAT med 1 ml Aptima-prøvefortynningsmiddel.
 4. Overflateprøver samles ved å lett fukte en bomullspinne med nukleasefritt deionisert vann.
 5. Før bomullspinnen over overflaten med en opp-ned-bevegelse. Roter bomullspinnen omtrent en halv omdreining mens du fører den over stedet.
 6. Sett bomullspinnen øyeblikkelig i røret og virvle bomullspinnen forsiktig i prøvefortynningsmiddelet for å trekke ut potensielt oppfanget materiale. Trykk på prøvepenselen på siden av transportrøret for å trekke ut mest mulig væske. Kast bomullspinnen, og sett kork på røret.
 7. Gjenta trinnene for de andre bomullspinneprøvene.
 8. Test bomullspinnen med molekylær analyse.

Prøverelatert

- L. Prøvene kan være infeksjøs. Bruk universelle forholdsregler^{8,9,10} når du utfører dette assayet. Riktig håndterings- og avhendingsmetoder skal etableres iht. de gjeldende nasjonale, internasjonale og regionale forskrifter.¹¹ Bare personell med tilstrekkelig opplæring i bruk av Aptima HBV Quant Assay og opplæring i håndtering av infeksjøs materialer skal utføre denne prosedyren.
- M. Sørg for tilfredsstillende oppbevaringsforhold under prøvoforsendelsen for å sikre prøvens kvalitet. Prøvestabiliteten under prøvoforsendelsen, annet det som er anbefalt, har ikke blitt evaluert.
- N. Unngå krysskontaminering under håndteringen av prøven. Vær spesielt nøye for å unngå kontaminasjon ved spredning av aerosoler når prøvene løsnes eller korkene tas av. Prøver kan inneholde ekstremt høy konsentrasjon av organismer. Sørg for at prøvebeholderne ikke kommer i kontakt med hverandre, og kast brukte materialer uten å føre dem over åpne beholdere. Bytt hansker hvis de kommer i kontakt med prøven.

Assayrelatert

- O. Ikke bruk reagenskittet, kalibratoren eller kontrollene etter utløpsdatoen.
- P. Unngå å utveksle, blande eller kombinere assayreagenser fra kit med ulike masterlotnumre. Assayvæsker kan være fra ulike lotnumre. Kontroller og kalibratoren kan være fra ulike lotnumre.
- Q. Unngå mikrobiell og nukleasekontaminering av reagenser.
- R. Sett på korker, og oppbevar assayreagenser ved angitte temperaturer. Assayets ytelse kan påvirkes av bruk av feil oppbevarte assayreagenser. Se *Oppbevaring av reagenser og håndteringskrav* og *Panther-systemets testprosedyre* for å finne mer informasjon.
- S. Ikke kombiner assayreagenser eller væsker uten spesifikk instruksjon. Ikke fyll reagenser eller væsker helt opp. Panther-systemet angir reagensnivåene.
- T. Unngå at målforbedringsreagensen kommer i kontakt med hud, øyne og slimhinner. Vask med vann hvis du kommer i kontakt med denne reagensen. Dersom det skjer søl med denne reagensen, skal den fortynnes med vann og stedets aktuelle prosedyrer følges.
- U. Noen av reagensene i dette settet er merket med risiko- og sikkerhetssymboler.


Merk: Farekommunikasjon avspeiler klassifikasjonene i EUs sikkerhetsdatablad (SDS). For informasjon om kommunikasjon av farer som gjelder spesifikt for din region, se det regionsspesifikke Safety Data Sheet Library (HMS-biblioteket) på www.hologicsds.com.

**HBV VL Kit Controls**

Natriumazid 0,2 %
Human Serum 95-100 %

**ADVARSEL**

H312 - Skadelig ved hudkontakt
H412 - Skadelig med langtidsvirkning for liv i vann
P273 - Unngå utslipp til miljøet
P280 - Bruk vernehansker/verneklær/vernebriller/ansiktsskjerm

	Target Enhancer Reagent <i>Lithium Hydroxide, Monohydrate 5-10 %</i>
	FARE H302 - Farlig ved svelging H314 - Gir alvorlige etseskader på hud og øyne P260 - Unngå innånding av støv/røyk/gass/tåke/damp/spray P280 - Bruk vernehansker/verneklær/vernebriller/ansiktsskjerm P303 + P361 + P353 - VED HUDKONTAKT (eller hår): Tilsølte klær må fjernes straks. Skyll huden med vann/dusj P305 + P351 + P338 - VED KONTAKT MED ØYNENE: Skyll forsiktig med vann i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser dersom dette enkelt lar seg gjøre. Fortsett å skylle P310 - Kontakt umiddelbart GIFTINFORMASJONSSENTRALEN eller lege

Oppbevaring av reagenser og håndteringskrav

A. Følgende tabell viser oppbevaringsforholdene og stabiliteten for reagenser, kontroller og kalibrator.

Reagens	Uåpnet oppbevaring	Åpent kit (rekonstituert)	
		Lagring	Stabilitet
qHBV-amplifikasjonsreagens	2 °C til 8 °C		
qHBV-amplifikasjonsrekonstitusjonsløsning	2 °C til 8 °C	2 °C til 8 °C	30 dager ^a
qHBV-enzymreagens	2 °C til 8 °C		
qHBV-enzymrekonstitusjonsløsning	2 °C til 8 °C	2 °C til 8 °C	30 dager ^a
qHBV-promoterreagens	2 °C til 8 °C		
qHBV-promoterrekonstitusjonsløsning	2 °C til 8 °C	2 °C til 8 °C	30 dager ^a
qHBV-målinnfangingsreagens	2 °C til 8 °C	2 °C til 8 °C	30 dager ^a
qHBV PCAL (positiv kalibrator)	-15 °C til -35 °C	15 °C til 30 °C	Glass til engangsbruk Brukes innen 24 timer
qHBV NC CONTROL – (negativ kontroll)	-15 °C til -35 °C	15 °C til 30 °C	Glass til engangsbruk Brukes innen 24 timer
qHBV LPC CONTROL + (lav positiv kontroll)	-15 °C til -35 °C	15 °C til 30 °C	Glass til engangsbruk Brukes innen 24 timer
qHBV HPC CONTROL + (høy positiv kontroll)	-15 °C til -35 °C	15 °C til 30 °C	Glass til engangsbruk Brukes innen 24 timer
qHBV-målforbedringsreagens	15 °C til 30 °C	15 °C til 30 °C	30 dager ^a

^a Når reagenser fjernes fra Panther-systemet, skal de umiddelbart returneres til sine riktige oppbevaringstemperaturer.

- B. Kast eventuelle ubrukte, rekonstituerte reagenser, målinnfangingsreagens (TCR) og målforbedringsreagens (TER) etter 30 dager eller etter masterlots utløpsdato, det som kommer først gjelder.
- C. Reagenser lagret på Panther-systemet har 72 timers stabilitet ombord. Reagenser kan lastes på Panther-systemet inntil 5 ganger. Panther-systemet logges hver gang reagensene lastes inn.

- D. Etter å ha tint opp kalibratoren, skal væsken være klar, det vil si, ingen grums eller bunnfall.
- ⚠ E. Promotorreagens og rekonstituert promoterreagens er lysfølsom. Beskytt disse reagensene fra lys under oppbevaring og ved tilberedning.
- F. qHBV-målforbedringsreagensen må ha en temperatur på 15 °C til 30 °C før den brukes.

Prøvetaking og oppbevaring

Merk: Håndter alle prøver som om de inneholder potensielt infeksjose stoffer. Bruk universelle forholdsregler.

Merk: Påse at du unngår krysskontaminasjon under prøvehåndteringstrinnene. Brukt materiale skal for eksempel avhendes uten å føre dem over åpne rør.

Merk: Kun sekundærrør i plast anbefales for lagring.

Fullblodsprøver som tappes i følgende glass- eller plastrør kan brukes:

- Rør som inneholder EDTA- eller ACD-antikoagulerer
- Plasmatilberedningsrør (PPT-er)
- Serumrør
- Serumseparatorrør (SST-er)

For serum må det være blodkoagulasjon før behandlingen fortsetter.

A. Prøvetaking

Fullblod kan oppbevares ved 2 °C til 30 °C og skal sentrifugeres innen 24 timer etter prøvetaking. Separer plasma eller serum fra de pelleterte røde blodcellene i henhold til produsentens instruksjoner for røret som brukes. Plasma eller serum kan testes på Panther-systemet i et primærrør eller overføres til et sekundærrør som f.eks. Aptima-prøvealiquotrør. For å få 500 µl reaksjonsvolum er minimum volum av plasma eller serum for primære oppsamlingsrør inntil 1200 µl og for sekundærrør er minimum volum 700 µl. Følgende tabell angir krav til dødvolum for hver type primær- og sekundærrør.

Rør (størrelse og type)	Dødvolum på Panther
Aptima-prøvealiquotrør	0,2 ml
12 x 75 mm	0,5 ml
13 x 100 mm	0,5 ml
13 x 100 mm med gel	0,3 ml
16 x 100 mm med gel	0,7 ml

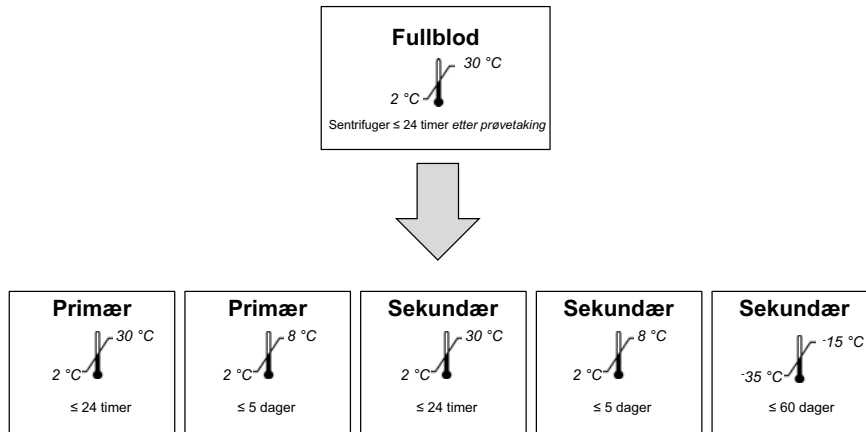
Hvis plasma og serum ikke testes umiddelbart, kan de oppbevares i henhold til spesifikasjonene nedenfor. Hvis plasma eller serum overføres til et sekundærrør, kan de fryses ved -20 °C. Ikke foreta mer enn 3 fryse/tine-sykluser. Ikke frys prøvene i primære innsamlingsrør med EDTA, ACD eller serum.

B. Prøveoppbevaringsforhold

1. EDTA og ACD plasmaprøver

Fullblod kan oppbevares ved 2 °C til 30 °C og skal sentrifugeres innen 24 timer etter prøvetaking. Plasma kan deretter oppbevares under ett av følgende forhold:

- I det primære oppsamlingsrøret eller sekundærrøret ved 2 °C til 30 °C i inntil 24 timer,
- I det primære oppsamlingsrøret eller sekundærrøret ved 2 °C til 8 °C i inntil 5 dager eller
- I sekundærrøret ved -20 °C i inntil 60 dager.

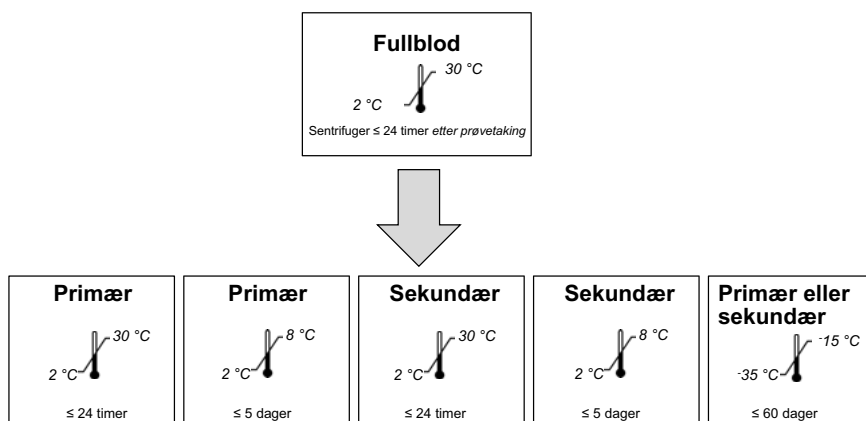


Figur 1. Oppbevaringsforholdene til EDTA/ACD-rørene

2. PPT-prøver

Fullblod kan oppbevares ved 2 °C til 30 °C og skal sentrifugeres innen 24 timer etter prøvetaking. Plasma kan deretter oppbevares under ett av følgende forhold:

- I PPT eller sekundærrøret ved 2 °C til 30 °C i inntil 24 timer,
- I PPT eller sekundærrøret ved 2 °C til 8 °C i inntil 5 dager
- I PPT eller sekundærrøret ved -20 °C i inntil 60 dager.



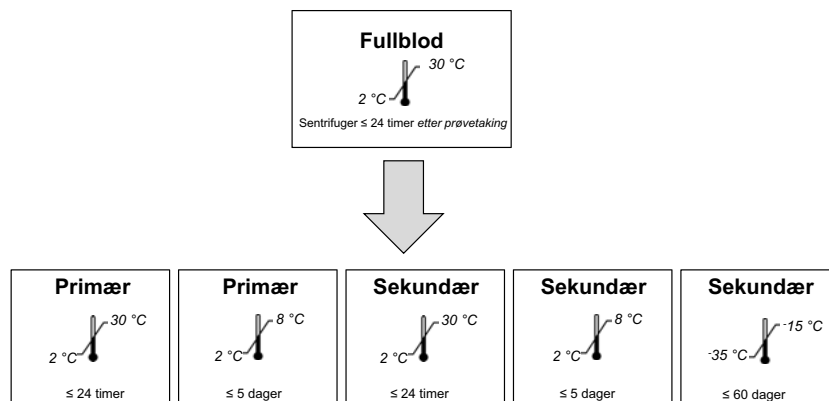
Figur 2. Oppbevaringsforhold for PPT-er

3. Serumrørprøver

Fullblod kan oppbevares ved 2 °C til 30 °C og skal sentrifugeres innen 24 timer etter prøvetaking. Serum kan deretter oppbevares under ett av følgende forhold:

- I serumrøret eller sekundærrøret ved 2 °C til 30 °C i inntil 24 timer,
- I serumrøret eller sekundærrøret ved 2 °C til 8 °C i inntil 5 dager, eller

- I sekundærrøret ved $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ i inntil 60 dager.

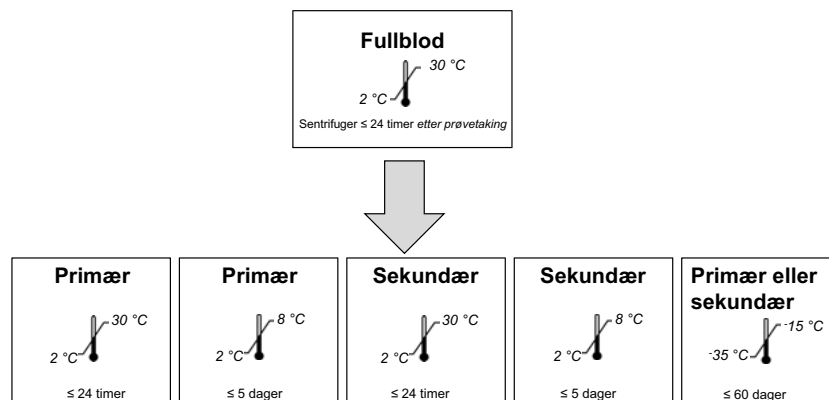


Figur 3. Oppbevaringsforhold for serumrør

4. SST-prøver

Fullblod kan oppbevares ved $2\text{ }^{\circ}\text{C}$ til $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ og skal sentrifugeres innen 24 timer etter prøvetaking. Serum kan deretter oppbevares under ett av følgende forhold:

- I SST eller sekundærrøret ved $2\text{ }^{\circ}\text{C}$ til $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ i inntil 24 timer,
- I SST eller sekundærrøret ved $2\text{ }^{\circ}\text{C}$ til $8\text{ }^{\circ}\text{C}$ i inntil 5 dager
- I SST eller sekundærrøret ved $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ i inntil 60 dager.



Figur 4. Oppbevaringsforhold for SST-er

C. Langtids frossen oppbevaring

Plasma- eller serumprøver kan oppbevares ved $-65\text{ }^{\circ}\text{C}$ til $-85\text{ }^{\circ}\text{C}$ i inntil 60 dager i SAT.

D. Fortynning av plasma- og serumprøver

Plasma- og serumprøver kan fortynnes i SAT eller et sekundærrør for testing på Panther-systemet. Se *Panther-systemets testprosedyre*, avsnitt E "Prøvehåndtering", trinn 6 for å finne mer informasjon.

Merk: Hvis en prøve fortynnes, skal den testes umiddelbart etter fortynningen. Ikke frys en fortynnet prøve.

Prøver ombord i Panther-systemet

Prøver kan forbli på Panther-systemet uten korker i inntil 8 timer. Prøvene kan fjernes fra Panther-systemet og testes så lenge den totale tiden ombord ikke overstiger 8 timer før Panther-systemet pipetterer prøven.

Prøvetransport

Oppretthold prøveoppbevaringsforholdene som beskrevet i *Prøvetaking og oppbevaring*.

Merk: *Prøvene skal sendes i henhold til gjeldende statlige, internasjonale og regionale transportregler.*

Panther-systemet

Reagenser for Aptima HBV Quant Assay er oppført nedenfor for Panther-systemet. Reagensidentifikasjonssymbolene er også oppført ved siden av reagensnavnet.

Reagenser og materialer som følger med

Merk: For informasjon om eventuelle fare- og forholdsregelklæringer som kan være forbundet med reagenser, se sikkerhetsdatabladbiblioteket på www.hologic.com/sds.

Aptima HBV Quant-assaykit, 100 tester (kat. nr. PRD-03424)
(1 assayeske, 1 kalibratorkit, 1 kontrollkit og 1 eske med målforbedringsreagens)

Ekstra kalibratorer og kontroller kan bestilles separat. Se de respektive katalognumrene nedenfor.

Aptima HBV Quant-assayboks

(oppbevares ved 2 °C til 8 °C ved mottak)

Symbol	Komponent	Mengde
A	qHBV-amplifikasjonsreagens <i>Ikke-infeksiøse nukleinsyrer tørket i bufret løsning.</i>	1 glass
E	qHBV-enzymreagens <i>Revers transkriptase og RNA polymerase tørket i HEPES bufret løsning.</i>	1 glass
PRO	qHBV-promoterreagens <i>Ikke-infeksiøse nukleinsyrer tørket i bufret løsning.</i>	1 glass
AR	qHBV-amplifikasjonsrekonstitusjonsløsning <i>Vannholdig løsning som inneholder glycerol og konserveringsmidler.</i>	1 x 7,2 ml
ER	qHBV-enzymrekonstitusjonsløsning <i>HEPES bufret løsning som inneholder surfaktant og glycerol.</i>	1 x 5,8 ml
PROR	qHBV-promoterrekonstitusjonsløsning <i>Vannholdig løsning som inneholder glycerol og konserveringsmidler.</i>	1 x 4,5 ml
TCR	qHBV-målinnfangingsreagens <i>Nukleinsyrer i en bufret saltløsning som inneholder fastfase, ikke-infeksiøse nukleinsyrer og intern kalibrator.</i>	1 x 72,0 ml
	Rekonstitusjonskrager	3
	Strekkodeark for masterlot	1 ark

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

(oppbevares ved -15 °C til -35 °C ved mottak)

Symbol	Komponent	Mengde
PCAL	qHBV positiv kalibrator <i>Plasmid DNA i bufret løsning</i>	5 x 2,5 ml
	Etikett med kalibratorstrekkode	—

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

(oppbevares ved -15 °C til -35 °C ved mottak)

Symbol	Komponent	Mengde
NC	qHBV negativ kontroll <i>HBV negativ defibrert humant plasma inneholder gentamicin og 0,2 % natriumazid som konserveringsmidler.</i>	5 x 0,8 ml
LPC	qHBV lav positiv kontroll <i>Inaktivert HBV positivt plasma i defibrert humant plasma som inneholder gentamicin og 0,2 % natriumazid som konserveringsmidler.</i>	5 x 0,8 ml
HPC	qHBV høy positiv kontroll <i>Inaktivert HBV positivt plasma i defibrert humant plasma som inneholder gentamicin og 0,2 % natriumazid som konserveringsmidler.</i>	5 x 0,8 ml
	Kontrollstrekkodeetikett	—

Eske med Aptima HBV Quant-målforbedringsreagens

(oppbevares ved 15 °C til 30 °C ved mottak)

Symbol	Komponent	Mengde
TER	qHBV-målforbedringsreagens <i>En konsentrert løsning med litiumhydroksidløsning</i>	1 x 46,0 ml

Nødvendige materialer som er tilgjengelige separat

Merk: Materialer tilgjengelig fra Hologic har oppførte katalognumre, med mindre annet er angitt.

Materiale	Kat. nr.
Panther-systemet	—
Panther kjøringskit for sanntidsassayer (bare for sanntidsassayer)	PRD-03455 (5000 tester)
<i>Aptima Assay væskekit (også kalt universalt væskekit)</i> <i>inneholder Aptima vaskeløsning, Aptima buffer for deaktiveringsvæske og Aptima oljereagens</i>	303014 (1000 tester)
<i>Multirørenheter (MTU-er)</i>	104772-02
<i>Panther avfallsposekit</i>	902731
<i>Panther avfallsbeholder, deksel</i>	504405
Eller Panther-systemets kjøringskit <i>(når TMA-assayer som ikke kjøres i sanntid kjøres parallelt med TMA-assayer i sanntid)</i> <i>inneholder multirørenheter, avfallsposer, avfallsbeholderdeksler, autosøk og assayvæsker</i>	303096 (5000 tester)
Spisser, 1000 µl ledende, væskefølsomme	10612513 (Tecan)
Klorin, 5 % til 7 % (0,7 M til 1,0 M) natriumhypoklorittløsning	—
Pulverfrie engangshansker	—
Ekstra reagenskorker <i>Rekonstitusjonsflasker til amplifikasjon, enzym og promoterreagens CL0041 (100 korker)</i>	
<i>TCR-flaske</i>	CL0040 (100 korker)
<i>TER-flaske</i>	501604 (100 korker)
Plastbelagte overtrekk for laboratoriebenker	—
Lofrie kluter	—
Pipette	—
Spisser	—
Alternativer for primære prøverør:	
<i>13 mm x 100 mm</i>	—
<i>13 mm x 75 mm</i>	—
<i>16 mm x 100 mm</i>	—
Sentrifuge	—
Vorteksblender	—

Alternative materialer

Materiale	Kat. nr.
Alternativer for sekundærrør:	
12 mm x 75 mm	—
13 mm x 100 mm	—
16 mm x 100 mm	—
Aptima alikvot prøverør (SAT-er(Specimen Aliquot Tubes)) (100 per pakke)	503762
Prøverørskorker til transport (100 per pakke) korker til SAT	504415
Aptima-prøvefortynningsmiddel	PRD-03003
Aptima-prøvefortynningskit	PRD-03478
inneholder prøvefortynningsmiddel, 100 SAT-er og 100 korker	
Overføringspipetter	—
Kommersielt tilgjengelige paneler, for eksempel:	—
HBV-paneler fra kvalitetskontroll for molekylær diagnostikk (QCMD)	
Bomullspinner	—
Rørvugge	—

Panther-systemets testprosedyre

Merk: Se Håndbok Panther-systemet for mer informasjon om prosedyren.

A. Klargjøre arbeidsområdet

1. Rengjør arbeidsflatene der reagenser skal tilberedes. Tørk av arbeidsflatene med 2,5 % til 3,5 % (0,35 M til 0,5 M) natriumhypoklorittløsning. La natriumhypoklorittløsningen være i kontakt med overflatene i minst 1 minutt og følg deretter opp med deionisert (DI) vann. Ikke la natriumhypoklorittløsningen tørke inn. Dekk til benkeflatene med rene, plastbelagte, absorberende laboratoriebenktrekk.
2. Rengjør separate arbeidsflatene der reagenser skal tilberedes. Bruk prosedyren beskrevet ovenfor (trinn A.1).
3. Rengjør eventuelle pipetter. Bruk rengjøringsprosedyrene beskrevet ovenfor (trinn A.1).

B. Kalibrator- og kontrollklargjøring

La kalibratoren og kontrollene nå 15 °C til 30 °C før behandling slik:

1. Hent kalibratoren og kontrollen fra oppbevaring (-15 °C til -35 °C), og plasser ved 15 °C til 30 °C. Snu hver rør forsiktig under tinningsprosessen for å blande dem godt. Sørg for at rørinholdet er fullstendig tint før bruk.

Alternativ. Kalibrator- og kontrollrør kan plasseres på en rørvugge for å blande grundig. Sørg for at rørinholdet er fullstendig tint før bruk.

Merk: Unngå å danne for mye skum når du snur kalibrator og kontroller. Skum vil ødelegge Panther-systemets nivåføling.

2. Når rørinholdet er tint, tørkes utsiden på røret med en ren, tørr engangsklut.
3. For å hindre kontaminasjon skal rørene ikke åpnes på dette tidspunkt.

C. Reagensrekonstitusjon/klargjøring av et nytt kit

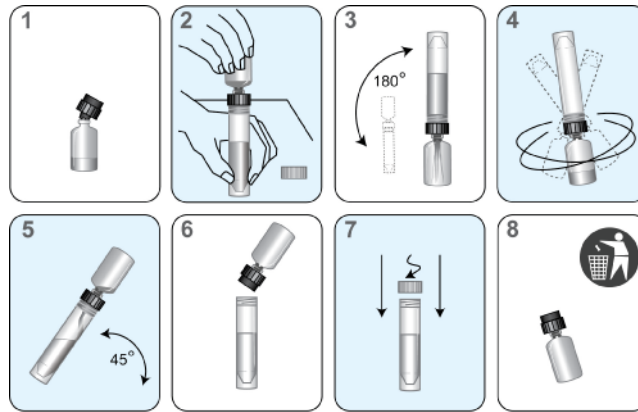
Merk: Rekonstitusjon av reagenser skal utføres før du starter arbeidet på Panther-systemet.

1. Gjør følgende for å tilberede målinnfangingsreagens (TCR):
 - a. Fjern TCR fra oppbevaringen (2 °C til 8 °C). Kontroller lotnummeret på TCR-flasken for å påse at det samsvarer med lotnummeret på strekkodearket for masterlots.
 - b. Rist TCR-flasken straks kraftig 10 ganger. La TCR-flasken forbli ved 15 °C til 30 °C for å varmes i minst 45 minutter. I denne perioden skal TCR-flasken virvles og snus minst hvert 10 minutt.

Alternativ. TCR-flasken kan klargjøres på en rørvippemaskin ved å gjøre følgende: Hent TCR-flasken fra oppbevaring (2 °C til 8 °C) og rist den straks kraftig 10 ganger. Sett TCR-flasken på en rørvugge og la TCR stå i 15 °C til 30 °C for å varmes i minst 45 minutter.
 - c. Sørg for at alt bunnfall er i løsningen og at de magnetiske partiklene oppslemmet før bruk.
2. Gjør følgende for å rekonstituere amplifikasjons-, enzym- og promoterreagenser:
 - a. Fjern de frysetørkede reagensene og tilsvarende rekonstitusjonsløsninger fra oppbevaring (2 °C til 8 °C). Koble hver rekonstitusjonsløsning med sin frysetørkede reagens.
 - b. Sørg for at rekonstitusjonsløsningen og den frysetørkede reagensen har samsvarende etikettfarger. Kontroller lotnumrene på strekkodearket for masterlots for å sikre at riktige reagenser blir sammenkoblet.
 - i. Åpne det frysetørkede reagensglasset ved å fjerne metallforseglingen og gummistopperen.
 - ii. Sett enden med hakk inn i rekonstitusjonskragen (svart) på glasset (Figur 5, trinn 1).
 - iii. Åpne den samsvarende rekonstitusjonsflasken og legg korken på en ren, tildekket arbeidsflate.
 - iv. Sett flasken med rekonstitusjonsløsning på en stabil flate (for eksempel en benk). Deretter snus den frysetørkede reagensflasken over flasken med rekonstitusjonsløsning og sett kragen fast på flasken med rekonstitusjonsløsning (Figur 5, trinn 2).
 - v. Snu de monterte flaskene langsomt (glass festet til flasken med løsning) for å la løsningen tømmes inn i hetteglasset (Figur 5, trinn 3).
 - vi. Ta opp de monterte flaskene og virvle de monterte flaskene i minst 10 sekunder (Figur 5, trinn 4).
 - vii. Vent i minst 30 minutter for å la den frysetørkede reagensen blandes med løsningen.
 - viii. Når den frysetørkede reagensen er blandet med løsningen, virvles de monterte flaskene i minst 10 sekunder og deretter vippes løsningen med hetteglasset frem og tilbake for å blande grundig.
 - c. Snu de monterte flaskene langsomt på nytt for å la all løsningen tømmes tilbake inn i rekonstitusjonsløsningsflasken (Figur 5, trinn 5).
 - d. Fjern rekonstitusjonskragen og glassflasken forsiktig (Figur 5, trinn 6).

- e. Sett på korken på flasken. Noter ned initialene til operatøren og rekonstitusjonsdatoen på etiketten (Figur 5, trinn 7).
- f. Kast rekonstitusjonskragen og glassflasken forsiktig (Figur 5, trinn 8).

Advarsel: Unngå å lage mye skum når reagensene rekonstitueres. Skum vil ødelegge Panther-systemets nivåføling.



Figur 5. Reagensrekonstitusjon

3. Hent qHBV-målforbedringsreagensen fra oppbevaring (15 °C til 30 °C). Noter ned initialene til operatøren og åpningsdatoen på etiketten. Kontroller lotnummeret på TER-flasken for å påse at det samsvarer med lotnummeret på strekkodearket for masterlots.
- D. Tilberedning av reagens for tidligere tilberedte reagenser
1. Ta ut de tidligere tilberedte reagensene fra oppbevaringen (2 °C til 8 °C). Tidligere tilberedt amplifikasjon, enzym, promoterreagenser og TCR skal nå 15 °C til 30 °C før assayet startes.
 2. Hent TER fra oppbevaring (15 °C til 30 °C).
 3. Utfør trinn C.1 ved TCR som er klargjort tidligere før innlasting på systemet.
 4. Virvle og snu amplifikasjons-, enzym- og promoterreagenser for å blande grundig før de lastes på systemet. Unngå å lage mye skum når reagensene snus.
 5. Ikke fyll reagenser helt opp. Panther-systemet vil gjenkjenne og avvise flasker som har blitt overfylt.
- E. Prøvehåndtering
1. Sørg for at behandlede prøver i primærrør eller uforynnede prøver i sekundærrør er lagret korrekt i henhold til Prøvetaking og oppbevaring på side 7.
 2. Sørg for at frosne prøver er fullstendig tint. Vorteks de tinte prøvene i 3 til 5 sekunder for å blande grundig.
 3. La prøvene nå 15 °C til 30 °C før behandling. Se *Prøver ombord i Panther-systemet* for ytterligere ombordinformasjon.
 4. Påse at hvert primære oppsamlingsrør inneholder inntil 1200 µl prøve eller at hvert SAT inneholder minst 700 µl prøve. Se tabellen i *Prøvetaking* på side 7 for å finne krav til dødvolum for hver type primær- og sekundærrør. Se trinn E.6 hvis det er behov for prøvefortynning nedenfor for å finne mer informasjon.

5. Rett før prøvene lastes inn i prøvestativet, sentrifuger hver prøve ved 1000 til 3000 g i 10 minutter. Ikke fjern korkene. Bobler i røret kan ødelegge Panther-systemets nivåføling.

Se *Klargjøre systemet*, trinn F.2 nedenfor for informasjon om lasting av stativet og fjerning av korker.

6. Fortynn en prøve 1:3 i et SAT eller 1:100 i et sekundærrør.

En prøve kan fortynnes i et sekundærrør for å teste i Panther-systemet.

Merk: Hvis en prøve fortynnes, må den testes umiddelbart etter fortynningen.

- a. Fortynne prøver med lite volum

Volumet på prøvene kan økes til påkrevd minimum volum (700 µl) med Aptima-prøvefortynningsmiddel. Prøver på minst 240 µl kan fortynnes med to deler prøvefortynningsmiddel (1:3) slik:

- i. Plasser 240 µl prøve i SAT.
- ii. Tilsett 480 µl Aptima-prøvefortynningsmiddel.
- iii. Sett kork på røret.
- iv. Vend røret forsiktig 5 ganger for å blande.

Prøver som er fortynnet 1:3, kan testes med 1:3-alternativet på Panther-systemet (se *Håndbok for Panther-systemet* for mer informasjon). Programvaren rapporterer automatisk nettoresultatet ved bruk av fortynningsfaktoren. Disse prøvene blir flagget som fortynnede prøver.

- b. Fortynne høye titeringsprøver

Hvis resultatene av en prøve ligger over den øvre kvantifiseringsgrensen (ULoQ), kan den fortynnes med 99 deler Aptima-prøvefortynningsmiddel (1:100) slik:

- i. Legg 30 µl prøve i SAT eller et sekundærrør.
- ii. Tilsett 2970 µl Aptima-prøvefortynningsmiddel.
- iii. Sett kork på røret.
- iv. Vend røret forsiktig 5 ganger for å blande.

Prøver fortynnet 1:100 kan testes ved av alternativet med 1:100 på Panther-systemet (se *Håndbok for Panther-systemet* for å finne mer informasjon). Programvaren rapporterer automatisk nettoresultatet ved å bruke fortynningsfaktoren. Disse prøvene flagges som fortynnede prøver.

Merk: For fortynnede prøver med ublandede konsentrasjoner større enn ULoQ, vil resultatene bli rapportert med vitenskapelig merknad.

F. Klargjøre systemet

1. Sett opp systemet i henhold til instruksjonene i *Håndbok for Panther-systemet* og *Prosedyrenotater*. Sørg for at det brukes reagensstativ med riktige størrelser og TCR-adaptore.
2. Last prøvene inn på prøvestativet. Utfør følgende trinn for hvert prøverør (prøve, og når nødvendig, kalibrator og kontroller):
 - a. Løsne en prøverørskork, men ikke fjern den ennå.

Merk: Vær spesielt forsiktig for å unngå kontaminasjon ved spredning av aerosoler. Løsne korkene på prøvene forsiktig.

- b. Last prøverørene inn på prøvestativet.
- c. Gjenta trinnene 2.a og 2.b for hver gjenstående prøve.
- d. Når prøven har blitt lastet inn på prøvestativet, fjernes og kastes hver prøverørskork på ett prøvestativ. For å unngå kontaminering skal en kork ikke føres over noen andre prøvestativer eller prøverør.
- e. Om nødvendig brukes en ny overføringspipette til engangsbruk for å fjerne bobler eller skum.
- f. Når det siste lokket er fjernet, lastes prøvestativet inn i prøvebrønnen.

Merk: Dersom andre assyer og prøvetyper kjøres samtidig, skal prøveholderen festes før prøvestativet settes inn i prøvebrønnen.

- g. Gjenta trinnene 2.a til 2.f for neste prøvestativ.

Prosedyrenotater

A. Kalibratører og kontroller

1. Den qHBV positive kalibratoren, den qHBV lavt positive kontrollen, qHBV høy positiv kontroll og qHBV negative kontrollrør kan lastet i hvilken som helst posisjon på prøvestativet i hvilken som helst prøvebrønnebane på Panther-systemet. Prøvepipetteringen vil begynne når en av følgende to forhold er oppfylt:
 - a. Kalibratoren og kontrollene blir nå behandlet av systemet.
 - b. Gyldige resultater for kalibratoren og kontrollene er registrert på systemet.
2. Når kalibratoren og kontrollrørene har blitt pipettert og blir behandlet for Aptima HBV Quant-assaykit, kan prøvene testes med det tilknyttede, rekonstituerte kitet i inntil 24 timer **med mindre**:
 - a. Kalibrator- eller kontrollresultatene er ugyldige.
 - b. Det tilknyttede assayreagenskitet er fjernet fra systemet.
 - c. Det tilknyttede assayreagenskitet har overskredet stabilitetsgrensene.
3. Kalibratoren og hvert kontrollrør kan brukes én gang. Forsøk på å bruke røret mer enn én gang kan føre til behandlingsfeil.

B. Hansker

Som ved alle reagenssystemer, kan for mye pulver på noen hansker føre til kontaminering av åpne rør. Pulverfrie hansker anbefales.

Kvalitetskontroll

En kjøring eller et prøveresultat kan ugyldiggjøres av en operatør hvis tekniske, operatørbaserte eller instrumentbaserte vanskeligheter observeres ved utførelsen av assayet og er dokumentert. I dette tilfellet skal prøvene testes på nytt.

Assaykalibrering

En assaykalibrering skal utføres for å generere gyldige resultater. En enkel positiv kalibrator kjøres tre ganger hver gang et reagenskit settes inn i Panther-systemet. Når dette er gjennomført, er kalibreringen gyldig i inntil 24 timer. Programmet på Panther-systemet varsler operatøren når en ny kalibrering er nødvendig. Operatøren skanner en kalibreringskoeffisient som finnes på strekkodearket for masterlots som følger med hvert reagenskit.

Under behandlingen blir kriteriene for godkjenning av kalibratoren automatisk verifisert av programmet på Panther-systemet. Hvis mindre enn to av kalibratorreplikatene er gyldige, vil programmet automatisk ugyldiggjøre kjøringen. Prøver i en ugyldiggjort kjøring skal testes på nytt med en ny tilberedt kalibrator og nye tilberedte kontroller.

Negative og positive kontroller

Et sett med assaykontroller skal testes for å generere gyldige resultater. Ett replikat av den negative kontroll, den lave positive kontrollen og den høye positive kontrollen skal testes hver gang et reagenskit blir lastet inn på Panther-systemet. Når dette er gjennomført, er kontrollene gyldige i inntil 24 timer. Programmet på Panther-systemet varsler operatøren når en ny kalibrering av kontroller er påkrevd.

Under behandlingen blir kriteriene for godkjenning av kontroller automatisk verifisert av programmet på Panther-systemet. For å generere gyldige resultater, skal den negative kontrollen gi resultatet "ikke detektert" og de positive kontrollene skal gi resultater innenfor forhåndsdefinerte parametre (LPC nominelt mål: $2,7 \text{ Log}_{10} \text{ IU/ml}$, HPC nominelt mål: $4,6 \text{ Log}_{10} \text{ IU/ml}$). Hvis noen av kontrollene har et ugyldig resultat, vil programmet automatisk ugyldiggjøre kjøringen. Prøver i en ugyldiggjort kjøring skal testes på nytt med en ny tilberedt kalibrator og nye tilberedte kontroller.

Intern kalibrator/intern kontroll

Hver prøve inneholder en intern kalibrator/intern kontroll (IC). Under behandlingen blir godkjenneskriteriene for den interne kontrollen automatisk verifisert av programmet for Panther-systemet. Hvis et intern kontroll-resultat er ugyldig, blir prøveresultatet ugyldiggjort. Hver prøve med et ugyldig intern kontroll-resultat skal testes på nytt for å få et gyldig resultat.

Programvaren til Panther-systemet er beregnet på nøyaktig verifisering av prosesser når prosedyrer utføres iht. instruksjonene i pakkevedlegg og *Håndbok for Panther-systemet*.

Tolkning av resultater

Panther-systemet bestemmer automatisk konsentrasjonen av HBV DNA for prøver og kontroller ved å sammenligne resultatene med en kalibreringskurve. HBV DNA-konsentrasjoner rapporteres i IU/ml og \log_{10} IU/ml. Tolkning av resultatene finnes i Tabell 1. Hvis et fortynningsalternativ brukes til fortynnede prøver, beregner Panther-systemet automatisk HBV-konsentrasjonen for ublandede prøver ved å multiplisere den fortynnede konsentrasjonen med fortynningsfaktoren og fortynnede prøver blir flagget som fortynnet.

Merk: For fortynnede prøver kan resultater som er oppført som "Ikke detektert" eller "<10 detektert" genereres ved å fortynne en prøve med en konsentrasjon over, men nær, LoD (deteksjonsgrensen) eller LLoQ (nedre kvantifiseringsgrense). Det anbefales å samle inn og teste en annen ufortynnet prøve hvis et kvantitativt resultat ikke oppnås.

Tabell 1: Resultattolkning

Rapporterte resultater av Aptima HBV Quant Assay		Tolkning
IU/ml	Log ₁₀ Verdi ^a	
Ikke detektert	Ikke detektert	HBV DNA ikke detektert.
<10 detektert	<1,0	HBV DNA er detektert, men med et nivå under LLoQ.
10 til 1 000 000 000	1,0 til 9,0	HBV DNA-konsentrasjonen ligger innenfor det lineære området på 10 til 1 000 000 000 IU/ml.
>1 000 000 000	>9,0	HBV DNA-konsentrasjonen er over ULoQ.
Ugyldig ^b	Ugyldig ^b	Det var en feil i genereringen av resultatet. Prøven bør testes på nytt.

^a Verdien er kortet ned til to desimaler.

^b Ugyldige resultater vises med blåfarget skrift.

Merk: For fortynnede prøver med ublandede konsentrasjoner større enn ULoQ, vil resultatene bli rapportert med vitenskapelig merknad.

Begrensninger

- Bruk av dette assayet er begrenset til personell som har opplæring i prosedyren. Hvis man unnlater å følge instruksjonene i dette pakningsvedlegget kan dette føre til feil resultater.
- Pålitelige resultater er avhengig av tilfredsstillende prøvetaking, transport, oppbevaring og behandling.
- Selv om det er sjeldent, kan mutasjoner innen høy konserverte regioner i virusgenom dekket av primere og/eller prober i Aptima HBV Quant-analysen føre til underkvantifisering av viruset eller at viruset ikke detekteres.

Ytelse

Deteksjonsgrense ved bruk av WHO's 3. internasjonale standard

Deteksjonsgrensen (LoD) i assayet defineres som konsentrasjonen av HBV DNA som blir detektert ved 95 % eller større sannsynlighet i henhold til CLSI EP17-A2.¹²

LoD ble bestemt ved å teste paneler med WHO's 3. internasjonale standard for hepatitt B-virus DNA (NIBSC 10/264) fortynnet i HBV negativt humant plasma og serum. Minimum 36 replikater av hver fortynning ble testet med hver av de tre reagenslotene med minimum 108 replikater per fortynning. Probit-assayet ble utført for å generere forutsagte deteksjonsgrenser. LoD-verdier vist i Tabell 2 er resultater fra reagenslot med høyeste forutsagte deteksjonsgrense. LoD for Aptima HBV Quant Assay med bruk av WHO's 3. internasjonale standard er 5,58 IU/ml for plasma og 4,29 IU/ml for serum.

Tabell 2: Deteksjonsgrensen ved bruk av WHO's 3. internasjonale standard for HBV

Forutsagt deteksjonsgrense	Konsentrasjon (IU/ml)	
	Plasma	Serum
10 %	0,16	0,19
20 %	0,27	0,30
30 %	0,39	0,42
40 %	0,55	0,56
50 %	0,75	0,73
60 %	1,02	0,96
70 %	1,42	1,29
80 %	2,09	1,81
90 %	3,58	2,91
95 %	5,58	4,29

Deteksjonsgrensen på tvers av HBV-genotyper

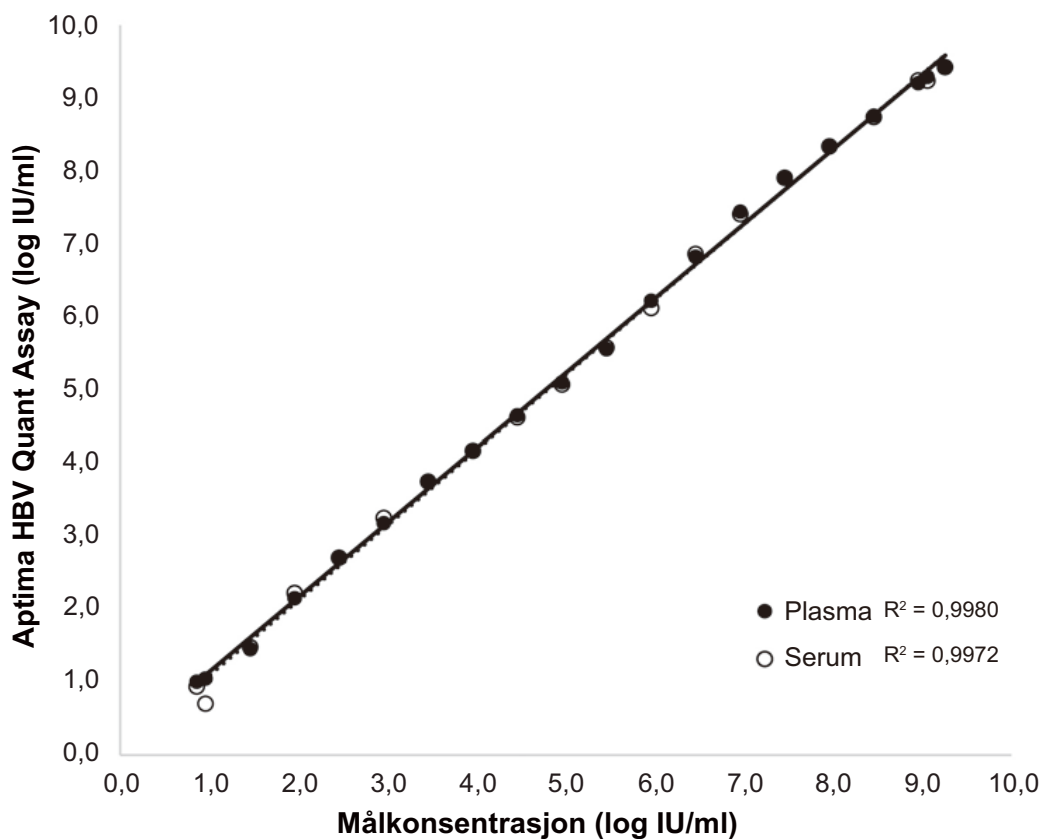
LoD ble fastslått ved å teste fortyndinger av HBV positive kliniske prøver for genotypene A, B, C, D, E, F, G og H i HBV negativt humant plasma og serum. Konsentrasjonene ble bestemt med en CE-merket og en Health Canada lisensiert komparatorassay. Minimum 24 replikater av hvert panel ble testet med hver av de to reagenslotene med minimum 48 replikater per panel. Probit-assayet ble utført for å generere 50 % og 95 % forutsagte deteksjonsgrenser. LoD-verdier vist i Tabell 3 er resultater fra reagenslot med høyeste forutsagte deteksjonsgrense.

Tabell 3: Deteksjonsgrensen på tvers av HBV-genotyper med kliniske prøver

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

Lineært område

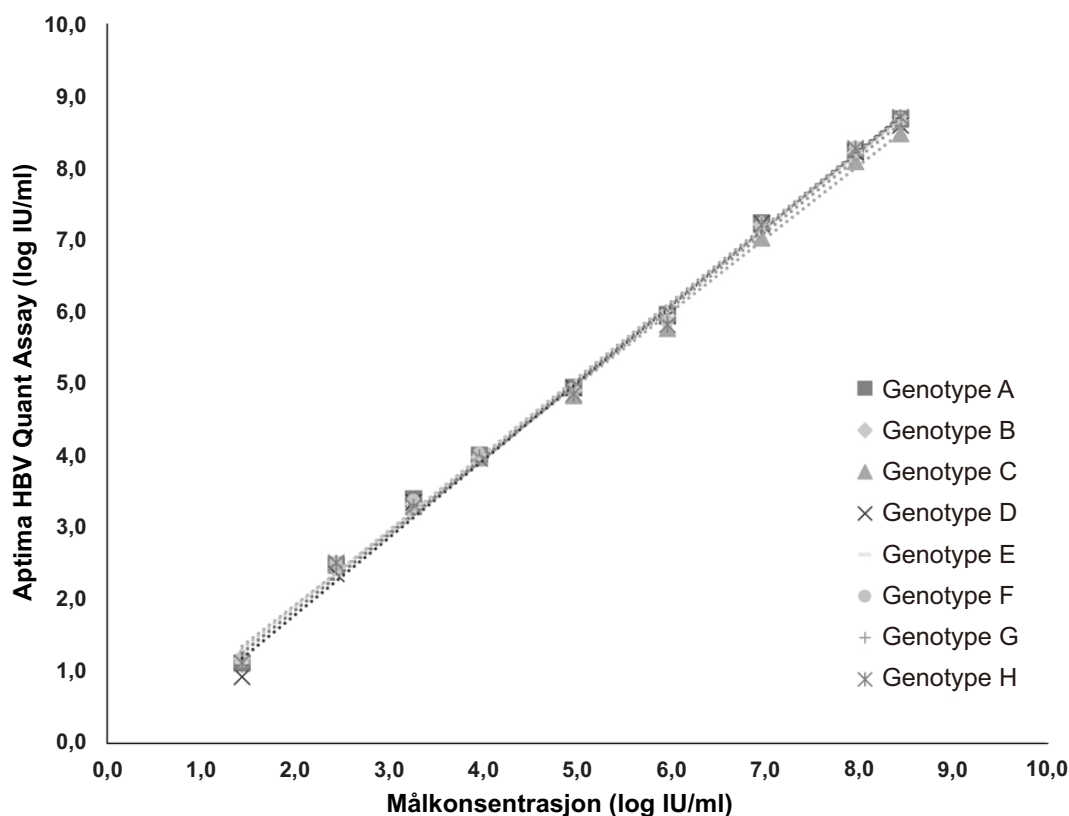
Det lineære området ble fastslått ved å teste paneler med HBV DNA fortynnet i HBV negativt humant plasma og serum i henhold til CLSI EP06-A.¹³ Paneler, med konsentrasjon fra 0,86 log IU/ml til 9,26 log IU/ml. Aptima HBV Quant Assay viste linearitet på tvers av området som ble testet, med en øvre kvantifiseringsgrense (ULoQ) på 9 log IU/ml som vist i Figur 6.



Figur 6. Lineæritet i plasma og serum

Lineæritet på tvers av HBV-genotyper

Den lineære responsen for genotyper A, B, C, D, E, F, G og H ble bekreftet ved å teste paneler med HBV DNA fortynnet i buffer med konsentrasjoner fra 1,44 log IU/ml til 8,44 log IU/ml. Lineariteten ble vist på tvers av området som ble testet for alle genotyper som ble testet, som vist i Figur 7.



Figur 7. Lineært på tvers av HBV-genotype A til H

Nedre kvantifiseringsgrense med WHO's 3. internasjonale standard

Den nedre kvantifiseringsgrensen (LLoQ) defineres som den laveste konsentrasjon der HBV DNA kan kvantifiseres på en pålitelig måte innenfor en total feil, i henhold til CLSI EP17-A2.¹² Total feil ble anslått med to metoder: Total assayfeil (TAE) = |bias| + 2SD, og total feil (TE) = SQRT(2) x 2SD. For å sikre nøyaktighet og presisjon i målingene ble total feil i Aptima HBV Quant Assay innstilt på 1 log IU/ml (dvs. ved LLoQ er forskjellen mellom to målinger på mer enn 1 log IU/ml statistisk signifikant).

LLoQ ble bestemt ved å teste paneler med WHO's 3. internasjonale standard for hepatitt B-virus RNA (NIBSC 10/264) fortynnet i HBV negativt humant plasma og serum. Minimum 45 replikater av hver fortynning ble testet med hver av de tre reagenslotene med minimum 135 replikater per fortynning. Resultatene av de tre reagenslotene vises i Tabell 4 for plasma og Tabell 5 for serum. Resultatene av den laveste observerte konsentrasjonen som tilfredsstillte nøyaktighetsmålet (TE ≤ 1 log IU/ml og TAE ≤ 1 log IU/ml) med 100 % deteksjon, er skravert i begge tabellene og summert i Tabell 6.

Den beregnede LLoQ til WHO's 3. internasjonale standard for hepatitt B-virus, er 4,80 IU/ml for plasma og 6,34 IU/ml for serum, som er basert på den høyeste beregnede konsentrasjonen blant de tre reagenslotene. Fordi den beregnede LLoQ er lavere enn den beregnede LoD på 5,58 IU/ml, er LLoQ til plasma 5,58 IU/ml ved WHO's 3. internasjonale standard iht. EP 17-A2.

Tabell 4: Bestemmelse av LLoQ ved bruk av WHO's 3. internasjonale standard for HBV-fortynnet i plasma

Reagenslot	Målkonsentrasjon		Aptima HBV Quant	SD	Bias	Beregnet TE	Beregnet TAE
	(IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/ml)
1	7	0,85	0,63	0,27	0,22	0,75	0,75
	8	0,90	0,68	0,28	0,22	0,78	0,77
	9	0,95	0,79	0,25	0,17	0,70	0,66
2	7	0,85	0,48	0,20	0,37	0,57	0,77
	8	0,90	0,47	0,18	0,44	0,51	0,79
	9	0,95	0,61	0,19	0,34	0,54	0,73
3	7	0,85	0,53	0,21	0,32	0,59	0,74
	8	0,90	0,52	0,21	0,38	0,61	0,81
	9	0,95	0,70	0,23	0,25	0,65	0,71

SD=standardavvik

Tabell 5: Grensen for LLoQ ved bruk av WHO's 3. internasjonale standard for HBV-fortynnet i serum

Reagenslot	Målkonsentrasjon		Aptima HBV Quant	SD	Bias	Beregnet TE	Beregnet TAE
	(IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/ml)
1	7	0,85	0,77	0,38	0,08	1,06	0,83
	8	0,90	0,80	0,31	0,10	0,88	0,72
	9	0,95	0,91	0,27	0,05	0,77	0,59
2	7	0,85	0,57	0,20	0,28	0,57	0,68
	8	0,90	0,70	0,22	0,20	0,63	0,64
	9	0,95	0,69	0,23	0,27	0,66	0,73
3	7	0,85	0,65	0,24	0,20	0,67	0,67
	8	0,90	0,65	0,24	0,25	0,68	0,73
	9	0,95	0,67	0,22	0,28	0,63	0,73

SD=standardavvik

Tabell 6: Sammendrag av beregnet LLoQ ved bruk av WHO's 3. internasjonale standard for HBV

Reagenslot	Plasma LLoQ		Serum LLoQ	
	(log IU/ml)	(IU/ml)	(log IU/ml)	(IU/ml)
1	0,68	4,80	0,80	6,34
2	0,61	4,09	0,57	3,72
3	0,52	3,34	0,65	4,51

SD=standardavvik

Bestemmelse av den nedre kvantifiseringsgrensen på tvers av HBV-genotyper

LLoQ ble fastslått ved å teste fortyndinger av HBV positive kliniske prøver for genotypene A, B, C, D, E, F, G og H i HBV negativt humant plasma og serum. Minimum 36 replikater av hvert panel ble testet med hver av de to reagenslotene med minimum 72 replikater per panel. Resultatene fra reagenslotet med høyere konsentrasjon som tilfredsstillt nøyaktighetsmålet ($TE \leq 1 \log \text{ IU/ml}$ og $TAE \leq 1 \log \text{ IU/ml}$) med 100 % deteksjon, vises i Tabell 7 for plasma og Tabell 8 for serum. Resultatene av den laveste observerte konsentrasjonen som tilfredsstillt nøyaktighetsmålet med 100 % deteksjon, er skravert i begge tabellene og summert i Tabell 9. Det finnes et sammendrag i Tabell 9 med den beregnede LLoQ for genotypene A, B, C, D, E, F, G og H i plasma og serum. Disse fastslo den generelle LLoQ for assayet som 10 IU/ml.

Tabell 7: Bestemmelse av LLoQ på tvers av genotyper i plasma

Genotype	Målkonsentrasjon		Aptima HBV Quant	SD	Bias	Beregnet TE	Beregnet TAE
	(IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/ml)
A	7	0,85	0,86	0,71	0,02	2,01	1,44
	8	0,90	0,76	0,34	0,14	0,96	0,82
	9	0,95	0,95	0,27	0,01	0,76	0,55
B	7	0,85	0,85	0,36	0,01	1,01	0,72
	8	0,90	0,93	0,24	0,03	0,67	0,51
	9	0,95	0,94	0,23	0,01	0,64	0,46
C	7	0,85	0,62	0,22	0,23	0,62	0,67
	8	0,90	0,65	0,25	0,25	0,70	0,75
	9	0,95	0,70	0,21	0,26	0,59	0,67
D	8	0,90	0,47	0,19	0,43	0,53	0,81
	9	0,95	0,58	0,17	0,38	0,48	0,72
	10	1,00	0,64	0,24	0,36	0,69	0,85
E	7	0,85	0,59	0,19	0,25	0,53	0,63
	8	0,90	0,59	0,23	0,31	0,66	0,78
	9	0,95	0,68	0,28	0,27	0,80	0,83
F	7	0,85	0,92	0,26	0,07	0,74	0,59
	8	0,90	1,09	0,29	0,18	0,83	0,77
	9	0,95	1,04	0,31	0,09	0,89	0,72
G	7	0,85	0,81	0,27	0,04	0,75	0,57
	8	0,90	0,91	0,26	0,01	0,72	0,52
	9	0,95	0,83	0,26	0,12	0,74	0,64
H	7	0,85	0,65	0,25	0,19	0,71	0,69
	8	0,90	0,67	0,24	0,23	0,68	0,71
	9	0,95	0,62	0,21	0,33	0,59	0,75

SD=standardavvik

Tabell 8: Bestemmelse av LLoQ på tvers av genotyper i serum

Genotype	Målkonsentrasjon		Aptima HBV Quant	SD	Bias	Beregnet TE	Beregnet TAE
	(IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/ml)
A	7	0,85	0,67	0,28	0,18	0,79	0,74
	8	0,90	0,80	0,34	0,10	0,96	0,78
	9	0,95	0,83	0,26	0,12	0,74	0,65
B	7	0,85	0,56	0,19	0,29	0,54	0,67
	8	0,90	0,71	0,22	0,20	0,62	0,63
	9	0,95	0,59	0,21	0,36	0,59	0,78
C	7	0,85	0,64	0,27	0,20	0,77	0,75
	8	0,90	0,75	0,25	0,15	0,70	0,64
	9	0,95	0,79	0,21	0,16	0,58	0,57
D	8	0,90	0,42	0,14	0,48	0,40	0,76
	9	0,95	0,47	0,18	0,49	0,51	0,84
	10	1,00	0,60	0,23	0,40	0,64	0,85
E	7	0,85	0,56	0,24	0,29	0,69	0,78
	8	0,90	0,63	0,18	0,27	0,50	0,63
	9	0,95	0,67	0,25	0,28	0,70	0,78
F	7	0,85	0,88	0,21	0,03	0,60	0,46
	8	0,90	0,90	0,29	0,01	0,81	0,58
	9	0,95	0,98	0,24	0,02	0,67	0,49
G	7	0,85	0,82	0,24	0,03	0,67	0,50
	8	0,90	0,90	0,25	0,01	0,70	0,50
	9	0,95	1,01	0,23	0,05	0,64	0,51
H	8	0,90	0,69	0,29	0,21	0,81	0,78
	9	0,95	0,77	0,26	0,19	0,74	0,71
	10	1,00	0,78	0,28	0,22	0,80	0,79

SD=standardavvik

Tabell 9: Sammendrag av LLoQ på tvers av genotyper i plasma og serum

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

Reproduserbarhet

Et panel med 28 prøver ble dannet ved å forynne HBV positive klinisk prøver (genotype A og C) eller tilsette HBV DNA (genotype A og C) i HBV negativt plasma og serum. Dette ble brukt til å vurdere reproduserbarheten. Panelet ble testet av tre operatører som brukte tre reagensloter på tre Panther-systemer i løpet av 20 eller flere testdager.

Tabell 10 og Tabell 11 viser reproduserbarheten til assayresultatene (i log IU/ml) mellom instrumenter, mellom operatører, mellom loter, mellom kjøring, innen kjøring og totalt. Total variabilitet var hovedsakelig på grunn av innenfor kjøring-variabilitet (dvs. tilfeldig feil).

Tabell 10: Reproduserbarheten til Aptima HBV Quant Assay for genotype A

Matrise	N	Middels konsentrasjon (log IU/ml)	Inter-operatør		Inter-instrument		Inter-lot		Inter-kjøring		Intra-kjøring		Totalt	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Plasma	161	1,24	0,02	1,96	0,02	1,75	0,10	7,88	0,02	1,50	0,21	16,80	0,23	18,80
Plasma	162	1,97	0,01	0,75	0,01	0,71	0,08	3,84	0,02	0,76	0,14	7,36	0,17	8,40
Plasma	162	3,23	0,01	0,29	0,01	0,24	0,04	1,39	0,01	0,22	0,08	2,47	0,09	2,87
Plasma	162	4,14	0,03	0,76	0,01	0,28	0,04	0,90	0,01	0,15	0,06	1,38	0,08	1,84
Plasma	162	5,75	0,02	0,39	0,01	0,20	0,06	0,97	0,01	0,13	0,09	1,51	0,11	1,85
Plasma	162	6,98	0,05	0,79	0,03	0,48	0,06	0,91	0,01	0,11	0,09	1,35	0,13	1,87
Plasma	162	7,69	0,03	0,38	0,02	0,23	0,01	0,15	0,01	0,12	0,10	1,30	0,11	1,39
Serum	160	1,17	0,02	1,93	0,02	1,71	0,06	5,54	0,02	1,64	0,20	17,07	0,21	18,21
Serum	162	1,82	0,02	1,15	0,01	0,79	0,10	5,43	0,01	0,72	0,15	8,13	0,18	9,90
Serum	162	3,16	0,01	0,26	0,02	0,62	0,09	2,78	0,02	0,59	0,11	3,38	0,14	4,47
Serum	162	4,06	0,01	0,19	0,01	0,22	0,04	0,99	0,01	0,15	0,07	1,68	0,08	1,98
Serum	162	5,60	0,02	0,36	0,01	0,24	0,06	1,15	0,01	0,22	0,13	2,40	0,15	2,70
Serum	162	6,30	0,03	0,49	0,03	0,42	0,01	0,17	0,01	0,16	0,11	1,77	0,12	1,90
Serum	162	7,48	0,05	0,62	0,03	0,36	0,02	0,25	0,02	0,23	0,08	1,09	0,10	1,35

CV=variasjonskoeffisient, SD=standardavvik

Merk: Variabilitet fra noen faktorer kan være numerisk negative, noe som kan forekomme hvis variabiliteten som er forårsaket av disse faktorene, er svært liten. Når dette skjer, vises SD og CV som 0.

Tabell 11: Reproduserbarheten til Aptima HBV Quant Assay for genotype C

Matrise	N	Middels konsentrasjon (log IU/ml)	Inter-operatør		Inter-instrument		Inter-lot		Inter-kjøring		Intra-kjøring		Totalt	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Plasma	161	1,28	0,02	1,73	0,02	1,40	0,07	5,39	0,02	1,28	0,18	14,32	0,20	15,52
Plasma	162	1,98	0,02	0,79	0,01	0,68	0,08	4,02	0,01	0,61	0,14	6,91	0,16	8,08
Plasma	162	3,23	0,01	0,31	0,01	0,39	0,05	1,49	0,01	0,18	0,06	1,97	0,08	2,52
Plasma	162	4,13	0,01	0,18	0,01	0,29	0,04	0,90	0,01	0,15	0,07	1,69	0,08	1,95
Plasma	162	5,78	0,01	0,14	0,02	0,41	0,06	1,04	0,01	0,16	0,10	1,70	0,12	2,05
Plasma	162	6,83	0,01	0,20	0,03	0,42	0,03	0,42	0,01	0,08	0,06	0,93	0,08	1,13
Plasma	162	7,75	0,03	0,33	0,02	0,19	0,02	0,24	0,01	0,08	0,07	0,94	0,08	1,04
Serum	160	1,20	0,02	1,54	0,02	1,55	0,05	4,24	0,02	1,78	0,18	14,74	0,19	15,59
Serum	162	1,90	0,02	1,20	0,02	0,87	0,05	2,73	0,01	0,72	0,15	8,10	0,17	8,71
Serum	162	3,19	0,03	0,93	0,03	0,92	0,05	1,68	0,00	0,05	0,07	2,34	0,10	3,16
Serum	162	4,04	0,01	0,14	0,01	0,31	0,04	0,94	0,00	0,12	0,05	1,30	0,07	1,64
Serum	162	5,69	0,01	0,16	0,02	0,36	0,05	0,88	0,01	0,13	0,09	1,50	0,10	1,78
Serum	162	6,32	0,04	0,64	0,03	0,45	0,04	0,66	0,01	0,14	0,10	1,57	0,12	1,87
Serum	162	7,23	0,04	0,55	0,02	0,25	0,05	0,68	0,01	0,13	0,10	1,42	0,12	1,69

CV=variasjonskoeffisient, SD=standardavvik

Merk: Variabilitet fra noen faktorer kan være numerisk negative, noe som kan forekomme hvis variabiliteten som er forårsaket av disse faktorene, er svært liten. Når dette skjer, vises SD og CV som 0.

Potensielt forstyrrende stoffer

Mottakeligheten av Aptima HBV Quant Assay for forstyrrelser ved forhøyede nivåer av endogene stoffer eller av legemidler ofte foreskrevet for å HBV-infiserte personer ble evaluert. HBV negative plasmaprøver og prøver tilsatt HBV til en konsentrasjon på 4,3 log IU/ml av HBV DNA ble testet.

Ingen interferens i assayytelsen ble observert i nærvær av albumin (90 mg/ml), hemoglobin (5 mg/ml), triglycider (30 mg/ml), eller ukonjugert bilirubin (0,2 mg/ml).

Kliniske plasmaprøver fra pasienter med forhøyede nivåer av definerte stoffer eller fra pasienter med sykdommer opplistet i Tabell 12 ble testet med Aptima HBV Quant Assay. Ingen interferens i assayytelsen ble observert.

Tabell 12: Testede kliniske prøvetyper

Kliniske prøvetyper	
1	Antinukleært antistoff (ANA)
2	Revmatoid faktor (RF)
3	Alkoholisk levercirrhose (AC)
4	Alkoholisk hepatitt
5	Ikke-alkoholisk hepatitt
6	Autoimmun hepatitt
7	Forhøyet alaninaminotransferase (ALT)
8	Hepatocellulær karsinom (HCC)
9	Multipel sklerose (MS)
10	Systemisk lupus erythematosus (SLE)
11	Hyperglobulinemi
12	Revmatoid artritt (RA)
13	Anti-Jo1 antistoff (JO-1)
14	Multipel myelom (MM)
15	Hemolysert (forhøyet hemoglobin)
16	Ikterisk (forhøyet bilirubin)
17	Lipemisk (forhøyet lipid)
18	Forhøyet protein
19	HBV-antistoffer (vaksinert)
20	HCV-antistoffer
21	HIV-1- og HIV-2-antistoffer

Ingen interferens i ytelsen av assayet ble observert i nærvær av eksogene stoffer oppført i Tabell 13 med konsentrasjoner på minst tre ganger C_{maks} (humant plasma).

Tabell 13: Eksogene stoffer

Eksogene stoffer samlet	Eksogene stoffer testet
1	Saquinavir, ritonavir, amprenavir, indinavir, lopinavir, nelfinavir mesylat
2	Klaritromycin, valganciclovir hydroklorid, efavirenz, nevirapin
3	Paroksetin HCl, enfuvirtid, zidovudin, didanosin, abacavirsulfat
4	Ribavirin, entecavir, adefovir dipivoksil, tenofovir disoproksil fumarat, lamivudin, ganciclovir, acyclovir
5	Stavudin, ciprofloksacin, fluoksetin, azitromycin, valacyclovir, sertralin, zalcitabin
6	Interferon alfa-2a, interferon alfa-2b, pegylert interferon alfa-2b

Spesifisitet

Spesifisitet ble bestemt med 292 friske og 747 frosne HBV negative kliniske prøver. Totalt 521 plasmaprøver og 518 serumprøver ble testet. Spesifisiteten ble beregnet som prosentdel av HBV-negative prøver med resultatene "Ikke detektert". HBV DNA ble ikke detektert i 1038 prøver. Spesifisiteten var 99,9 % (1038/1039, 95 % KI: 99,5-100 %).

Tabell 14: Spesifisitet i plasma og serum kliniske prøver

	Frisk plasma	Frossen plasma	Plasma totalt	Frisk serum	Frossen serum	Serum totalt	Kombinert
Gyldige replikater (n)	145	376	521	147	371	518	1 039
Ikke detektert	145	376	521	147	370	517	1 038
Spesifisitet (95 % 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=konfidensintervall

Analytisk spesifisitet

Potensiell kryssreaktivitet av patogenene oppført i Tabell 15 var evaluert i HBV negativt humant plasma i nærvær eller fravær av 4,3 log IU/ml HBV DNA. Ingen kryssreaktivitet eller interferens ble observert i bakterielt kontaminert plasma eller i prøver fra personer som var infisert med andre blodbårne patogener eller som hadde fått HBV- og influensavaksiner.

Tabell 15: Patogener testet for analytisk spesifisitet

Mikroorganisme/patogen	Kilde	Mikroorganisme/patogen	Kilde
Hepatitt C-virus	Klinisk prøve	Humant herpesvirus type 8	Kulturvæske
Hepatitt A-virus	Klinisk prøve	Japansk encefalittvirus	Ascitisk væske
HBV-vaksinert	Klinisk prøve	Murray Valley encefalittvirus	Cellelysat
HIV-1 og -2	Klinisk prøve	St. Louis encefalittvirus	Kulturvæske
Humant T-celle lymfotropisk virus type 1 og 2	Klinisk prøve	Vacciniavirus	Cellelysat
Parvovirus B19	Klinisk prøve	Gulfebervirus	Kulturvæske
Cytomegalovirus	Klinisk prøve	<i>Candida albicans</i>	Kultur
Denguevirus type1-4	Klinisk prøve	<i>Chlamydia trachomatis</i>	Kultur
Epstein-Barr-virus	Klinisk prøve	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	Kultur
Vaksinert mot influensa	Klinisk prøve	<i>Mycobacterium gordonae</i>	Kultur
Humant papillomavirus	Klinisk prøve	<i>Mycobacterium smegmatis</i>	Kultur
Herpes Simplex Virus 1 og 2	Klinisk prøve	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Kultur
Rubella-virus	Klinisk prøve	<i>Propionibacterium acnes</i>	Kultur
Varicella zoster-virus	Klinisk prøve	<i>Staphylococcus aureus</i>	Kultur
Vestnilvirus	Klinisk prøve	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Kultur
BK humant polyomavirus	Cellelysat	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Kultur
Humant herpesvirus 6B	Kulturvæske	<i>Trichomonas vaginalis</i>	Kultur

Repeterbarhet ved kliniske prøver

Repeterbarhet ble evaluert ved å teste tre replikater av naturlig infisert HBV positive plasma og serum kliniske prøver. Gjennomsnittlig konsentrasjon og standardavvik for plasma- og serumprøvene som ble testet, vises i henholdsvis Tabeller 16 og 17.

Tabell 16: Repeterbarhet ved kliniske plasmaprøver

Plasmaprøve	Gjennomsnittlig konsentrasjon (log IU/ml)	SD
1	2,08	0,09
2	2,98	0,01
3	2,45	0,09
4	2,32	0,06
5	2,58	0,08
6	3,60	0,06
7	3,45	0,04
8	3,95	0,04
9	3,81	0,05
10	4,26	0,03
11	5,65	0,07
12	6,32	0,06
13	6,79	0,06
14	7,40	0,05
15	8,17	0,02

SD=standardavvik

Tabell 17: Repeterbarhet ved kliniske serumprøver

Serumprøve	Gjennomsnittlig konsentrasjon (log IU/ml)	SD
1	1,93	0,17
2	2,29	0,09
3	2,78	0,05
4	1,98	0,06
5	2,53	0,07
6	3,53	0,06
7	3,38	0,03
8	3,77	0,02
9	3,45	0,17
10	4,26	0,04
11	6,31	0,02
12	5,45	0,04
13	5,74	0,08
14	7,44	0,04
15	8,47	0,03

SD=standardavvik

Prøvefortynning med prøvefortynningsmiddel

For å vurdere gjenvinning av HBV DNA i prøver fortynnet med Aptima-prøvefortynningsmiddel, ble plasma- og serumprøver som spredte seg over det lineære området fortynnet i forholdet 1:3 med Aptima-prøvefortynningsmiddel. I tillegg ble høy-titer naturlig infiserte kliniske prøver og HBV DNA-tilsatte prøver med konsentrasjoner over ULoQ, fortynnet i forholdet 1:100 med Aptima-prøvefortynningsmiddel. Hver prøve ble testet ufortynnet og fortynnet (1:3 eller 1:100) tre ganger. Forskjellene mellom den gjennomsnittlige rapporterte konsentrasjonen (fortynningsfaktor tilsatt det fortynnete prøveresultatet) og gjennomsnittlig ufortynnet konsentrasjon vises i Tabell 18 for plasma og Tabell 19 for serum. Prøvekonsentrasjonene ble nøyaktig gjenopprettet i de fortynnete prøvene.

Tabell 18: Prøvefortynning med Aptima-prøvefortynningsmiddel i plasma

Fortynning	Gjennomsnittlig ufortynnet konsentrasjon (log IU/ml)	Gjennomsnittlig rapportert konsentrasjon ^a (log IU/ml)	Differanse (log IU/ml)
1:3	2,08	1,71	-0,37
	2,98	3,02	0,04
	2,45	2,30	-0,15
	2,32	2,06	-0,26
	2,58	2,46	-0,12
	3,60	3,62	0,02
	3,45	3,36	-0,09
	3,95	3,91	-0,04
	3,81	3,72	-0,09
	4,26	4,24	-0,02
	5,65	5,50	-0,15
	6,32	6,08	-0,24
	6,79	6,40	-0,39
	7,40	7,06	-0,34
8,17	8,05	-0,12	
1:100	8,17	7,82	-0,35
	>9,00 ^b (10,20 ^c)	10,40	0,20

^a Rapportert konsentrasjon er verdien som beregnes etter at fortynningsfaktoren har blitt brukt.

^b Anriket prøve.

^c Målkonsentrasjonsverdi som ligger over ULoQ.

Tabell 19: Prøvefortynning med Aptima-prøvefortynningsmiddel i serum

Fortynning	Gjennomsnittlig ufortynnet konsentrasjon (log IU/ml)	Gjennomsnittlig rapportert konsentrasjon ^a (log IU/ml)	Differanse (log IU/ml)
1:3	1,93	1,50	-0,43
	2,29	2,00	-0,29
	2,78	2,45	-0,33
	1,98	1,50	-0,48
	2,53	2,23	-0,30
	3,53	3,59	0,06
	3,38	3,21	-0,17
	3,77	3,68	-0,09
	3,45	3,35	-0,10
	4,26	4,16	-0,10
	6,31	5,98	-0,33
	5,45	5,24	-0,21
	5,74	5,62	-0,12
	7,44	7,19	-0,25
8,47	8,31	-0,16	
1:100	8,47	8,19	-0,28
	>9,00 ^b (10,20 ^c)	10,43	0,23

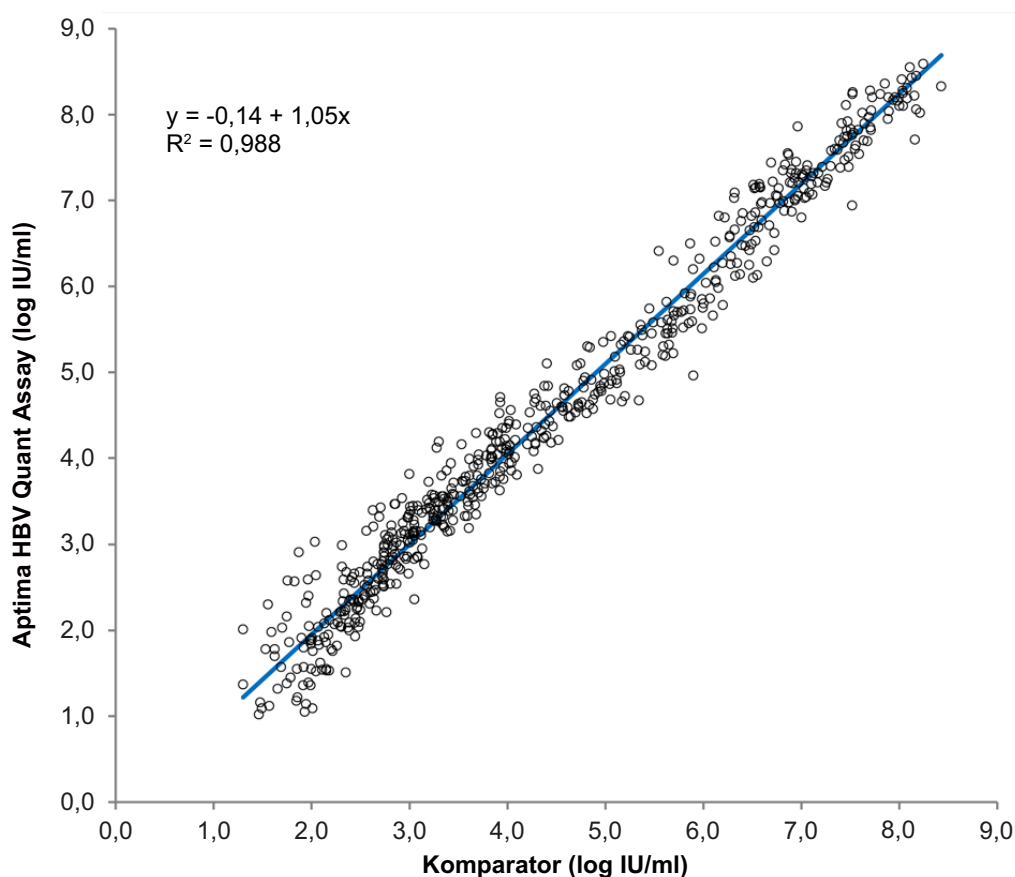
^a Rapportert konsentrasjon er verdien som beregnes etter at fortynningsfaktoren har blitt brukt.

^b Anriket prøve.

^c Målkonsentrasjonsverdi som ligger over ULoQ.

Metodekorrelasjon

Ytelsen til Aptima HBV Quant Assay ble vurdert mot en CE-merket og en Health Canada lisensiert Komparatorassay ved å teste fortynnede kliniske prøver fra HBV-infiserte pasienter. Til sammen 614 kliniske prøver innenfor det lineære området som er felles for begge assayene, ble bruk til lineær regresjon som vist i Figur 8.



Figur 8. Korrelasjon mellom Aptima HBV Quant Assay og komparatorassay

Overføring

For å fastslå at Panther-systemet minimerer risikoen for falske positive resultatet fra overføringskontaminering, ble det utført en studie med tilsatte paneler på tre Panther-systemer. Overføringen ble vurdert med høy titer HBV DNA tilsatt plasmaprøver (8 log IU/ml) innsatt mellom HBV negative prøver i et sjakkbrettmønster. Testingen ble utført over femten kjøring. Den totale overføringsfrekvensen var 0,0 % (0/705).

Bibliografi

1. **Lok AS, McMahon BJ.** AASLD Practice Guideline Update. Chronic Hepatitis B: Update 2009. *Hepatology*. 2009; 50(3):661-662;1-36.
2. **Aspinall EJ, Hawkins G, Fraser A, Hutchinson SJ, Goldberg D.** Hepatitis B prevention, diagnosis, treatment and care: a review. *Occupational Medicine* 2011; 61(8):531-540.
3. **Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health.** Early Identification and Linkage to Care of Persons with Chronic Hepatitis B Virus Infection - Three U.S. Sites, 2012-2014. May 9, 2014, 63(18);399-401.
4. **Liaw YF, Chu CM.** Hepatitis B virus infection. *Lancet*. 2009;373(9663):582-92.
5. **European Association for the Study of the Liver.** EASL Clinical Practice Guidelines: Management of chronic hepatitis B virus infection. *Journal of Hepatology* 2012; 57:167-185.
6. **International Agency for Research on Cancer.** Hepatitis B Virus. IARC Monographs 2012; 100B: 93-133.
7. **Price, J.** An Update on Hepatitis B, D, and E Viruses. *Topics in Antiviral Medicine* 2014; 21(5): 157-163.
8. **Clinical and Laboratory Standards Institute.** 2005. Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods; Approved Guideline. CLSI Document MM13-A. Wayne, PA.
9. **29 CFR Part 1910.1030.** Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens; current version.
10. **Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health.** Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL); current version.
11. **Clinical and Laboratory Standards Institute.** 2002. Clinical Laboratory Waste Management. CLSI Document GP5-A2. Villanova, PA.
12. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2012. Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline—Second Edition. CLSI Document EP17-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
13. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2003. Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline. CLSI document EP06-A. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.



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

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

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

Gå til www.hologic.com for å finne mer kontaktinformasjon.



Hologic N.V.
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

Hologic, Aptima og Panther er varemerker og/eller registrerte varemerker for Hologic, Inc. og/eller dattereselskaper i USA og/eller andre land. Alle andre varemerker som kan forekomme i dette pakningsinnlegget er eiendom til sine respektive eiere.

Dette produktet kan være dekket av ett eller flere patenter i USA, som identifiseres på www.hologic.com/patents.

© 2016-2018 Hologic, Inc. Med enerett.
AW-13182-1801 rev. 005
2018-09