

Test Aptima™ HBV Quant

Len na diagnostické použitie *in vitro*.

Len pre U.S. export.

Všeobecné informácie	2
Určené použitie	2
Zhrnutie a vysvetlenie testu	2
Zásady procedúry	3
Upozornenia a opatrenia	3
Požiadavky na skladovanie a manipuláciu s reagensiou	6
Odber vzoriek a skladovanie	7
Vzorky v systéme Panther	10
Preprava preparátov	10
Systém Panther	11
Poskytnuté reagensie a materiály	11
Nutné materiály dostupné samostatne	13
Voliteľné materiály	14
Postup testovania systému Panther	14
Poznámky k postupu	18
Kontrola kvality	19
Kalibrácia testu	19
Negatívne a pozitívne kontroly	19
Interný kalibrátor/interná kontrola	19
Interpretácia výsledkov	20
Obmedzenia	20
Výkon	21
Limit detekcie podľa 3. medzinárodného štandardu WHO	21
Limit detekcie u rôznych genotypov HBV	22
Lineárny rozsah	23
Linearita u rôznych genotypov HBV	24
Spodný limit kvantifikácie podľa 3. medzinárodného štandardu WHO	24
Stanovenie spodného limitu kvantifikácie u rôznych genotypov HBV	26
Reprodukovateľnosť	28
Potenciálne interferujúce látky	30
Špecifická	31
Analytická špecifická	32
Opakovateľnosť klinických vzoriek	33
Riedenie vzorky pomocou riediaceho prípravku na vzorky	34
Korelácia metód	36
Prenos	36
Literatúra	37

Všeobecné informácie

Určené použitie

Test Aptima HBV Quant je *in vitro* test založený na amplifikácii nukleových kyselín na kvantifikáciu DNA vírusu hepatitídy B (HBV) vo vzorkách ľudskej plazmy a séra na plne automatizovanom systéme Panther™.

Plazmu je možné pripraviť pomocou kyseliny etyléndiamíntetraoctovej (EDTA), antikoagulačného roztoku citrátovanej dextrózy (ACD) a skúmaviek na prípravu plazmy (PPT). Sérum je možné pripraviť v skúmavkách na sérum a skúmavkách na separáciu séra (SST). Vzorky sa testujú pomocou plne automatizovaného systému Panther®, ktorý zaisťuje spracovanie, amplifikáciu a kvantifikáciu vzoriek. Vzorky obsahujúce HBV genotypy A, B, C, D, E, F, G a H sú validované na kvantifikáciu v teste.

Test Aptima HBV Quant je určený na použitie ako pomôcka na liečbu pacientov s chronickými HBV infekciami podstupujúcich terapiu HBV antivirotikami. Test je možné použiť na stanovenie hladiny HBV DNA vo východiskovej úrovni a v priebehu liečby ako pomôcky pri hodnotení vírusovej odpovede na liečbu. Výsledky testu Aptima HBV Quant je nutné interpretovať v kontexte všetkých relevantných klinických a laboratórných zistení.

Test Aptima HBV Quant nie je určený na použitie ako screeningový test v krvi alebo krvných produktoch pre HBV ani ako diagnostický test na potvrdenie prítomnosti HBV infekcie.

Zhrnutie a vysvetlenie testu

Vírus hepatitídy B (HBV) je jedným z niekoľkých vírusov, ktoré spôsobujú hepatitídu. Vedie k celoživotnej infekcii HBV, cirhóze pečene, rakovine pečene, zlyhaniu pečene a potenciálnej smrti. Svetová zdravotnícka organizácia (WHO) uvádza HBV ako jednu z najčastejších infekčných chorôb na svete. Prevalencia HBV infekcie a metóda prenosu sa vo svete významne líšia. Asi jedna tretina celosvetovej populácie má sérologické známky minulej alebo aktuálnej HBV infekcie, chronická HBV infekcia sa vyskytuje u viac než 350 miliónov ľudí na celom svete.^{1,2,3} HBV infekcia je spojená so zvýšeným rizikom dekompenzácie hepatitídy, cirhózy a hepatocelulárneho karcinómu (HCC) s mortalitou na úrovni 0,5 až 1,2 miliónov úmrtí ročne a je zodpovedná za 5 % – 10 % prípadov transplantácie pečene po svete.^{4,5} Bez adekvátnej liečby, intervencie a sledovania po stanovení diagnózy dosahuje kumulatívna incidencia cirhózy po 5 rokoch 8 % až 20 %. Po rozvoji cirhózy je ročné riziko hepatocelulárneho karcinómu (HCC) 2 % až 5 %.⁶

HBV obsahuje genóm na cirkulárnej čiastočne dvojláčkovej DNA s približne 3 200 párami báz, ktoré kódujú štyri čiastočne sa prekrývajúce otvorené čítacie rámce (ORF) exprimujúce polymerázu, povrchové, precore/core a X proteíny. ORF polymerázy prekrýva ďalšie 3 ORF a kóduje kľúčový vírusový replikačný proteín, polymerázu. Povrchový ORF exprimuje tri proteíny, ktoré sú zásadné pre morfogézu vírusu, vstup vírusu do hepatocytov a provokáciu imunitnej odpovede u hostiteľa.⁷ Existuje 8 HBV genotypov (A – H) a typicky sa vyskytujú na špecifických geografických lokalitách. V súčasnosti sa používa kvantifikácia HBV DNA na určenie pacientov s chronickou infekciou vyžadujúcich liečbu, sledovanie odpovedi na terapiu a hodnotenie reboundu vírusovej nálože, čo môže svedčiť pre rezistenciu voči liečivám.⁵

Test Aptima HBV Quant je *in vitro* test založený na amplifikácii nukleových kyselín, ktorý používa technológiu amplifikácie mediovanej transkripciou (TMA) v reálnom čase na systéme Panther na kvantifikáciu HBV DNA, génotypov A, B, C, D, E, F, G a H. Test Aptima HBV Quant je zameraný na dve vysokokonzervované oblasti v génoch pre polymerázu a povrchové proteíny (s cieľom dosiahnuť vyššiu toleranciu voči potenciálnym mutáciám). Test je štandardizovaný podľa 3. medzinárodnej normy WHO pre vírus hepatitídy B (kód NIBSC: 10/264).

Zásady procedúry

Test Aptima HBV Quant pozostáva z troch hlavných krokov, ktoré všetky prebiehajú v jednej skúmavke v systéme Panther: záchyt cieľa, amplifikácia cieľa pomocou TMA a detekcia produktov amplifikácie (amplikónov) fluorescenčne značenými sondami (torches).

V priebehu záchytu cieľa sa zo vzoriek izoluje vírusová DNA. Preparát je ošetrený detergentom, aby sa solubilizoval obal vírusu, denaturovali proteíny a uvoľnila genómová DNA vírusu. Zachytené oligonukleotidy hybridizujú do vysoko konzervovaných oblastí HBV DNA (ak sú prítomné) v testovanej vzorke. Hybridizovaný cieľ sa potom zachytí na magnetické mikročastice, ktoré sú oddelené z preparátu v magnetickom poli. Na odstránenie cudzorodých komponentov z reakčnej skúmavky sa použijú kroky premývania.

Cieľová amplifikácia nastane prostredníctvom metódy TMA, čo je metóda amplifikácie kyseliny nukleovej mediovaná transkripciou, kde sa používajú dva enzýmy, reverzná transkriptáza MMLV z myšieho leukemického vírusu Moloney (MMLV) a T7 RNA polymeráza. Reverzná transkriptáza sa používa na získanie kópie DNA (obsahujúcej promotorovú sekvenciu pre T7 RNA polymerázu) cieľovej sekvencie. T7 RNA polymeráza produkuje viac kópií RNA amplikónu z templátu DNA kópie. Test Aptima HBV Quant používa metódu TMA na amplifikáciu dvoch oblastí HBV genómu (gén pre polymerázu a gén pre povrchové proteíny). Amplifikácia týchto oblastí je dosiahnutá pomocou špecifických primerov navrhnutých na amplifikáciu HBV genotypov A, B, C, D, E, F, G a H. Prístup s duálnou cieľovou oblasťou s primerom zameraným na vysoko konzervované oblasti zaisťuje presnú kvantifikáciu HBV DNA.


Detekcia je dosiahnutá pomocou horákov z jednovláknovej nukleovej kyseliny, ktoré sú prítomné v priebehu amplifikácie cieľa a hybridizujú špecificky na amplikón v reálnom čase. Každý horák má fluorofóru a zhášadlo. Ak horák nie je hybridizovaný na amplikón, zhášadlo je v tesnej blízkosti fluorofóru a potlačí fluorescenciu. Keď sa horák naviaže na amplikón, zhášadlo sa presunie do väčšej vzdialenosti od fluorofóru a bude po excitácii svetelným zdrojom vydávať signál o špecifickej vlnovej dĺžke. S hybridizáciou ďalších horákov na amplikón vznikne vyšší fluorescenčný signál. Doba, než fluorescenčný signál dosiahne špecifikovaného prahu, je úmerná počiatkovej koncentrácii HBV. Každá reakcia má interný kalibrátor/internú kontrolu (IC) slúžiacu na kontrolu variácií v spracovaní vzorky, amplifikácii a detekcii. Koncentrácia vzorky je stanovená pomocou softvéru systému Panther na základe HBV a IC signálov pre každú reakciu a ich porovnaní s kalibračnými informáciami.

Upozornenia a opatrenia

- A. Iba na účely diagnostiky *in vitro*.
- B. Pred vykonaním tohto testu si pozorne prečítajte celý príbalový leták a *prevádzkovú príručku systému Procleix Panther*, aby ste znížili riziko neplatných výsledkov.
- C. qHBV Cieľová posilňovacia reagentia (TER) je korozívna. Úplný zoznam varovaní uvádza časť Pozri „Súvisiace s testom“ na strane 5.



Súvisiace s laboratóriom

-  D. UPOZORNENIE: Kontroly pre tento test obsahujú ľudskú plazmu. Plazma je podľa testovania postupmi licencovanými Úradom pre kontrolu potravín a liečiv USA negatívna na povrchový antigén hepatitídy B (HBsAg), protilátky proti HCV, protilátky proti HIV-1 a HIV-2 a HIV antigén. Okrem toho je plazma areaktívna voči HBV DNA, HCV RNA a HIV-1 RNA pri testovaní licencovanými testami nukleových kyselín za použitia spojených vzoriek. Všetok materiál pochádzajúci z ľudskej krvi je nutné považovať za potenciálne infekčný a pri práci s ním je nutné dodržiavať univerzálne bezpečnostné opatrenia.^{8,9,10}
- E. Tento postup smie vykonávať len personál adekvátne vyškolený v práci s testom Aptima HBV Quant a v manipulácii s potenciálne infekčnými materiálmi. Ak dôjde k vyliatiu, okamžite miesto vydezinfikujte pomocou príslušných postupov pracoviska.
- F. Používajte iba dodané alebo špecifikované jednorazové laboratórne pomôcky.
- G. Použite rutinné laboratórne opatrenia. Nepipetujte ústami. Vo vyhradených pracovných oblastiach nejedzte, nepite ani nefajčite. Pri manipulácii so vzorkami a súpravami reagensí používajte jednorazové, bezprašné rukavice, ochranné okuliare a laboratórne plášte. Po manipulácii so vzorkami a súpravami reagensí si dôkladne umyte ruky.
- H. Pracovné plochy, pipety a iné zariadenia sa musia pravidelne dekontaminovať 2,5 % až 3,5 % (0,35 M až 0,5 M) roztokom chlórnanu sodného.
- I. Všetky materiály, ktoré sa dostali do kontaktu s preparátmi a reagensiami, zlikvidujte v súlade s miestnymi, štátnymi a federálnymi predpismi.^{8,9,10,11} Všetky pracovné plochy dôkladne očistite a vydezinfikujte.
- J. Kontroly obsahujú azid sodný ako konzervačné činidlo. Na prenos reagensí nepoužívajte kovové skúmavky. Ak roztoky obsahujúce zlúčeniny azidu sodného likvidujete vo vodovodnom systéme, musia byť zriedené a spláchnuté hojným množstvom tečúcej vody. Tieto bezpečnostné opatrenia sa odporúčajú, aby sa zabránilo nahromadeniu usadenín v kovových potrubíach, kde by mohli vzniknúť výbušné podmienky.
- K. Zásady dobrej praxe pre molekulárne laboratóriá zahŕňajú sledovanie prostredia. Pri sledovaní laboratórneho prostredia odporúčame nasledujúci postup:
1. Zoberte si vatovú tyčinku a spárujte ju s alikvotáčnou skúmavkou na vzorky Aptima (SAT).
 2. Príslušným spôsobom označte každú SAT.
 3. Naplňte každú SAT 1 ml riediaceho prípravku na vzorky Aptima.
 4. Pred zberom povrchových vzoriek zľahka navlhčite vatovú tyčinku deionizovanou vodou bez obsahu nukleázy.
 5. Otrite požadovaný povrch vertikálnym pohybom zhora nadol. Pri otieraní lokality otočte tyčinku približne o polovicu otočky.
 6. Okamžite vložte vzorku na vatovej tyčinke do skúmavky a jemne tyčinku premiešajte vírením v riediacom prípravku, aby ste extrahovali potenciálne oteré materiály. Pritlačte vatovú tyčinku o bočnú stranu prepravnej skúmavky a vyextrahujte čo najviac tekutiny. Zlikvidujte vatovú tyčinku a zatvorte skúmavku viečkom.
 7. Zopakujte kroky u zostávajúcich sterových vzoriek.
 8. Otestujte sterový materiál molekulárnym testom.

Súvisiace so vzorkami

- L. Vzorky môžu byť infekčné. Pri vykonávaní tohto testu použite univerzálne opatrenia^{8,9,10}. Správne metódy manipulácie a likvidácie nájdete v miestnych predpisoch.¹¹ Tento postup smie vykonávať len personál adekvátne vyškolený v práci s testom Aptima HBV Quant a v manipulácii s potenciálne infekčnými materiálmi.
- M. Počas prepravy zachovajte príslušné podmienky na uchovávanie, aby ste zaistili integritu preparátu. Stabilita preparátov za prepravných podmienok iných, ako sú odporúčané, nebola hodnotená.
- N. Počas manipulácie so vzorkami sa vyhnite krížovej kontaminácii. Zvláštnu pozornosť venujte prevencii šírenia kontaminácie formou aerosólu pri uvoľňovaní alebo odstraňovaní viečok zo vzoriek. Preparáty môžu obsahovať extrémne vysoké hladiny organizmov. Uistite sa, že nádoby na vzorky sa navzájom nedotýkajú a použité materiály zlikvidujte bez toho, aby prešli cez otvorené nádoby. Vymeňte si rukavice, ak sa dostanú do kontaktu so vzorkou.

Súvisiace s testom

- O. Nepoužívajte súpravu reagensí, kalibrátor ani kontroly po dátume expirácie.
- P. Nezamieňajte, nemiešajte ani nekombinujte reagenty zo súprav s rôznymi číslami hlavnej šarže. Testové kvapaliny môžu pochádzať z rôznych šarží. Kontroly a kalibrátor môžu pochádzať z rôznych šarží.
- Q. Zabráňte kontaminácii reagensí mikróbmi a nukleázami.
- R. Uzavrite a uložte všetky reagenty na rozbor pri špecifikovaných teplotách. Výkonnosť rozboru môže byť ovplyvnená použitím nesprávne uskladnených reagensí na rozbor. Viac informácií nájdete v časti *Požiadavky na skladovanie a manipuláciu s reagentmi a Postup testovania systému Panther*.
- S. Žiadne reagenty na rozbor ani kvapaliny nekombinujte bez konkrétnych pokynov. Reagenty ani kvapaliny nedolievajte. Systém Panther overuje hladiny reagensí.
- T. Zabráňte kontaktu cieľovej posilňovacej reagenty s pokožkou, očami a sliznicami. Ak dôjde ku kontaktu s touto reagentou, umyte vodou. Ak dôjde k vyliatiu tejto reagenty, zriedte vodou a postupujte podľa príslušných postupov pre vaše pracovisko.
- U. Niektoré reagenty tejto súpravy sú označené rizikovými a bezpečnostnými symbolmi.

Poznámka: Oznamenie o nebezpečenstve odráža klasifikáciu bezpečnostných údajov EÚ (SDS). Informácie o oznámeniach o nebezpečenstve, ktoré sú špecifické pre váš región, nájdete v SDS pre jednotlivé regióny v knižnici bezpečnostných údajov na adrese www.hologicsds.com.

**Kontroly súpravy HBV VL**

Azid sodný 0,2 %
Ľudské sérum 95 % – 100 %

**VAROVANIE**

H312 – Škodlivý pri kontakte s pokožkou
H412 – Škodlivý pre vodné organizmy, s dlhodobými účinkami
P273 – Zabráňte uvoľneniu do životného prostredia
P280 – Noste ochranné rukavice/ochranné oblečenie/ochranné okuliare/ochranu tváre

**Cieľová posilňovacia reagentia****Hydroxid lítny, monohydrát 5 % – 10 %****NEBEZPEČENSTVO**

H302 – Škodlivý po požití

H314 – Spôsobuje vážne poleptanie kože a poškodenie očí

P260 – Nevdychujte prach/dym/plyn/hmlu/pary/aerosóly

P280 – Noste ochranné rukavice/ochranné oblečenie/ochranné okuliare/ochranu tváre

P303 + P361 + P353 – PRI KONTAKTE S POKOŽKOU (alebo vlasmi): Všetky kontaminované časti odevu okamžite vyzlečte. Pokožku opláchnite vodou/sprchou

P305 + P351 + P338 – PO ZASIAHNUTÍ OČÍ: Niekoľko minút ich opatrne vyplachujte vodou. Ak používate kontaktné šošovky a ak je to možné, odstráňte ich. Pokračujte vo vyplachovaní.

P310 – Okamžite volajte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÉ CENTRUM/lekára.

Požiadavky na skladovanie a manipuláciu s reagentiou

- A. Nasledujúca tabuľka uvádza podmienky skladovania a stability pre reagentie, kontroly a kalibrátor.

Reagentia	Uskladnenie neotvorených balení	Otvorená súprava (rekonštituovaná)	
		Skladovanie	Stabilita
Amplifikačná reagentia qHBV	2 °C až 8 °C		
Rekonštitučný roztok na amplifikáciu qHBV	2 °C až 8 °C	2 °C až 8 °C	30 dní ^a
Enzymatická reagentia qHBV	2 °C až 8 °C		
Enzymatický rekonštitučný roztok na qHBV	2 °C až 8 °C	2 °C až 8 °C	30 dní ^a
Aktivačná reagentia qHBV	2 °C až 8 °C		
Aktivačný rekonštitučný roztok na qHBV	2 °C až 8 °C	2 °C až 8 °C	30 dní ^a
Cieľová záchytná reagentia qHBV	2 °C až 8 °C	2 °C až 8 °C	30 dní ^a
qHBV PCAL (pozitívny kalibrátor)	-15 °C až -35 °C	15 °C až 30 °C	Jednorázová ampulka Použiť do 24 hodín
qHBV NC CONTROL – (negatívna kontrola)	-15 °C až -35 °C	15 °C až 30 °C	Jednorázová ampulka Použiť do 24 hodín
qHBV LPC CONTROL + (nízka pozitívna kontrola)	-15 °C až -35 °C	15 °C až 30 °C	Jednorázová ampulka Použiť do 24 hodín
qHBV HPC CONTROL + (vysoká pozitívna kontrola)	-15 °C až -35 °C	15 °C až 30 °C	Jednorázová ampulka Použiť do 24 hodín
Cieľová posilňovacia reagentia qHBV	15 °C až 30 °C	15 °C až 30 °C	30 dní ^a

^a Po odstránení zo systému Panther je nutné reagentie ihneď vrátiť do príslušných skladovacích teplôt.

- B. Nepoužitá rekonštituovaná reagentia, cieľovú záchytnú reagentiu (TCR) a cieľovú posilňovaciu reagentiu (TER) zlikvidujte po 30 dňoch alebo po dátume expirácie šarže matrice, podľa toho, čo nastane skôr.
- C. Reagentie uchovávané v systéme Panther majú stabilitu v prístroji 72 hodín. Reagentie je možné vložiť do systému Panther až 5-krát. Systém Panther zapisuje každé vloženie reagentií do protokolov.
- D. Po rozmrazení kalibrátora musí byť roztok priehľadný, tzn. nie zakalený a bez precipitátov.

- ⚠ E. Aktivačná reagentia a rekonštituovaná aktivačná reagentia sú fotosenzitívne. Počas uskladnenia a prípravy na použitie chráňte tieto reagentie pred svetlom.
- F. Cieľová posilňovacia reagentia qHBV musí mať pred použitím teplotu 15 °C až 30 °C.

Odber vzoriek a skladovanie

Poznámka: So všetkými preparátmi zaobchádzajte tak, ako keby obsahovali potenciálne infekčné činitele. Používajte univerzálne bezpečnostné opatrenia.

Poznámka: Pri manipulácii so vzorkami je nutné predísť krížovej kontaminácii. Napríklad, použitý materiál zlikvidujte bez toho, aby ste prechádzali ponad otvorené skúmavky.

Poznámka: Na skladovanie odporúčame iba plastové sekundárne skúmavky.

Je možné použiť vzorky plnej krvi odobrané do nasledujúcich sklenených alebo plastových skúmaviek:

- Skúmavky obsahujúce antikoagulačné prípravky EDTA alebo ACD
- Skúmavky na prípravu plazmy (PPT)
- Sérové skúmavky
- Skúmavky na separáciu séra (SST)

U séra ponechajte pred ďalším spracovaním vytvoriť zrazeninu.

A. Odber vzoriek

Plnú krv je možné skladovať pri teplote 2 °C až 30 °C a je nutné ju centrifugovať do 24 hodín od odberu vzoriek. Separujte plazmu alebo sérum od peletovaných erytrocytov podľa pokynov výrobcu použitej skúmavky. Plazmu alebo sérum je možné otestovať v systéme Panther v primárnej skúmavke alebo preniesť do sekundárnej skúmavky, ako napr. skúmavka na alikvotáciu vzoriek Aptima. Minimálny objem plazmy alebo séra v primárnych odberových skúmavkách je až 1 200 µl a v sekundárnych skúmavkách je minimálny objem 700 µl, aby ste získali reakčný objem 500 µl. Nasledujúca tabuľka identifikuje požiadavky na mŕtvy objem pre každý typ primárnej a sekundárnej skúmavky.

Skúmavka (veľkosť a typ)	Mŕtvy objem na systéme Panther
Alikvotačná skúmavka vzorky Aptima (SAT)	0,2 ml
12 x 75 mm	0,5 ml
13 x 100 mm	0,5 ml
13 x 100 mm s géloom	0,3 ml
16 x 100 mm s géloom	0,7 ml

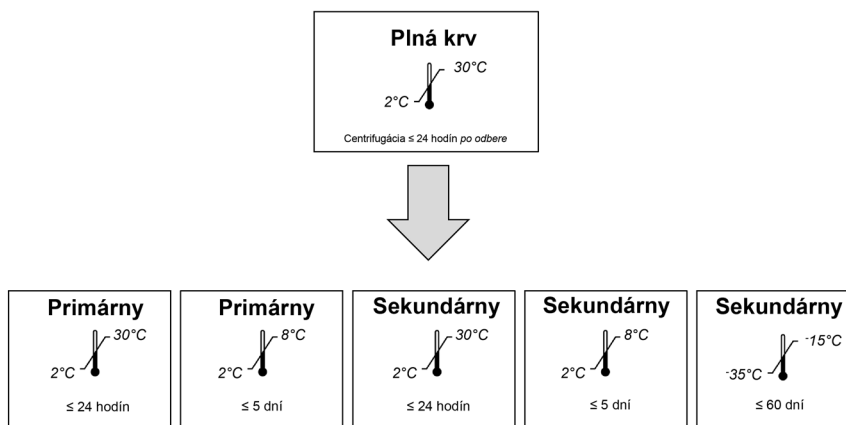
Ak nevykonáte testovanie ihneď, plazmu a sérum je možné skladovať v súlade so špecifikáciami nižšie. Pri prenose do sekundárnej skúmavky je možné plazmu alebo sérum zmraziť na teplotu –20 °C. Neprekračujte 3 cykly zmrazenia-rozmrazenia. Nezmrázajte vzorky v EDTA, ACD alebo sérových primárnych odberových skúmavkách.

B. Podmienky pre odber vzoriek

1. Vzorky plazmy s EDTA a ACD

Plnú krv je možné skladovať pri teplote 2 °C až 30 °C a je nutné ju centrifugovať do 24 hodín od odberu vzoriek. Plazmu je možné následne uchovávať v jednom z nasledujúcich prostredí:

- V primárnej odberovej skúmavke alebo sekundárnej skúmavke pri teplote 2 °C až 30 °C po dobu až 24 hodín,
- V primárnej odberovej skúmavke alebo sekundárnej skúmavke pri teplote 2 °C až 8 °C po dobu až 5 dní alebo
- v sekundárnej skúmavke pri teplote –20 °C po dobu až 60 dní.

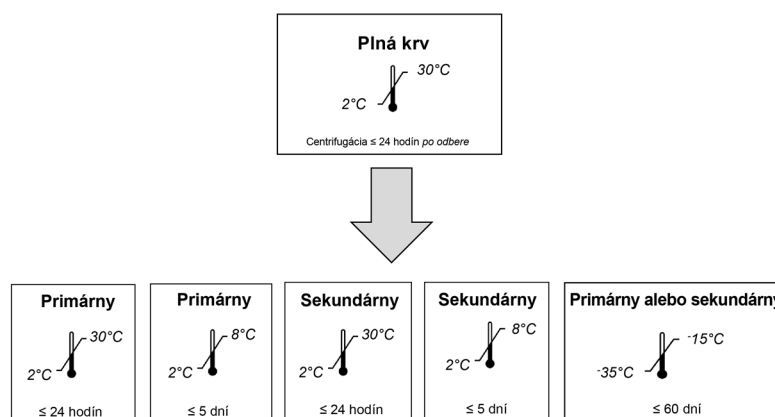


Obrázok 1. Podmienky skladovania pre skúmavky s EDTA/ACD

2. Vzorky PPT

Plnú krv je možné skladovať pri teplote 2 °C až 30 °C a je nutné ju centrifugovať do 24 hodín od odberu vzoriek. Plazmu je možné následne uchovávať v jednom z nasledujúcich prostredí:

- V skúmavke s PPT alebo sekundárnej skúmavke pri teplote 2 °C až 30 °C po dobu až 24 hodín,
- v skúmavke s PPT alebo sekundárnej skúmavke pri teplote 2 °C až 8 °C po dobu až 5 dní alebo
- v skúmavke s PPT alebo sekundárnej skúmavke pri teplote –20 °C po dobu až 60 dní.

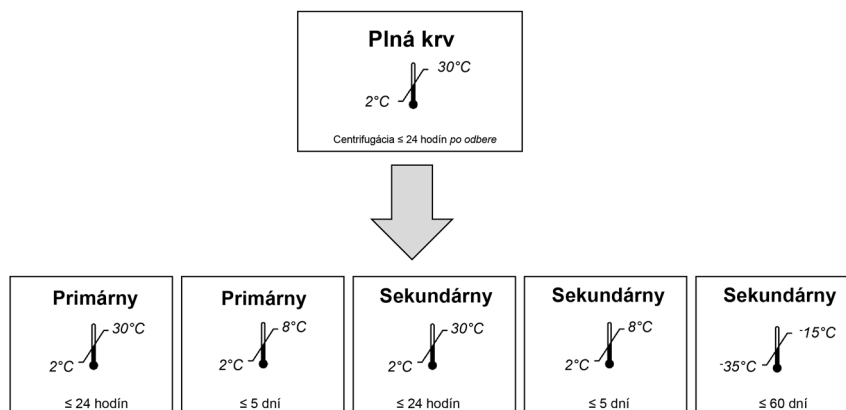


Obrázok 2. Podmienky skladovania pre PPT

3. Vzorky v sérových skúmavkách

Plnú krv je možné skladovať pri teplote 2 °C až 30 °C a je nutné ju centrifugovať do 24 hodín od odberu vzoriek. Sérum je možné následne uchovávať v jednom z nasledujúcich prostredí:

- V sérovej skúmavke alebo sekundárnej skúmavke pri teplote 2 °C až 30 °C po dobu až 24 hodín,
- v sérovej skúmavke alebo sekundárnej skúmavke pri teplote 2 °C až 8 °C po dobu až 5 dní alebo
- v sekundárnej skúmavke pri teplote –20 °C po dobu až 60 dní.

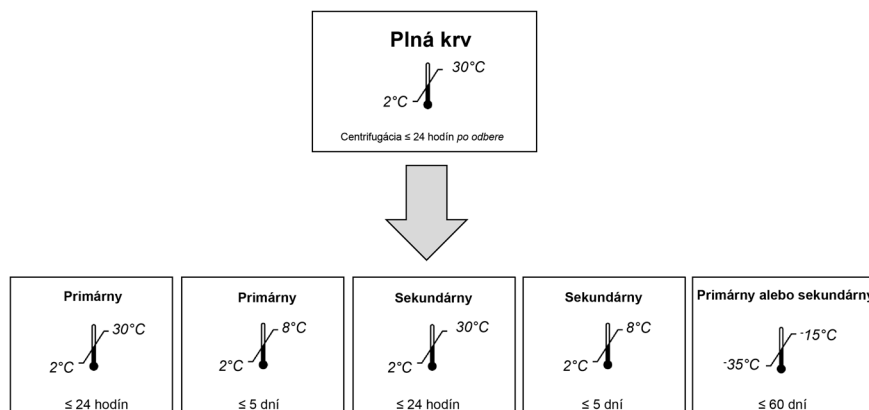


Obrázok 3. Podmienky skladovania pre sérové skúmavky

4. Vzorky SST

Plnú krv je možné skladovať pri teplote 2 °C až 30 °C a je nutné ju centrifugovať do 24 hodín od odberu vzoriek. Sérum je možné následne uchovávať v jednom z nasledujúcich prostredí:

- V skúmavke so SST alebo sekundárnej skúmavke pri teplote 2 °C až 30 °C po dobu až 24 hodín,
- v skúmavke so SST alebo sekundárnej skúmavke pri teplote 2 °C až 8 °C po dobu až 5 dní alebo
- v skúmavke so SST alebo sekundárnej skúmavke pri teplote –20 °C po dobu až 60 dní.



Obrázok 4. Podmienky skladovania pre SST

C. Dlhodobé skladovanie v zmrazenom stave

Vzorky plazmy alebo séra je možné skladovať pri teplote -65 °C až -85 °C až 60 dní v SAT.

D. Riedenie vzoriek plazmy a séra

Vzorky plazmy a séra je možné riediť v SAT alebo sekundárnej skúmavke na testovanie na systéme Panther. Ďalšie informácie nájdete v časti *Postup testovania systému Panther*, odstavec E „Manipulácia so vzorkami“, krok 6.

Poznámka: Ak je vzorka nariadená, je nutné test vykonať ihneď po riedení. Nezmrazujte nariadené vzorky.

Vzorky v systéme Panther

Vzorky je možné ponechať v systéme Panther neuzatvorené až 8 hodín. Vzorky je možné vytiahnuť zo systému Panther a otestovať, kým celková doba v prístroji neprekročí 8 hodín pred pipetovaním vzorky systémom Panther.

Preprava preparátov

Udržujte podmienky pre skladovanie vzorky podľa popisu v časti *Odber vzoriek a skladovanie*.

Poznámka: Vzorky sa musia prepravovať v súlade s platnými národnými, medzinárodnými a regionálnymi usmerneniami ohľadom prepravy.

Systém Panther

Reagencie pre Aptima HBV Quant sú uvedené pod systémom Panther. Identifikačné symboly reagensov sú uvedené aj vedľa názvu reagensov.

Poskytnuté reagencie a materiály

Poznámka: Informácie o nebezpečenstvách a bezpečnostných opatreniach, ktoré môžu byť spojené s reagensmi, nájdete v knižnici dátových bezpečnostných listov na stránkach www.hologic.com/sds.

Súprava testu Aptima HBV Quant, 100 testov (kat. č. PRD-03424)

(1 krabica testu, 1 súprava kalibrátora, 1 súprava kontrol a 1 krabica cieľovej posilňovacej reagensie)

Ďalšie kalibrátory a kontroly je možné objednať samostatne. Nižšie nájdete katalógové číslo jednotlivých boxov.

Krabica testu Aptima HBV Quant

(po prijatí uchovávať pri teplote 2 °C až 8 °C)

Symbol	Komponent	Množstvo
A	Amplifikačná reagensia qHBV <i>Neinfekčné nukleové kyseliny sušené v pufrovanom roztoku.</i>	1 liekovka
E	Enzymatická reagensia qHBV <i>Reverzná transkriptáza a RNA polymeráza sušené v HEPES pufrovanom roztoku.</i>	1 liekovka
PRO	Aktivačná reagensia qHBV <i>Neinfekčné nukleové kyseliny sušené v pufrovanom roztoku.</i>	1 liekovka
AR	Rekonštitučný roztok na amplifikáciu qHBV <i>Vodný roztok obsahujúci glycerol a konzervačné látky.</i>	1 x 7,2 ml
ER	Enzymatický rekonštitučný roztok na qHBV <i>Pufrovaný roztok HEPES obsahuje povrchovo aktívnu látku a glycerol.</i>	1 x 5,8 ml
PROR	Aktivačný rekonštitučný roztok na qHBV <i>Vodný roztok obsahujúci glycerol a konzervačné látky.</i>	1 x 4,5 ml
TCR	Cieľová záchytná reagensia qHBV <i>Nukleové kyseliny v pufrovanom fyziologickom roztoku obsahujúcom pevnú fázu, neinfekčné nukleové kyseliny a interný kalibrátor.</i>	1 x 72,0 ml
	Rekonštitučné prstence	3
	List hlavného čiarového kódu	1 list

Súprava kalibrátora Aptima HBV Quant (kat. č. PRD-03425)
(po prijatí uchovávať pri teplote -15 °C až -35 °C)

Symbol	Komponent	Množstvo
PCAL	Pozitívny kalibrátor qHBV <i>Plazmidová DNA v pufovanom roztoku</i>	5 x 2,5 ml
	Štítok s čiarovým kódom kalibrátora	—

Súprava kontrol Aptima HBV Quant (kat. č. PRD-03426)
(po prijatí uchovávať pri teplote -15 °C až -35 °C)

Symbol	Komponent	Množstvo
NC	Negatívna kontrola qHBV <i>HBV negatívna defibrinovaná ľudská plazma obsahujúca gentamicín a 0,2 % azid sodný ako konzervanty</i>	5 x 0,8 ml
LPC	Nízka pozitívna kontrola qHBV <i>Inaktivovaná HBV pozitívna plazma v defibrinovanej ľudskej plazme obsahujúcej gentamicín a 0,2 % azid sodný ako konzervanty</i>	5 x 0,8 ml
HPC	Vysoká pozitívna kontrola qHBV <i>Inaktivovaná HBV pozitívna plazma v defibrinovanej ľudskej plazme obsahujúcej gentamicín a 0,2 % azid sodný ako konzervanty</i>	5 x 0,8 ml
	Štítok s čiarovým kódom kontroly	—

Krabica cieľovej posilňovacej reagensie Aptima HBV Quant
(po prijatí uchovávať pri teplote 15 °C až 30 °C)

Symbol	Komponent	Množstvo
TER	Cieľová posilňovacia reagensia qHBV <i>Koncentrovaný roztok hydroxidu lítneho.</i>	1 x 46,0 ml

Nutné materiály dostupné samostatne

Poznámka: Materiály dostupné od spoločnosti Hologic majú uvedené katalógové čísla, pokiaľ nie je uvedené inak.

Materiál	Kat. č.
Systém Panther	—
Súprava chodu Panther pre testy v reálnom čase (iba pre testy v reálnom čase)	PRD-03455 (5 000 testov)
<i>Súprava kvapalín testu Aptima (takisto označovaná ako súprava univerzálnych kvapalín) (premývací roztok Aptima, pufer na deaktiváciu kvapaliny Aptima a olejová reagentia Aptima)</i>	303014 (1 000 testov)
<i>Viacskúmavkové jednotky (MTU)</i>	104772-02
<i>Súprava odpadových vriec Panther</i>	902731
<i>Kryt odpadkového koša Panther</i>	504405
Alebo súprava chodu Panther	
<i>(pri spracovaní testov TMA nevykonávaných v reálnom čase paralelne s testami TMA v reálnom čase) obsahuje MTU, odpadové vrecia, kryty odpadkového koša, kvapaliny na automatickú detekciu a testové kvapaliny</i>	303096 (5 000 testov)
Špičky, vodivosť 1 000 µl, vnímanie kvapaliny	10612513 (Tecan)
Bielidlo, 5 % až 7 % (0,7 M až 1,0 M) roztok chlórnanu sodného	—
Jednorazové bezpráškové rukavice	—
Náhradné uzávery na reagentie	
<i>Fľaše na rekonštitučný roztok pre amplifikačnú, enzymatickú a aktivačnú reagentiu CL0041 (100 uzáverov)</i>	
<i>Fľaša TCR</i>	CL0040 (100 uzáverov)
<i>Fľaša TER</i>	501604 (100 uzáverov)
Plastové kryty na laboratórne stoly	—
Utierky nepúšťajúce vlas	—
Pipetovač	—
Špičky	—
Možnosti pre primárne odberové skúmavky:	
<i>13 mm x 100 mm</i>	—
<i>13 mm x 75 mm</i>	—
<i>16 mm x 100 mm</i>	—
Centrifúga	—
Vortexová miešačka	—

Voliteľné materiály

Materiál	Kat. č.
Možnosti pre sekundárnu skúmavku:	
12 mm x 75 mm	—
13 mm x 100 mm	—
16 mm x 100 mm	—
Alikvotačné skúmavky vzorky Aptima (SAT) (balenie po 100 kusoch)	503762
Uzáver prepravnej skúmavky (balenie po 100 kusoch) uzáver pre SAT	504415
Riediacci prípravok na vzorky Aptima	PRD-03003
Súprava riediaceho prípravku na vzorky Aptima obsahuje riediacci prípravok na vzorky, 100 SAT a 100 uzáverov	PRD-03478
Transferové pipety	—
Komerčne dostupné panely, napr.: HBV panely z kontroly kvality pre molekulárnu diagnostiku (QCMD)	—
Vatové tyčinky	—
Trepačka skúmaviek	—

Postup testovania systému Panther

Poznámka: Ďalšie informácie o postupoch nájdete v Príručke operátora systému Panther.

A. Príprava pracovnej oblasti

1. Vyčistíte pracovné povrchy, kde budú pripravené reagenty. Pracovné plochy utrite 2,5 % až 3,5 % (0,35 M až 0,5 M) roztokom chlórnanu sodného. Roztok chlórnanu sodného nechajte minimálne 1 minútu v kontakte s povrchmi a potom opláchnite deionizovanou (DI) vodou. Nedovoľte, aby roztok chlórnanu sodného vyschol. Zakryte povrch pracovného stola čistými absorpčnými krytmi na laboratórny stôl podlepenými plastom.
2. Vyčistíte samostatný pracovný povrch, kde budete pripravovať vzorky. Postupujte podľa pokynov vyššie (krok A.1).
3. Vyčistíte prípadné pipety. Pri čistení postupujte podľa pokynov vyššie (krok A.1).

B. Príprava kalibrátora a kontrol

Pred spracovaním ponechajte kalibrátor a kontroly dosiahnuť teplotu 15 °C až 30 °C:

1. Vytiahnite kalibrátor a kontroly zo skladovacieho priestoru (–15 °C až –35 °C) a uložte ich do prostredia s teplotou 15 °C až 30 °C. Po celú dobu rozmrazovania jemne prevráťte každú skúmavku a starostlivo premiešajte. Pred použitím sa uistite, že je obsah skúmavky plne rozmrazený.

Možnosť. Skúmavky kalibrátora a kontrol je možné vložiť do trepačky a nechať tak dobre premiešať. Pred použitím sa uistite, že je obsah skúmavky plne rozmrazený.

Poznámka: Pri prevracaní kalibrátora a kontrol nevytvárajte nadmernú penu. Penu interferuje so snímaním hladiny v systéme Panther.

2. Po rozmrazení obsahu skúmavky vysušte vnútro skúmavky čistou suchou jednorazovou utierkou.
3. Zatiaľ skúmavky neotvárajte, aby nedošlo ku kontaminácii.

C. Rekonštitúcia/príprava reagensí novej súpravy

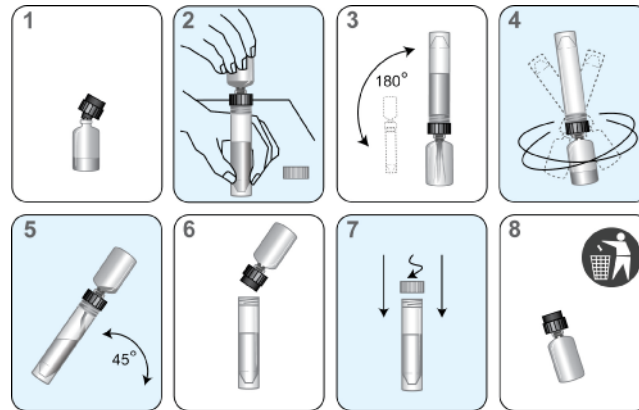
Poznámka: Rekonštitúciu reagensí je nutné vykonať pred zahájením akýchkoľvek postupov na systéme Panther.

1. Pri príprave cieľovej záchytnej reagensie (TCR) postupujte nasledovne:
 - a. Vytiahnite TCR zo skladovacieho priestoru (2 °C až 8 °C). Skontrolujte číslo šarže na fľaši s TCR, aby ste zaistili, že sa zhoduje s číslom šarže na liste čiarových kódov hlavnej šarže.
 - b. Fľaštičku s TCR ihneď starostlivo 10-krát premiešajte. Ponechajte fľaštičku TCR v prostredí s teplotou 15 °C až 30 °C minimálne 45 minút, aby sa zahriala. Po toto obdobie miešajte fľaštičku TCR vírením a prevracaním minimálne raz za 10 minút.

Možnosť. Fľaštičku TCR je možné pripraviť na trepačke nasledujúcim postupom: Vytiahnite fľaštičku TCR zo skladovacieho prostredia (2 °C až 8 °C) a ihneď starostlivo 10-krát pretrepte. Vložte TCR fľaštičku na miešačku a ponechajte TCR pri teplote 15 °C až 30 °C zahriať minimálne 45 minút.
 - c. Pred použitím sa uistite, že sa všetok precipitát dostal do roztoku a že sú magnetické čiastočky suspendované.
2. Pri rekonštitúcii amplifikačných, enzymatických a aktivačných činidiel postupujte nasledovne:
 - a. Vytiahnite lyofilizované reagensie a príslušné rekonštitučné roztoky zo skladovacieho priestoru (2 °C až 8 °C). Každý rekonštitučný roztok spárujte s príslušnou lyofilizovanou reagensiou.
 - b. Skontrolujte, že rekonštitučný roztok a lyofilizovaná reagensia majú zodpovedajúce farby štítkov. Skontrolujte čísla šarží na liste čiarových kódov hlavnej šarže, aby ste sa uistili, že sú spárované príslušné činidlá.
 - i. Otvorte ampulku lyofilizovanej reagensie odstránením kovovej pečate a gumovej zátky.
 - ii. Pevne pripojte koniec rekonštitučnej objímky so zárezom (čierny) na ampulku (Obrázok 5, krok 1).
 - iii. Otvorte príslušnú fľašu s rekonštitučným roztokom a nasadte uzáver na čistý, zakrytý pracovný povrch.
 - iv. Uložte fľašu s rekonštitučným roztokom na stabilný povrch (tzn. stôl). Následne prevráťte ampulku s lyofilizovanou reagensiou cez fľaštičku s rekonštitučným roztokom a pevne pripojte objímku k fľaštičke s rekonštitučným roztokom (Obrázok 5, krok 2).
 - v. Pomaly prevráťte pripojené fľaštičky (ampulka pripojená k fľaštičke s roztokom), aby roztok vtiel do sklenenej ampulky (Obrázok 5, krok 3).
 - vi. Zdvihnite prepojené hadičky a vírte nimi aspoň 10 sekúnd (Obrázok 5, krok 4).
 - vii. Počkajte minimálne 30 sekúnd, než sa lyofilizovaná reagensia dostane do roztoku.
 - viii. Po vstupe lyofilizovanej reagensie do roztoku vírte zostavenými fľaštičkami minimálne 10 sekúnd. Potom ľahkým nakláňaním sklenenej ampulky dopredu a dozadu dobre premiešajte roztok.
 - c. Pomaly znovu nakloňte prepojené fľaštičky, aby všetok roztok stieklo späť do fľaštičky na rekonštitučný roztok (Obrázok 5, krok 5).
 - d. Opatrne odstráňte rekonštitučný prstenec a sklenenú liekovku (Obrázok 5, krok 6).
 - e. Znovu uzatvorte fľaštičku. Na štítku zaznamenajte údaje operátora a dátum rekonštitúcie (Obrázok 5, krok 7).

f. Rekonštitučnú objímku a sklenenú liekovku zlikvidujte (obrázok 5, krok 8).

Varovanie: Pri rekonštitúcii reagensí zabráňte nadmernému peneniu. Pena interferuje so snímaním hladiny v systéme Panther.



Obrázok 5. Proces rekonštitúcie reagensie

3. Vytiahnite cieľovú posilňovaciu reagensiu qHBV zo skladovacieho priestoru (15 °C až 30 °C). Na štítku zaznamenajte iniciály operátora a dátum otvorenia. Skontrolujte číslo šarže na fľaši s TER, aby ste zaistili, že sa zhoduje s číslom šarže na liste čiarových kódov hlavnej šarže.

D. Príprava reagensí pre predtým pripravené reagensie

1. Vytiahnite predtým pripravené reagensie zo skladovacieho priestoru (2 °C až 8 °C). Predtým pripravené amplifikačné, enzymatické a aktivačné reagensie a TCR musia dosiahnuť teplotu 15 °C až 30 °C pred začiatkom testu.
2. Vytiahnite TER zo skladovacieho priestoru (15 °C až 30 °C).
3. U predtým pripraveného TCR postupujte pred vložením do systému podľa kroku C.1.
4. Vírením a prevrátením amplifikačnej, enzymatickej a aktivačnej reagensie starostlivo premiešajte pred vložením do systému. Pri prevracaní reagensí zabráňte nadmernému peneniu.
5. Fľašky reagensí nedopĺňajte. Systém Panther rozpozná a odmietne fľaše, ktoré boli doplnené.

E. Manipulácia so vzorkami

1. Skontrolujte, že spracované vzorky v primárnych skúmavkách alebo neriedené vzorky v sekundárnych skúmavkách boli adekvátne uskladnené podľa „Odber vzoriek a skladovanie“ na strane 7.
2. Uistite sa, že sú zmrazené vzorky adekvátne rozmrazené. Miešajte rozmrazené vzorky vírením po dobu 3 až 5 sekúnd, aby sa dobre premiešali.
3. Pred spracovaním ponechajte vzorky dosiahnuť teplotu 15 °C až 30 °C. Ďalšie informácie o položkách v prístroji nájdete v časti *Vzorky v systéme Panther*.
4. Uistite sa, že každá primárna odberová skúmavka obsahuje až 1 200 µl vzorky alebo každá SAT obsahuje minimálne 700 µl vzorky. Tabuľka v časti *Odber vzoriek* na strane 7 identifikuje požiadavky na mŕtvý objem pre každý typ primárnej a sekundárnej skúmavky. Ak je nutné riedenie vzorky, preštudujte si ďalšie informácie v kroku E.6 nižšie.

5. Pred vložením vzoriek do stojana na vzorky centrifugujte každú vzorku pri 1 000 až 3 000 *g* po dobu 10 minút. Neodstraňujte uzávery. Bubliny v skúmavke môžu interferovať so snímaním hladiny v systéme Panther.

Informácie o plnení stojana a odstraňovaní uzáverov nájdete v časti *Príprava systému*, krok F.2 nižšie.

6. Nariedte vzorku v pomere 1 : 3 v SAT alebo 1 : 100 v sekundárnej skúmavke. Vzorky je možné riediť v sekundárnej skúmavke na testovanie v systéme Panther.

Poznámka: Ak je vzorka nariadená, je nutné test vykonať ihneď po riedení.

- a. Riedenie nízkoobjemových vzoriek

Objem vzoriek je možné zvýšiť na minimálny požadovaný objem (700 µl) pomocou riediaceho prípravku na vzorky Aptima. Vzorky s minimálnym objemom 240 µl je možné nariediť dvomi dielmi prípravku na riedenie vzoriek (1 : 3) nasledovne:

- i. Vložte 240 µl vzorky do SAT.
- ii. Pridajte 480 µl riediaceho prípravku na vzorky Aptima.
- iii. Uzatvorte skúmavku.
- iv. Premiešajte 5-násobným jemným prevrátením.

Vzorky nariadené v pomere 1 : 3 je možné testovať pomocou možnosti 1 : 3 na systéme Panther (ďalšie informácie nájdete v *prevádzkovej príručke systému Panther*). Software automaticky nahlási čistý výsledok po korekcii faktorom riedenia. Tieto vzorky budú označené ako nariadené vzorky.

- b. Riedenie vzoriek s vysokým titrom

Ak je výsledok vzorky nad horným limitom kvantifikácie (ULoQ), je možné nariediť ho 99 dielmi riediaceho prípravku na vzorky Aptima (1 : 100) nasledovne:

- i. Vložte 30 µl vzorky do SAT alebo sekundárnej skúmavky.
- ii. Pridajte 2 970 µl riediaceho prípravku na vzorky Aptima.
- iii. Uzatvorte skúmavku.
- iv. Premiešajte 5-násobným jemným prevrátením.

Vzorky nariadené v pomere 1 : 100 je možné testovať za použitia možnosti 1 : 100 v systéme Panther (ďalšie informácie uvádza *prevádzková príručka systému Panther*). Software automaticky nahlási čistý výsledok po korekcii faktorom riedenia. Tieto vzorky budú označené ako nariadené vzorky.

Poznámka: U riedených vzoriek s čistou koncentráciou vyššou než ULoQ budú výsledky hlásené vo vedeckom formáte.

F. Príprava systému

1. Nastavte systém podľa pokynov uvedených v *príručke pre operátora systému Panther* a v časti *Poznámky k postupu*. Uistite sa, že sú použité reagenčné stojany s vhodnou veľkosťou a adaptéry TCR.
2. Vložte vzorky do stojana na vzorky. Vykonajte nasledujúce kroky pre každú skúmavku na vzorky (vzorka a v prípade potreby kalibrátor a kontroly):
 - a. Uvoľnite uzáver jednej skúmavky na vzorky, ale neodstraňujte ho.

Poznámka: Zvláštnu pozornosť venujte prevencii šírenia kontaminácie formou aerosólu. Jemne uvoľnite uzávery na vzorkách.

- b. Vložte skúmavku na vzorky do stojana na vzorky.
- c. Zopakujte kroky 2.a a 2.b pre každú zostávajúcu vzorku.
- d. Po vložení vzoriek do stojana na vzorky vytiahnite a zlikvidujte každý uzáver skúmavky na vzorky v jednom stojane na vzorky. Aby ste predišli kontaminácii, nemanipulujte uzáverom nad žiadnymi inými stojanmi na vzorky ani skúmavkami na vzorky.
- e. V prípade potreby odstráňte prípadné bubliny alebo penu pomocou novej jednorazovej prenosovej pipety.
- f. Po odstránení posledného uzáveru vložte stojan na vzorky do rezervoára na vzorky.

Poznámka: Ak súčasne spracovávate ďalšie testy a typy vzoriek, zaistíte zachytávač vzoriek pred vložením stojana na vzorky do rezervoára na vzorky.

- g. Zopakujte kroky 2.a až 2.f pre ďalší stojan na vzorky.

Poznámky k postupu

A. Kalibrátor a kontroly

1. Skúmavky obsahujúce pozitívny kalibrátor qHBV, nízku pozitívnu kontrolu qHBV, vysokú pozitívnu kontrolu qHBV a negatívnu kontrolu qHBV je možné vložiť do akejkoľvek polohy v stojane na vzorky a do akejkoľvek dráhy rezervoára na vzorky v systéme Panther. Pipetovanie vzorky sa začne, keď je splnená jedna z nasledujúcich dvoch podmienok:
 - a. Kalibrátor a kontroly sú v súčasnosti spracovávané systémom.
 - b. Platné výsledky pre kalibrátor a kontroly sú zaregistrované v systéme.
2. Po pipetovaní skúmaviek s kalibrátorom a kontrolou a ich spracovaní pre súpravu reagensov testu Aptima HBV Quant je možné vzorky testovať pomocou spojenej rekonštitučnej súpravy až 24 hodín, **pokiaľ nenastane nasledujúce:**
 - a. Výsledky kalibrátora alebo kontroly sú neplatné.
 - b. Súprava pridruženej testovacej reagensie sa odstráni zo systému.
 - c. Súprava pridruženej testovacej reagensie prekročila limity stability.
3. Kalibrátor a každú skúmavku kontroly je možné použiť iba raz. Pokusy o opakované použitie skúmavky môžu viesť k chybám spracovania.

B. Prášok z rukavíc

Tak ako v každom reagenčnom systéme, prebytočný prášok na niektorých rukaviciach môže spôsobiť kontamináciu otvorených skúmaviek. Odporúčajú sa bezprašné rukavice.

Kontrola kvality

Obsluha môže zrušiť platnosť chodu alebo výsledku vzorky v prípade zdokumentovaných problémov technického charakteru, s obsluhou alebo prístrojom pri vykonávaní testu. V takom prípade je nutné vzorky znovu otestovať.

Kalibrácia testu

Je nutné ukončiť kalibráciu testu, aby ste získali platné výsledky. Jeden pozitívny kalibrátor sa spracuje trikrát pri vložení každej súpravy reagensí do systému Panther. Po ukončení bude kalibrácia platná až 24 hodín. Softvér v systéme Panther upozorní obsluhu, keď bude nutné vykonať kalibráciu. Obsluha naskenuje kalibračný koeficient uvedený v hlavnom liste s čiarovými kódmi šarže dodávanom s každou súpravou reagensí.

V priebehu spracovania sú softvérom systému Panther automaticky overované kritériá pre prijateľnosť kalibrátora. Ak sú platné menej než dva replikáty kalibrátora, softvér chod automaticky vyhlási za neplatný. Vzorky v neplatnom chode je nutné znovu otestovať pomocou čerstvo pripraveného kalibrátora a čerstvo pripravených kontrol.

Negatívne a pozitívne kontroly

Aby sa vygenerovali platné výsledky, musí sa otestovať súprava kontrol rozboru. Jeden replikát negatívnej kontroly, nízkej pozitívnej kontroly a vysokej pozitívnej kontroly je nutné otestovať pri každom vložení súpravy reagensí do systému Panther. Po ukončení budú kontroly platné až 24 hodín. Softvér v systéme Panther upozorní obsluhu, keď bude nutné spracovať kontroly.

V priebehu spracovania sú softvérom systému Panther automaticky overované kritériá pre prijateľnosť kontrol. Aby boli výsledky platné, negatívna kontrola musí poskytnúť výsledok „Not Detected“ (Nedetegované) a pozitívne kontroly výsledky v rámci preddefinovaných parametrov (nominálny cieľ LPC: 2,7 Log₁₀ IU/ml, nominálny cieľ HPC: 4,6 Log₁₀ IU/ml). Ak majú akékoľvek kontroly neplatný výsledok, softvér automaticky zruší platnosť chodu. Vzorky v neplatnom chode je nutné znovu otestovať pomocou čerstvo pripraveného kalibrátora a čerstvo pripravených kontrol.

Interný kalibrátor/interná kontrola

Každá vzorka obsahuje interný kalibrátor/internú kontrolu (IC). V priebehu spracovania softvér systému Panther automaticky overí kritériá prijateľnosti IC. Ak je výsledok IC neplatný, výsledok vzorky bude neplatný tiež. Každú vzorku s neplatným výsledkom IC je nutné znovu otestovať, aby ste dostali platný výsledok.

Softvér systému Panther je navrhnutý na presné overenie procesov pri vykonávaní postupov podľa pokynov v tejto príbalovej informácii a *prevádzkovej príručke systému Panther*.

Interpretácia výsledkov

Systém Panther automaticky stanoví koncentráciu HBV DNA pre vzorky a kontroly porovnaním výsledkov s kalibračnou krivkou. Koncentrácie HBV DNA sú hlásené v jednotkách IU/ml a \log_{10} IU/ml. Interpretáciu výsledkov uvádza Tabuľka 1. Ak je pre riedené vzorky použitá možnosť riedenie, systém Panther automaticky vypočíta koncentráciu HBV pre čistú vzorku vynásobením riedenej koncentrácie faktorom riedenia. Riedené vzorky budú označené ako riedené.

Poznámka: U riedených vzoriek sa môžu objaviť výsledky „Not Detected“ (Nedetegované) alebo „<10 detected“ (Detegované < 10) v dôsledku nariadenia vzorky na koncentráciu vyššiu, ale blízku LoD (limit detekcie) alebo LLoQ (spodný limit kvantifikácie). Ak ste nezískali kvantitatívny výsledok, odporúčame odobrať a otestovať inú čistú vzorku.

Tabuľka 1: Interpretácia výsledkov

Hlásený výsledok testu Aptima HBV Quant		Interpretácia
IU/ml	Hodnota \log_{10} ^a	
Nedetegované	Nedetegované	HBV DNA nedetegovaná.
Detegované < 10	< 1,0	HBV DNA je detegovaná, ale na úrovni pod LLoQ
10 až 1 000 000 000	1,0 až 9,0	Koncentrácia HBV DNA je v lineárnom rozsahu 10 až 1 000 000 000 IU/ml.
> 1 000 000 000	> 9,0	Koncentrácia HBV DNA je nad ULoQ.
Neplatný ^b	Neplatný ^b	Pri generovaní výsledku došlo k chybe. Vzorku je nutné opätovne otestovať.

^aHodnota je skrátaná na dve desatinné hodnoty.

^bNeplatné výsledky sa zobrazia modrým farebným fontom.

Poznámka: U riedených vzoriek s čistou koncentráciou vyššou než ULoQ budú výsledky hlásené vo vedeckom formáte.

Obmedzenia

- Použitie tohto rozboru je limitované na personál, ktorý je vyškolený ohľadom postupu. Nedodržanie pokynov uvedených v tejto príbalovej informácii môže viesť k chybným výsledkom.
- Spoľahlivé výsledky závisia od adekvátneho odberu preparátov, transportu, uchovávania a spracovania.
- Mutácie vo vysoko konzervovaných oblastiach vírusového genómu krytých primermi a/alebo sondami v teste Aptima HBV Quant, aj keď vzácne, môžu viesť k zníženej identifikácii alebo nedetegovaniu vírusu.

Výkon**Limit detekcie podľa 3. medzinárodného štandardu WHO**

Limit detekcie (LoD) testu je definovaný ako koncentrácia HBV DNA detegovaná s pravdepodobnosťou 95 % alebo vyššou podľa CLSI EP17-A2.¹²

LoD bol stanovený testovaním panelov 3. medzinárodného štandardu WHO pre DNA vírusu hepatitídy B (NIBSC 10/264) s riedením v HBV negatívnej ľudskej plazme a sére.

Testovalo sa minimálne 36 replikátov každého riedenia s každou z troch šarží reagensí, minimálne 108 replikátov na riedenie. Bola vykonaná probit analýza s cieľom získať predikované limity detekcie. Hodnoty LoD uvedené v Tabuľka 2 sú výsledkom pre šaržu reagensí s najvyšším predikovaným limitom detekcie. LoD testu Aptima HBV Quant podľa 3. medzinárodného štandardu WHO je 5,58 IU/ml pre plazmu a 4,29 IU/ml pre sérum.

Tabuľka 2: Limit detekcie podľa 3. medzinárodného štandardu WHO pre HBV

Predikovaný limit detekcie	Koncentrácia (IU/ml)	
	Plazma	Sérum
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

Limit detekcie u rôznych genotypov HBV

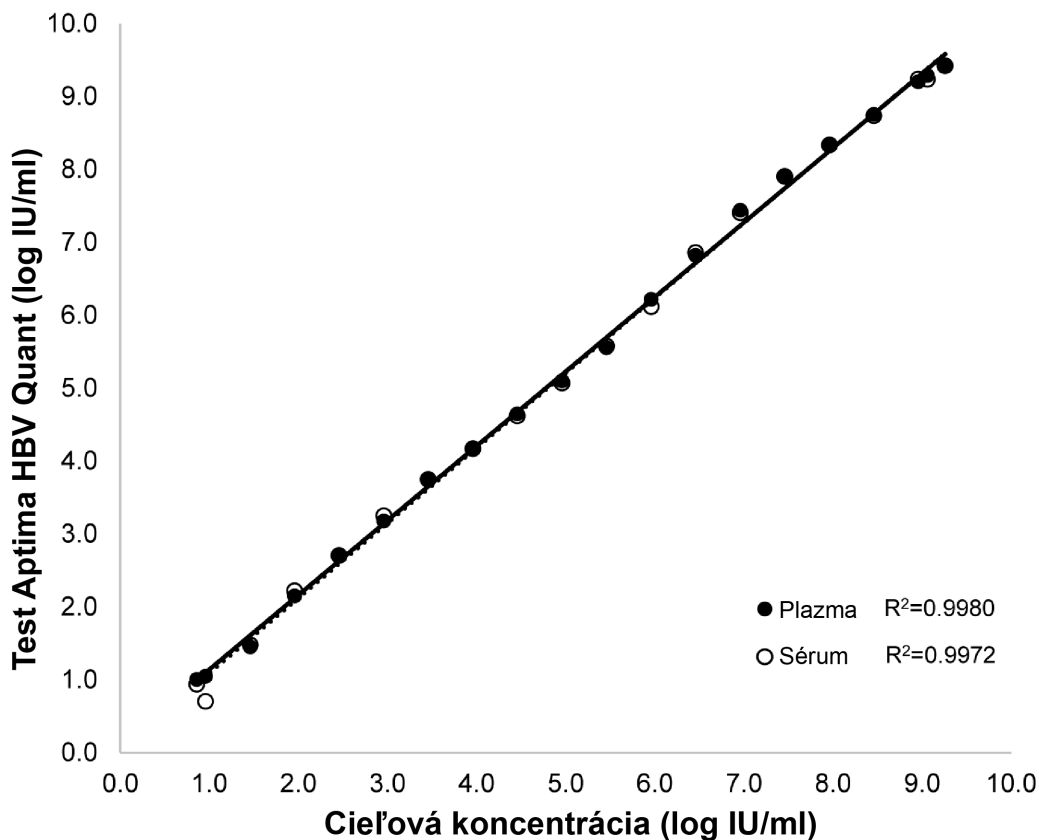
LoD bol stanovený testovaním riedení HBV pozitívnych klinických vzoriek genotypov A, B, C, D, E, F, G a H v HBV negatívnej ľudskej plazme a sére. Koncentrácie boli stanovené pomocou komparátorového testu s označením CE a licenciou Health Canada. Testovalo sa minimálne 24 replikátov každého člena panelu s každou z dvoch šarží reagensí, minimálne 48 replikátov na člen panelu. Bola vykonaná probit analýza s cieľom získať predikované limity detekcie na úrovni 50 % a 95 %. Hodnoty LoD uvedené v Tabuľka 3 sú výsledkom pre šaržu reagensí s najvyšším predikovaným limitom detekcie.

Tabuľka 3: Limit detekcie u rôznych genotypov HBV za použitia klinických vzoriek

Genotyp	Predikovaný limit detekcie	Koncentrácia (IU/ml)	
		Plazma	Sérum
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

Lineárny rozsah

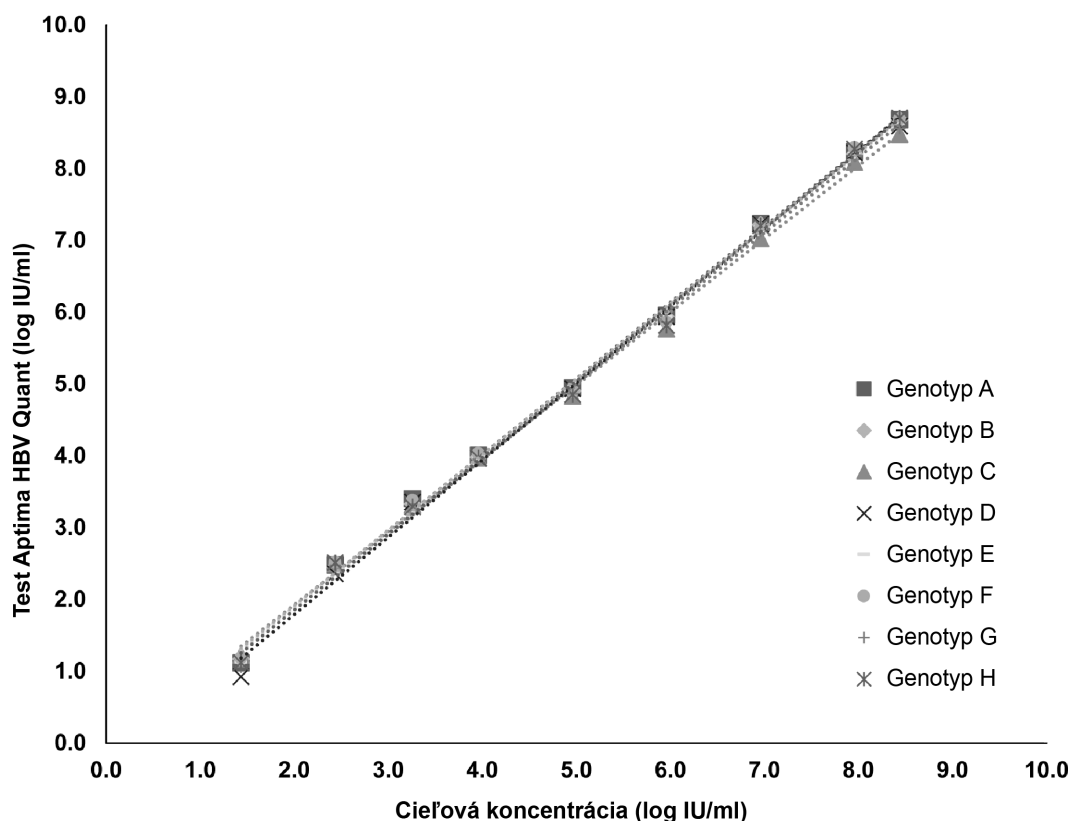
Lineárny rozsah bol stanovený testovaním panelov HBV DNA riedenej v HBV negatívnych vzorkách ľudskej plazmy a séra podľa normy CLSI EP06-A.¹³ Rozsah koncentrácií panelov bol od 0,86 log IU/ml po 9,26 log IU/ml. Test Aptima HBV Quant vykazoval linearitu v testovanom rozsahu, s horným limitom kvantifikácie (ULoQ) 9 log IU/ml podľa Obrázok 6.



Obrázok 6. Linearita v plazme a séru

Linearita u rôznych genotypov HBV

Lineárna odozva u genotypov A, B, C, D, E, F, G a H bola potvrdená testovaním panelov HBV DNA nariedenej v pufrí s koncentraciami v rozsahu 1,44 log IU/ml až 8,44 log IU/ml. Linearita bola preukázaná v testovanom rozsahu pre všetky testované genotypy podľa Obrázok 7.



Obrázok 7. Linearita Au genotypov HBV A až H

Spodný limit kvantifikácie podľa 3. medzinárodného štandardu WHO

Spodný limit kvantifikácie (LLoQ) je definovaný ako najnižšia koncentrácia, pri ktorej je HBV DNA spoľahlivo kvantifikovaná v rámci celkovej chyby podľa normy CLSI EP17-A2.¹² Celková chyba bola odhadovaná pomocou dvoch metód: Celková analytická chyba (TAE) = |systémová chyba| + 2 SD a celková chyba (TE) = SQRT(2) x 2 SD. Celková chyba testu Aptima HBV Quant bola nastavená na úroveň 1 log IU/ml (tzn. pri LLoQ je rozdiel medzi dvomi meraniami vyšší než 1 log IU/ml štatisticky významný) s cieľom zaistiť správnosť a presnosť meraní.

LLOQ bol stanovený testovaním panelov 3. medzinárodného štandardu WHO pre DNA vírusu hepatitídy B (NIBSC 10/264)¹⁴ s riedením v HBV negatívnej ľudskej plazme a sére. Testovalo sa minimálne 45 replikátov každého riedenia s každou z troch šarží reagensí, minimálne 135 replikátov na riedenie. Výsledky zo šarže reagensí s najvyššou koncentráciou spĺňajúce požiadavky na TE a TAE sú uvedené v Tabuľka 6. Vypočítaný LLoQ podľa 3. medzinárodného štandardu WHO pre vírus hepatitídy B je 4,80 IU/ml pre plazmu a 6,34 IU/ml pre sérum.

Tabuľka 4: Stanovenie LLoQ podľa 3. medzinárodného štandardu WHO pre HBV nariedený v plazme

Šarža reagensie	Cieľová koncentrácia		Aptima HBV Quant	SD	Systémová chyba	Vypočítaná hodnota TE	Vypočítaná hodnota 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 = smerodajná odchýlka

Tabuľka 5: Stanovenie LLoQ podľa 3. medzinárodného štandardu WHO pre HBV nariedený v sére

Šarža reagensie	Cieľová koncentrácia		Aptima HBV Quant	SD	Systémová chyba	Vypočítaná hodnota TE	Vypočítaná hodnota 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 = smerodajná odchýlka

Tabuľka 6: Súhrn vypočítaného LLoQ podľa 3. medzinárodného štandardu WHO pre HBV

Šarža reagensie	LLoQ plazmy		LLoQ séra	
	(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 = smerodajná odchýlka

Stanovenie spodného limitu kvantifikácie u rôznych genotypov HBV

LLOQ bol stanovený testovaním riedení HBV pozitívnych klinických vzoriek genotypov A, B, C, D, E, F, G a H v HBV negatívnej ľudskej plazme a sére. Testovalo sa minimálne 36 replikátov každého člena panelu s každou z dvoch šarží reagensí, minimálne 72 replikátov na člen panelu. Výsledky zo šarže reagensí s najvyššou koncentráciou spĺňajúce požiadavky na TE a TAE sú uvedené v Tabuľka 7 pre plazmu a Tabuľka 8 pre sérum. Vypočítaný LLoQ pre genotypy A, B, C, D, E, F, G a H v plazme a sére zhŕňa Tabuľka 9. Toto stanovilo celkový LLoQ pre test na úrovni 10 IU/ml.

Tabuľka 7: Stanovenie LLoQ u rôznych genotypov v plazme

Genotyp	Cieľová koncentrácia		Aptima HBV Quant	SD	Systémová chyba	Vypočítaná hodnota TE	Vypočítaná hodnota 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 = smerodajná odchýlka

Tabuľka 8: Stanovenie LLoQ u rôznych genotypov v sére

Genotyp	Cieľová koncentrácia		Aptima HBV Quant	SD	[Systémová chyba]	Vypočítaná hodnota TE	Vypočítaná hodnota 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 = smerodajná odchýlka

Tabuľka 9: Súhrn LLoQ u rôznych genotypov v plazme a sére

Genotyp	LLoQ plazmy		LLoQ séra	
	(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

Reprodukovateľnosť

Na vyhodnotenie reprodukovateľnosti bol vytvorený 28-členný panel nariedením HBV pozitívnych klinických vzoriek (genotyp A a C) alebo spikingom HBV DNA (genotyp A a C) do HBV negatívnej plazmy a séra. Panel bol testovaný tromi pracovníkmi obsluhy za použitia troch šarží reagensí v troch systémoch Panther v priebehu 20 alebo viac testových dní.

Tabuľka 10 a Tabuľka 11 znázorňujú reprodukovateľnosť výsledkov testu (v log IU/ml) medzi prístrojmi, medzi pracovníkmi obsluhy, medzi šaržami, medzi chodmi, v rámci chodov a celkovo. Celková variabilita bola primárne spôsobená variabilitou v rámci spracovania (tzn. náhodná chyba).

Tabuľka 10: Reprodukovateľnosť testu Aptima HBV Quant pre genotyp A

Matrica	N	Priemerná koncentrácia (log IU/ml)	Medzi operátormi		Medzi prístrojmi		Medzi šaržami		Medzi chodmi		V rámci chodov		Celkom	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Plazma	161	1,24	0,02	1,96	0,02	1,75	0,10	7,88	0,02	1,50	0,21	16,80	0,23	18,80
Plazma	162	1,97	0,01	0,75	0,01	0,71	0,08	3,84	0,02	0,76	0,14	7,36	0,17	8,40
Plazma	162	3,23	0,01	0,29	0,01	0,24	0,04	1,39	0,01	0,22	0,08	2,47	0,09	2,87
Plazma	162	4,14	0,03	0,76	0,01	0,28	0,04	0,90	0,01	0,15	0,06	1,38	0,08	1,84
Plazma	162	5,75	0,02	0,39	0,01	0,20	0,06	0,97	0,01	0,13	0,09	1,51	0,11	1,85
Plazma	162	6,98	0,05	0,79	0,03	0,48	0,06	0,91	0,01	0,11	0,09	1,35	0,13	1,87
Plazma	162	7,69	0,03	0,38	0,02	0,23	0,01	0,15	0,01	0,12	0,10	1,30	0,11	1,39
Sérum	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
Sérum	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
Sérum	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
Sérum	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
Sérum	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
Sérum	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
Sérum	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 = variačný koeficient, SD = smerodajná odchýlka

Poznámka: Variabilita spojená s niektorými faktormi môže byť numericky negatívna, k čomu môže dôjsť, ak je variabilita v dôsledku týchto faktorov veľmi malá. Keď k tomu dôjde, výsledky SD a CV sa zobrazia ako 0.

Tabuľka 11: Reprodukovateľnosť testu Aptima HBV Quant pre genotyp C

Matrica	N	Priemerná koncentrácia (log IU/ml)	Medzi operátormi		Medzi prístrojmi		Medzi šaržami		Medzi chodmi		V rámci chodov		Celkom	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Plazma	161	1,28	0,02	1,73	0,02	1,40	0,07	5,39	0,02	1,28	0,18	14,32	0,20	15,52
Plazma	162	1,98	0,02	0,79	0,01	0,68	0,08	4,02	0,01	0,61	0,14	6,91	0,16	8,08
Plazma	162	3,23	0,01	0,31	0,01	0,39	0,05	1,49	0,01	0,18	0,06	1,97	0,08	2,52
Plazma	162	4,13	0,01	0,18	0,01	0,29	0,04	0,90	0,01	0,15	0,07	1,69	0,08	1,95
Plazma	162	5,78	0,01	0,14	0,02	0,41	0,06	1,04	0,01	0,16	0,10	1,70	0,12	2,05
Plazma	162	6,83	0,01	0,20	0,03	0,42	0,03	0,42	0,01	0,08	0,06	0,93	0,08	1,13
Plazma	162	7,75	0,03	0,33	0,02	0,19	0,02	0,24	0,01	0,08	0,07	0,94	0,08	1,04
Sérum	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
Sérum	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
Sérum	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
Sérum	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
Sérum	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
Sérum	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
Sérum	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 = variačný koeficient, SD = smerodajná odchýlka

Poznámka: Variabilita spojená s niektorými faktormi môže byť numericky negatívna, k čomu môže dôjsť, ak je variabilita v dôsledku týchto faktorov veľmi malá. Keď k tomu dôjde, výsledky SD a CV sa zobrazia ako 0.

Potenciálne interferujúce látky

Bola hodnotená náchylnosť testu Aptima HBV Quant na interferenciu spôsobenú zvýšenými hladinami endogénnych látok alebo liečiv bežne predpisovaných pacientom infikovaným HBV. Boli testované HBV negatívne vzorky plazmy a vzorky doplnené o HBV na koncentráciu 4,3 log IU/ml HBV DNA.

Na výkone testu sa neprejavila interferencia prítomnosti albumínu (90 mg/ml), hemoglobínu (5 mg/ml), triglyceridov (30 mg/ml) ani konjugovaného bilirubínu. (0,2 mg/ml).

Klinické vzorky plazmy od pacientov so zvýšenými hladinami definovaných látok alebo od pacientov s ochoreniami uvedenými v Tabuľka 12 boli testované pomocou testu Aptima HBV Quant. Nebola pozorovaná interferencia vo výkone testu.

Tabuľka 12: Testované typy klinických vzoriek

Typy klinických vzoriek	
1	Antinukleárne protilátky (ANA)
2	Reumatoidný faktor (RF)
3	Alkoholická cirhóza (AC)
4	Alkoholická hepatitída
5	Nealkoholická hepatitída
6	Autoimunitná hepatitída
7	Zvýšená hladina alanínaminotransferázy (ALT)
8	Hepatocelulárny karcinóm (HCC)
9	Roztrúsená skleróza (MS)
10	Systémový lupus erythematosus (SLE)
11	Hyperglobulinémia
12	Reumatoidná artritída (RA)
13	Protilátka anti-Jo1 (JO-1)
14	Mnohopočetný myelóm (MM)
15	Hemolyzovaná (zvýšený hemoglobín)
16	Ikterická (zvýšený bilirubín)
17	Lipemická (zvýšený lipid)
18	Zvýšená hladina bielkovín
19	Protilátky proti HBV (po očkovaní)
20	Protilátky proti HCV
21	Protilátky proti HIV-1 a HIV-2

Nebola pozorovaná žiadna interferencia s výkonom testu v prítomnosti exogénnych látok uvedených v Tabuľka 13 pri koncentráciách na úrovni minimálne trojnásobku C_{max} (ľudská plazma).

Tabuľka 13: Exogénne látky

Pool exogénnych látok	Testované exogénne látky
1	Sachinavir, ritonavir, amprenavir, indinavir, lopinavir, nelfinavir mesylát
2	Klaritromycín, valganciklovir hydrochlorid, efavirenz, nevirapín
3	Paroxetín HCl, enfuvirtid, zidovudín, didanozín, abakavir sulfát
4	Ribavirín, entekavir, adefovir dipivoxil, tenofovir dizoproxilfumarát, lamivudín, ganciklovir, acyklovir
5	Stavudín, ciprofloxacín, fluoxetín, azitromycín, valaciklovir, sertralin, zalcitabín
6	Interferón alfa-2a, interferón alfa-2b, pegylovaný interferón alfa-2b

Špecificita

Špecificita bola stanovená za použitia 292 čerstvých a 747 zmrazených HBV negatívnych klinických vzoriek. Celkom bolo testovaných 521 vzoriek plazmy a 518 vzoriek séra.

Špecificita bola vypočítaná ako percentuálny pomer HBV negatívnych vzoriek s výsledkom „Not Detected“ (Nedetegované). HBV DNA nebola detegovaná u 1 038 vzoriek. Špecificita bola 99,9 % (1 038/1 039, 95 % CI: 99,5 – 100 %).

Tabuľka 14: Špecificita vo vzorkách plazmy a séra

	Čerstvá plazma	Zmrazená plazma	Plazma Celkom	Čerstvé Sérum	Zmrazené sérum	Sérum Celkom	Kombinované
Valídne replikáty (n)	145	376	521	147	371	518	1 039
Nedetegované	145	376	521	147	370	517	1 038
Špecificita (95 % CI)	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 = interval spoľahlivosti

Analytická špecificita

Potenciálna krížová reaktivita s patogénmi uvedenými v Tabuľka 15 bola hodnotená u HBV negatívnej ľudskej plazmy v prítomnosti alebo absencii 4,3 log IU/ml HBV DNA. Nebola pozorovaná žiadna krížová reaktivita alebo interferencia v bakteriálne kontaminovanej plazme alebo vo vzorkách od subjektov infikovaných inými krvou prenosnými patogénmi alebo od tých, ktorí boli očkovaní proti HBV a chrípke.

Tabuľka 15: Patogény testované na analytickú špecificitu

Mikroorganizmus/patogén	Zdroj	Mikroorganizmus/patogén	Zdroj
Vírus hepatitídy C	Klinická vzorka	Ľudský herpesvírus typu 8	Kultivačná kvapalina
Vírus hepatitídy A	Klinická vzorka	Vírus japonskej encefalitídy	Ascitická tekutina
Po očkovaní proti HBV	Klinická vzorka	Vírus encefalitídy Murray Valley	Bunkový lyzát
HIV-1 a 2	Klinická vzorka	Vírus encefalitídy St. Louis	Kultivačná kvapalina
Ľudský T-bunkový lymfotropný vírus typu 1 a 2	Klinická vzorka	Vírus Vaccinia	Bunkový lyzát
Parvovirus B19	Klinická vzorka	Vírus žltej zimnice	Kultivačná kvapalina
Cytomegalovírus	Klinická vzorka	<i>Candida albicans</i>	Kultivačná vzorka
Vírus dengue typ 1-4	Klinická vzorka	<i>Chlamydia trachomatis</i>	Kultivačná vzorka
Vírus Epstein a Barrovej	Klinická vzorka	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	Kultivačná vzorka
Po očkovaní proti chrípke	Klinická vzorka	<i>Mycobacterium gordonae</i>	Kultivačná vzorka
Ľudský papilomavírus	Klinická vzorka	<i>Mycobacterium smegmatis</i>	Kultivačná vzorka
Herpes simplex vírus 1 a 2	Klinická vzorka	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Kultivačná vzorka
Vírus osýpok	Klinická vzorka	<i>Propionibacterium acnes</i>	Kultivačná vzorka
Vírus varicella zoster	Klinická vzorka	<i>Staphylococcus aureus</i>	Kultivačná vzorka
Západonílsky vírus	Klinická vzorka	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Kultivačná vzorka
BK ľudský polyomavírus	Bunkový lyzát	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Kultivačná vzorka
Ľudský herpesvírus 6B	Kultivačná kvapalina	<i>Trichomonas vaginalis</i>	Kultivačná vzorka

Opakovateľnosť klinických vzoriek

Opakovateľnosť bola hodnotená testovaním troch replikátov prirodzene infikovaných klinických vzoriek HBV pozitívnej plazmy a séra. Priemerná koncentrácia a smerodajné odchýlky pre testované vzorky plazmy a séra sú uvedené v Tabuľky 16, resp. 17.

Tabuľka 16: Opakovateľnosť klinických vzoriek plazmy

Vzorka plazmy	Priemerná koncentrácia (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 = smerodajná odchýlka

Tabuľka 17: Opakovateľnosť klinických vzoriek séra

Vzorka séra	Priemerná koncentrácia (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 = smerodajná odchýlka

Riedenie vzorky pomocou riediaceho prípravku na vzorky

Na hodnotenie záchyty HBV DNA vo vzorkách nariedených pomocou riediaceho prípravku na vzorky Aptima boli vzorky plazmy a séra v lineárnom rozsahu nariedené v pomere 1 : 3 s riediacim prípravkom na vzorky Aptima. Okrem toho boli prirodzene infikované klinické vzorky s vysokým titrom a vzorky s pridanou HBV DNA s koncentraciami nad ULoQ nariedené v pomere 1 : 100 s riediacim prípravkom na vzorky Aptima. Každá vzorka bola trikrát testovaná čistá a nariedená (1 : 3 alebo 1 : 100). Rozdiely medzi priemernou hlásenou koncentráciou (výsledok nariedenej vzorky korigovaný faktorom riedenia) a priemernou čistou koncentráciou uvádza Tabuľka 18 pre plazmu a Tabuľka 19 pre sérum. Koncentrácie vzoriek boli v nariedených vzorkách správne zachytené.

Tabuľka 18: Riedenie vzorky s riediacim prípravkom na vzorky Aptima v plazme

Riedenie	Priemerná čistá koncentrácia (log IU/ml)	Priemerná hlásená koncentrácia ^a (log IU/ml)	Rozdiel (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

^aHlásená koncentrácia je hodnota vypočítaná po korekcii faktorom riedenia.

^bDoplnená vzorka.

^cCieľová koncentrácia, ktorá je nad ULoQ.

Tabuľka 19: Riedenie vzorky s riediacim prípravkom na vzorky Aptima v sére

Riedenie	Priemerná čistá Koncentrácia (log IU/ml)	Priemerná hlásená koncentrácia ^a (log IU/ml)	Rozdiel (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

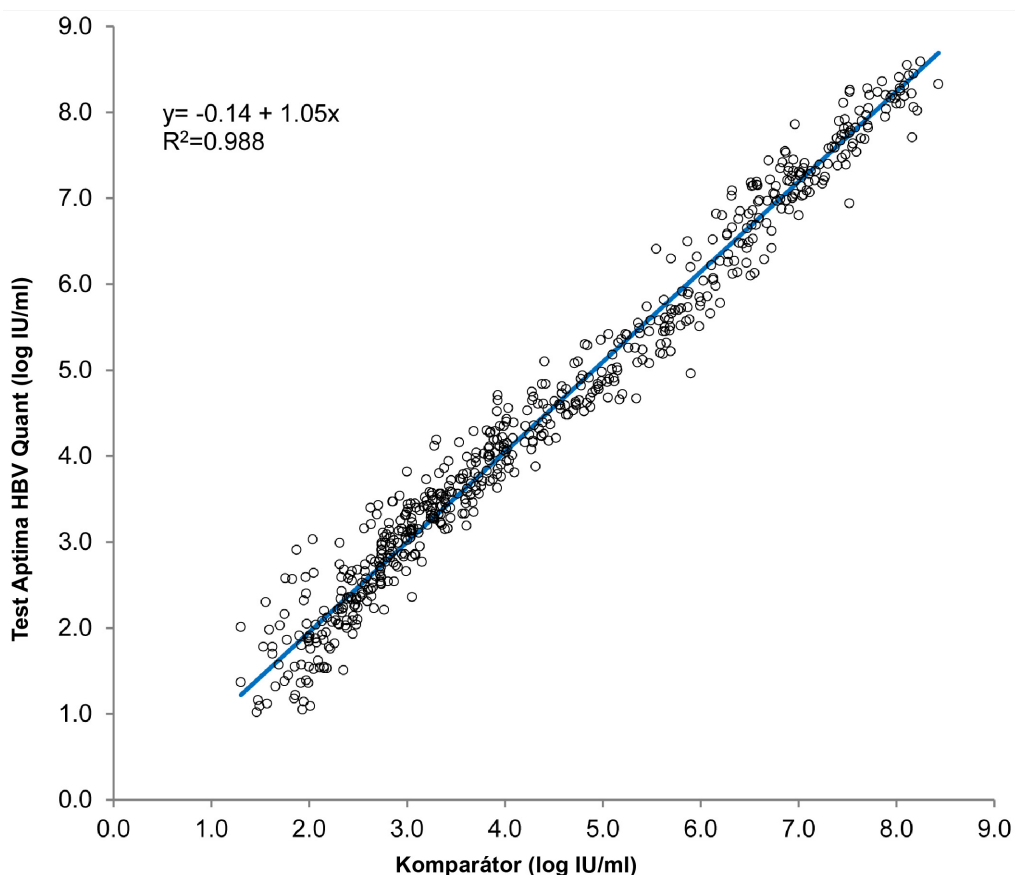
^aHlásená koncentrácia je hodnota vypočítaná po korekcii faktorom riedenia.

^bDoplnená vzorka.

^cCieľová koncentrácia, ktorá je nad ULoQ.

Korelácia metód

Výkon testu Aptima HBV Quant bol hodnotený proti komparátorovému testu s označením CE a licenciou Health Canada na základe testovania neriedených klinických vzoriek od pacientov infikovaných HBV. Celkom 614 klinických vzoriek v lineárnom rozsahu spoločnom pre oba testy bolo použitých v lineárnej regresii – pozri Obrázok 8.



Obrázok 8. Korelácia medzi testom Aptima HBV Quant a komparátorovým testom

Prenos

Bola vykonaná štúdia za použitia doplnených panelov na troch systémoch Panther s cieľom potvrdiť, že systém Panther minimalizuje riziko falošne pozitívnych výsledkov vznikajúcich kontamináciou v dôsledku prenosu. Prenos bol hodnotený pomocou vzoriek plazmy doplnených o HBV DNA s vysokým titrom (8 log IU/ml) vmedzerených medzi HBV negatívne vzorky v šachovnicovom vzorci. Testovanie prebehlo v pätnástich chodoch. Celková miera prenosu bola 0,0 % (0/705).

Literatúra

1. **Lok AS, McMahon BJ.** AASLD Practice Guideline Update. Chronic Hepatitis B: Update 2009. *Hepatology*. 2009; 50(3):661-662;1-36.
2. **Aspinall EJ, Hawkins G, Fraser A, Hutchinson SJ, Goldberg D.** Hepatitis B prevention, diagnosis, treatment and care: a review. *Occupational Medicine* 2011; 61(8):531-540.
3. **Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health.** Early Identification and Linkage to Care of Persons with Chronic Hepatitis B Virus Infection - Three U.S. Sites, 2012-2014. May 9, 2014, 63(18):399-401.
4. **Liaw YF, Chu CM.** Hepatitis B virus infection. *Lancet*. 2009;373(9663):582-92.
5. **European Association for the Study of the Liver.** EASL Clinical Practice Guidelines: Management of chronic hepatitis B virus infection. *Journal of Hepatology* 2012; 57:167-185.
6. **International Agency for Research on Cancer.** Hepatitis B Virus. IARC Monographs 2012; 100B: 93-133.
7. **Price, J.** An Update on Hepatitis B, D, and E Viruses. *Topics in Antiviral Medicine* 2014; 21(5): 157-163.
8. **Clinical and Laboratory Standards Institute.** 2005. Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods; Approved Guideline. CLSI Document MM13-A. Wayne, PA.
9. **29 CFR Part 1910.1030.** Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens; current version.
10. **Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health.** Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL); current version.
11. **Clinical and Laboratory Standards Institute.** 2002. Clinical Laboratory Waste Management. CLSI Document GP5-A2. Villanova, PA.
12. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2012. Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline—Second Edition. CLSI Document EP17-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
13. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2003. Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline. CLSI document EP06-A. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
14. **NIBSC - Confidence in Biological Medicines.** 2014. Medicines & Healthcare products Regulatory Agency. 3rd WHO International Standard for Hepatitis B Virus for Nucleic Acid Amplification Techniques, NIBSC code: 10/264, Potters Bar, Hertfordshire, ENG.



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

Zákaznícka podpora: +1 800 442 9892
customersupport@hologic.com

Technická podpora: +1 888 484 4747
molecularsupport@hologic.com

Ďalšie kontaktné informácie nájdete na stránkach www.hologic.com.



Hologic BV
Da Vinciiaan 5
1930 Zaventem
Belgium

Hologic, Aptima a Panther sú ochranné známky a/alebo registrované ochranné známky spoločnosti Hologic, Inc. a/alebo jej pobočiek v USA a/alebo v iných krajinách. Akékoľvek ďalšie ochranné známky, ktoré môžu byť vyobrazené na tomto príbalovom letáku, sú majetkom príslušných vlastníkov.

Výrobok je chránený jedným alebo viacerými patentmi Spojených štátov, ktoré sú uvedené na stránkach www.hologic.com/patents.

© 2016–2020 Hologic, Inc. Všetky práva vyhradené.
AW-13182-3201 Rev. 007
2020-12