

## Aptima™ HBV Quant Assay

Diagnostiseen *in vitro* -käyttöön.

Vain Yhdysvalloista vientiin

<b>Yleisiä tietoja</b>	<b>2</b>
Käyttöaihe	2
Testin yhteenveto ja selvitys	2
Toimintaperiaate	3
Varoitukset ja varotoimet	3
Reagenssien säilytystä ja käsittelyä koskevat vaatimukset	6
Näytteiden keruu ja säilytys	7
Panther Systemissä säilytetyt näytteet	9
Näytteen kuljetus	9
<b>Panther System</b>	<b>10</b>
Toimitetut reagenssit ja materiaalit	10
Materiaalit, jotka tarvitaan mutta jotka ovat saatavissa erikseen	12
Valinnaiset materiaalit	13
Panther Systemin testausmenetelmä	13
Menetelmää koskevia huomautuksia	17
<b>Laaduntarkistus</b>	<b>18</b>
Analyysin kalibrointi	18
Negatiiviset ja positiiviset kontrollit	18
Sisäinen kalibraattori / sisäinen kontrolli	18
<b>Tulosten tulkitseminen</b>	<b>19</b>
<b>Rajoitukset</b>	<b>19</b>
<b>Suorituskyky</b>	<b>20</b>
Havaitsemisraja käytettäessä WHO:n 3. kansainvälistä standardia	20
Havaitsemisraja HBV-genotyyppien kesken	21
Lineaarinen alue	22
Lineaarisuus HBV-genotyyppien kesken	23
Kvantitoinnin alaraja (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) käytettäessä WHO:n 3. kansainvälistä standardia	23
Kvantitoinnin alarajan (LLoQ) määrittäminen HBV-genotyyppien kesken	25
Toistettavuus	27
Mahdollisesti häiritsevät aineet	29
Spesifisyys	30
Analyttinen spesifisyys	31
Kliinisten näytteiden toistettavuus	32
Näytteen laimentaminen näytteenlaimentimella	33
Menetelmän korrelaatio	35
Näytteiden välinen kontaminaatio	35
<b>Lähdeluettelo</b>	<b>36</b>

## Yleisiä tietoja

### Käyttöaihe

Aptima HBV Quant Assay (Aptiman HBV-määrittäminen) on nukleiinihapon *in vitro* - vahvistustesti hepatiitti B -viruksen (HBV) DNA:n kvantitoimiseksi ihmisen plasmassa ja seerumissa täysautomaattisella Panther™-järjestelmällä.

Plasma voidaan valmistella etyleenidiamiinitetraetikkahapossa (EDTA), antikoagulanttisesti sitraattidekstroosi (Anticoagulant Citrate Dextrose, ACD) -liuoksessa ja plasman valmistusputkissa (Plasma Preparation Tube, PPT). Seerumi voidaan valmistella seerumiputkissa ja seerumin erotusputkissa (Serum Separator Tube, SST). Näytteet testataan käyttämällä täysautomaattista Panther-järjestelmää, jolla suoritetaan näytteiden käsittely, vahvistus ja kvantitointi. HBV-genotyyppiä A, B, C, D, E, F, G ja H sisältävät näytteet validoidaan kvantitoitaviksi analyyseissä.

Aptima HBV Quant Assay -analyysin käyttöaiheena on käyttö kroonisen HBV-infektion saaneiden, HBV-viruslääkehoitoa saavien potilaiden hoidon apuvälineenä. Analyysillä voidaan mitata HBV:n DNA-tasoa perustasolla ja hoidon aikana arvioitaessa viruksen hoitovastetta. Aptima HBV Quant Assay -analyysin tulokset on tulkittava kaikkien asiaankuuluvien kliinisten ja laboratoriolöydösten kontekstissa.

Aptima HBV Quant Assay -analyysia ei ole tarkoitettu käytettäväksi veren tai verituotteiden seulontatestinä HBV:n varalta eikä diagnostisena testinä HBV-infektion olemassaolon vahvistamiseksi.

### Testin yhteenveto ja selvitys

Hepatiitti B -viruksen (HBV), yhden monista hepatiittia aiheuttavista viruksista, on todettu liittyvän elinikäiseen HBV-infektioon, maksakirroosiin, maksasyöpään, maksan toimintahäiriöön ja mahdollisesti kuolemaan. Maailman terveysjärjestö (WHO) pitää HBV:tä yhtenä maailman yleisimmistä infektioitaudeista. HBV-infektion sairastumistiheys ja tartuntatapa vaihtelee suuresti maailman eri puolilla. Noin yhdellä kolmanneksella maailman väestöstä on serologisia todisteita aiemmasta tai nykyisestä HBV-infektioista, ja kroonista HBV-infektioita esiintyy yli 350 miljoonassa ihmisessä ympäri maailmaa.<sup>1,2,3</sup> HBV-infektio aiheuttaa lisääntyneen maksan dekompensoitumisen, kirroosin ja hepatosellulaarisen karsinoman (HCC) riskin, ja kuolleisuus on 0,5–1,2 miljoonaa kuolemaa ja 5–10 % maksansiirtotapausta maailmassa vuosittain.<sup>4,5</sup> Ilman asianmukaista hoitoa, interventiota ja seuranta-diagnoosin jälkeen 5 vuoden kumulatiivinen kirroosin insidenssi on 8–20 %. Kun kirroosi on kehittynyt, hepatosellulaarisen karsinoman (HCC) vuosittainen riski on 2–5 %.<sup>6</sup>

HBV sisältää sirkulaarisen, osittain kaksijuosteisen DNA-genomin, jossa on noin 3200 emäsparia, jotka koodaavat neljä osittain päällekkäistä avointa lukukehystä (ORF) osoittaen polymeraasin, pinnan, esiytimen/ytimen ja X-proteiinit. Polymeraasin ORF liittyy 3 muun ORF:n kanssa ja koodaa viruksen tärkeän kahdentumisproteiinin, polymeraasin. Pinnan ORF ilmaisee kolme proteiinia, jotka ovat olennaisia viruksen morfogeneesille, viruksen pääsille hepatosyytteihin ja isännän immuunivasteen herättämiselle.<sup>7</sup> HBV-genotyyppiä on 8 (A–H), ja ne löytyvät yleensä erillisistä maantieteellisistä sijainneista. Tällä hetkellä käytetään HBV:n DNA:n kvantitointia määrittämään, mitä potilaita, joilla on krooninen infektio, pitäisi hoitaa, seuraamaan hoitovastetta ja arvioimaan viruskuorman kasvua, joka voi olla merkki lääkeresistanssista.<sup>5</sup>

Aptima HBV Quant Assay -analyysi on nukleiinihapon *in vitro* -vahvistustesti, joka käyttää Panther Systemin reaaliaikaista transkriptiovälitteistä monistustekniikkaa (TMA) HBV:n DNA:n genotyyppien A, B, C, D, E, F, G ja H kvantitointiin. Aptima HBV Quant Assay -analyysi kohdistuu polymeraasin ja pinnan geenien kahteen erittäin hyvin säilyneeseen alueeseen (mahdollisten mutaatioiden lisääntyntä toleranssia varten). Analyysi on standardoitu WHO:n 3. kansainvälisen hepatiitti B -viruksen standardin mukaan (NIBSC-koodi: 10/264).

## Toimintaperiaate

Aptima HBV Quant Assay -analyysissa on kolme vaihetta, jotka kaikki tapahtuvat yhdessä putkessa Panther Systemissä: kohteen sieppaus, kohteen monistus TMA:lla ja monistustuotteiden (amplikonien) tunnistaminen fluoresoivasti leimatuilla koettimilla (soihduilla).

Kohteen sieppauksen aikana virus-DNA eristetään näytteistä. Näytettä käsitellään puhdistusaineella, jotta viruksen kuori liukenee, proteiinit denaturoituvat ja viruksen genomin DNA vapautuu. Siepatut oligonukleotidit hybridisoituvat testinäytteen HBV:n DNA:n erittäin hyvin säilyneisiin alueisiin (jos sellaisia on). Hybridisoitu kohde sidotaan sen jälkeen magneettisiin mikrohiukkasiin, jotka erotetaan näytteestä magneettikentässä. Pesuvaiheissa ulkoiset ainesosat poistetaan reaktioputkesta.

Kohteen monistus tapahtuu TMA-tekniikalla, joka on transkriptiovälitteinen nukleiinihappojen monistusmenetelmä, jossa käytetään kahta entsyymiä, Moloneyn hiiren leukemiaviruksen (MMLV) käänteistranskriptaasia ja T7 RNA -polymeraasia. Käänteistranskriptaasia käytetään kohdesekvenssin DNA-kopion (joka sisältää promootterisekvenssin T7 RNA -polymeraasia varten) luomiseen. T7 RNA -polymeraasi tuottaa useita RNA-amplikonin kopioita DNA-kopiotemplaattista. Aptima HBV Quant Assay -analyysi käyttää TMA-menetelmää monistamaan kaksi HBV-genomin aluetta (polymeraasigeeni ja pintageeni). Näiden alueiden monistus saavutetaan käyttämällä erityisiä alukkeita, jotka on suunniteltu monistamaan HBV-genotyyppien A, B, C, D, E, F, G ja H. Kahden kohdealueen lähestymistapa ja alukkeet, jotka kohdistuvat erittäin hyvin säilyneisiin alueisiin, varmistavat HBV:n DNA:n tarkan kvantitoinnin.

Havaitseminen tehdään käyttämällä yksijuosteisia, fluoresoivasti leimattuja nukleiinihappokoettimia, jotka ovat läsnä kohteen monistuksen aikana ja hybridisoituvat spesifisesti amplikoniin reaaliaikaisesti. Jokaisessa koettimessa on fluorofori ja sammuttaja. Kun koetin ei hybridisoidu amplikoniin, sammuttaja on fluoroforin läheisyydessä ja estää fluoresenssin. Kun fluoresoivasti leimattu koetin sitoutuu amplikoniin, sammutin on siirtynyt kauemmas pois päin fluoroforista, ja se lähettää signaalin tietyllä aallonpituudella, kun valonlähde virittää sen. Kun enemmän fluoresoivasti leimattuja koettimia hybridisoituu amplikoniin, ne synnyttävät suuremman fluoresoivan signaalin. Aika, joka fluoresoivalta signaalilta kuluu tietyn kynnyksen saavuttamiseen, on suhteessa HBV:n alkupitoisuuteen. Jokaisessa reaktiossa on mukana sisäinen kalibraattori / sisäinen kontrolli (IC) -aine, joka ilmaisee näytteen käsittelyssä, monistuksessa ja havaitsemisissa ilmenevän vaihtelun. Näytteen pitoisuus määritetään Panther System -ohjelmistolla käyttämällä kunkin reaktion HBV- ja IC-signaaleja ja vertaamalla niitä kalibrointitietoihin.


## Varoitukset ja varotoimet

- A. Vain diagnostiseen *in vitro* -käyttöön.
- B. Epäkelpojen tulosten riskin vähentämiseksi käyttäjän on luettava huolella koko pakkausseloste ja *Panther System* -käyttöopas ennen analyysin suorittamista.
- C. qHBV Kohteen vahvennereagenssi (TER) on syövyttävää.

- H302 – haitallista nieltynä.
- H314 – aiheuttaa vakavia palovammoja iholle ja vaurioittaa silmiä.



**Laboratorioon liittyviä seikkoja**

-  D. HUOMIO: Tämän analyysin kontrollit sisältävät ihmisen plasmaa. Plasma on negatiivista hepatiitti B -pinta-antigeenin (HBsAg), HCV:n vasta-aineiden, HIV-1:n ja HIV-2:n vasta-aineiden ja HIV-antigeenin suhteen, kun se testataan Yhdysvaltain elintarvike- ja lääkehallinnon lisensoitujen testausmenettelyjen mukaisesti. Lisäksi plasma ei reagoi HBV:n DNA:n, HCV-RNA:n ja HIV-1-RNA:n kanssa, kun se testataan lisensoiduilla nukleinihappotesteillä käyttämällä yhdistettyjä näytteitä. Kaiken ihmisen verestä peräisin olevan materiaalin on katsottava olevan mahdollisesti infektiovaarallista, ja siksi tällaista materiaalia on käsiteltävä yleisten varotoimien mukaisesti.<sup>8,9,10</sup>
- E. Tämän menetelmän saa suorittaa vain henkilöstö, joka on saanut riittävän koulutuksen Aptima HBV Quant Assay -analyysin käytöstä ja mahdollisesti infektiovaarallisten materiaalien käsittelystä. Jos tapahtuu vuoto, on suoritettava heti desinfiointi asianmukaisten tutkimuspaikan menettelyohjeiden mukaisesti.
- F. Käytä vain toimitettuja tai määritettyjä kertakäyttöisiä laboratoriotarvikkeita.
- G. Käytä tavallisia laboratoriota koskevia varotoimia. Älä koskaan pipetoi suun avulla. Älä syö tai juo mitään tai tupakoi määritetyillä työskentelyalueilla. Käytä kertakäyttöisiä, jauheettomia käsineitä, silmäsuojaimia ja laboratoriotakkeja näytteiden ja tarvikesarjan reagenssien käsittelyn aikana. Pese kädet perusteellisesti näytteiden ja tarvikesarjan reagenssien käsittelyn jälkeen.
- H. Työskentelypinnat, pipetit ja muut laitteet on desinfioitava säännöllisesti 2,5–3,5-prosenttisella (0,35–0,5 M) natriumhypokloriittiliuoksella.
- I. Hävitä kaikki näytteiden ja reagenssien kanssa kosketuksiin joutuneet materiaalit soveltuvien kansallisten, kansainvälisten ja alueellisten määräysten mukaisesti.<sup>8,9,10,11</sup> Puhdista ja desinfioidi kaikki työskentelypinnat huolellisesti.
- J. Kontrollit sisältävät natriumatsidia säilöntäaineena. Älä käytä metalliputkea reagenssin siirtoon. Jos natriumatsidiyhdisteitä sisältävät liuokset hävitetään viemäristöön, ne on laimennettava ja huuhdeltava runsaalla määrällä juoksevaa vettä. Näitä varotoimia suositellaan, jottei metalliputkiin kerry jäämiä, joista voi kehittyä räjähdysvaarallisia.
- K. Molekyylilaboratorioiden hyvät peruskäytännöt sisältävät ympäristön valvonnan. Laboratorion ympäristön valvontaan suositellaan seuraavaa menettelytapaa:
1. Hanki puuvillakärkinen vanupuikko ja liitä se Aptima-näytealikoittiputkeen (SAT).
  2. Merkitse jokainen SAT-putki asianmukaisesti.
  3. Täytä jokainen SAT-putki 1 ml:lla Aptima-näytteenlaimenninta.
  4. Kostuta vanupuikko kevyesti nukleasittomalla deionisoidulla vedellä pintanäytteiden keruuta varten.
  5. Hankaa kohdepinta ylhäältä alaspäin suuntautuvalla liikkeellä. Pyöritä puikkoa noin puoli kierrosta kohdepinnan hankaamisen aikana.
  6. Aseta vanupuikkonäyte heti näyteputkeen ja pyöritä vanupuikkoa varoen laimennusaineessa mahdollisten vanuun tarttuneiden materiaalien saamiseksi pois siitä. Paina vanupuikko siirtoputken kylkeen ottaaksesi mahdollisimman paljon nestettä. Heitä vanupuikko pois ja sulje putki korkilla.
  7. Toista vaiheet jäljellä oleville vanupuikkonäytteille.
  8. Testaa vanupuikko molekyylianalyysillä.

**Näytteeseen liittyviä seikkoja**

- L. Näytteet voivat olla tartuntavaarallisia. Käytä yleisiä varotoimia<sup>8,9,10</sup> tämän analyysin suorittamisen aikana. Asianmukaiset käsittely- ja hävitysmenetelmät on määritettävä soveltuvien kansallisten, kansainvälisten ja alueellisten määräysten mukaisesti.<sup>11</sup> Tämän menetelmän saa suorittaa vain henkilöstö, joka on saanut riittävän koulutuksen Aptima HBV Quant Assay -analyysin käytöstä ja infektiotaarallisten materiaalien käsittelystä.
- M. Pidä huolta, että näytteen kuljetuksen aikana säilytysolosuhteet ovat oikeanlaiset, jotta näyte säilyy kunnossa. Näytteen stabiiliutta muiden kuin suositeltujen toimitusolosuhteiden aikana ei ole arvioitu.
- N. Vältä ristikontaminaatiota näytteiden käsittelyn aikana. Ole erityisen varovainen, jottei aerosolien leviäminen aiheuta kontaminaatiota näytteiden irrottamisen tai putkien avaamisen aikana. Näytteet voivat sisältää erittäin suuria eliöpitoisuuksia. Varmista, että näytesäiliöt eivät koske toisiinsa, ja hävitä käytetyt materiaalit viemättä niitä avointen säiliöiden yli. Vaihda käsineet, jos ne koskevat näytteeseen.

**Analyysiin liittyviä seikkoja**

- O. Älä käytä reagenssitarvikesarjaa, kalibraattoria tai kontrolleja niiden viimeisen käyttöpäivän jälkeen.
- P. Älä vaihda, sekoita tai yhdistä analyysireagensseja tarvikesarjoista, joiden pääeränumerot eivät ole samoja. Analyysin nesteillä voi olla eri eränumerot. Kontrolleilla ja kalibraattorilla voi olla eri eränumerot.
- Q. Vältä mikrobien ja nukleaasien aiheuttamaa reagenssien kontaminaatiota.
- R. Sulje kaikki analyysireagenssit ja säilytä niitä määritetyissä lämpötiloissa. Väärin säilytettyjen analyysireagenssien käyttö voi vaikuttaa analyysin suorittamiseen. Jos haluat lisätietoja, katso *Reagenssien säilytystä ja käsittelyä koskevat vaatimukset ja Panther Systemin testausmenetelmä*.
- S. Älä yhdistä mitään analyysireagensseja tai nesteitä ilman erillistä ohjetta. Älä täytä vajaita reagenssi- tai nestepulloja. Panther System varmistaa reagenssien määrät.
- T. Varo kohteen vahvennereagenssin joutumista iholle, silmiin ja limakalvoille. Pese vedellä alue, jolle tätä reagenssia on joutunut. Jos reagenssia läikkyy, laimenna vedellä ja noudata asianmukaisia tutkimuspaikan menettelyohjeita.

## Reagenssien säilytystä ja käsittelyä koskevat vaatimukset

- A. Seuraavassa taulukossa esitetään reagenssien, kontrollien ja kalibraattorin säilytysolosuhteet ja stabiilius.

Reagenssi	Avaamattomana säilytys	Avattu tarvikesarja (liuotettu)	
		Säilytys	Stabiilius
qHBV-monistusreagenssi	2–8 °C		
qHBV-monistuksen sekoitusliuos	2–8 °C	2–8 °C	30 päivää <sup>a</sup>
qHBV-entsyymireagenssi	2–8 °C		
qHBV-entsyymin sekoitusliuos	2–8 °C	2–8 °C	30 päivää <sup>a</sup>
qHBV-promootterireagenssi	2–8 °C		
qHBV-promootterin sekoitusliuos	2–8 °C	2–8 °C	30 päivää <sup>a</sup>
qHBV-kohteen poimintareagenssi	2–8 °C	2–8 °C	30 päivää <sup>a</sup>
qHBV PCAL (positiivinen kalibraattori)	-15 – -35 °C	15–30 °C	Kertakäyttöinen injektiopullo käytettävä 24 tunnin kuluessa
qHBV NC CONTROL – (negatiivinen kontrolli)	-15 – -35 °C	15–30 °C	Kertakäyttöinen injektiopullo käytettävä 24 tunnin kuluessa
qHBV LPC CONTROL + (heikko positiivinen kontrolli)	-15 – -35 °C	15–30 °C	Kertakäyttöinen injektiopullo käytettävä 24 tunnin kuluessa
qHBV HPC CONTROL + (voimakas positiivinen kontrolli)	-15 – -35 °C	15–30 °C	Kertakäyttöinen injektiopullo käytettävä 24 tunnin kuluessa
qHBV-kohteen vahvennereagenssi	15–30 °C	15–30 °C	30 päivää <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Kun reagenssit poistetaan Panther Systemistä, ne on palautettava heti asianmukaisiin säilytyslämpötiloihinsa.

- B. Hävitä kaikki käyttämättömät liuotetut reagenssit, kohteen sieppausreagenssi (Target Capture Reagent, TCR) ja kohteen vahvennereagenssi (Target Enhancer Reagent, TER) 30 päivän kuluttua tai kun pääerän viimeinen käyttöpäivä on umpeutunut, kumpi tapahtuukin ensin.
- C. Panther Systemissä säilytettyjen reagenssien stabiiliusaika on 72 tuntia. Reagenssit voidaan lisätä Panther Systemiin enintään viisi kertaa. Panther System kirjaa lokiin jokaisen reagenssien lisäskerran.
- D. Kalibraattorin sulattamisen jälkeen liuksen on oltava kirkasta, eli se ei saa olla utuista eikä siinä saa olla sakkaa.
- ⚠ E. Promootterireagenssi ja liuotettu promootterireagenssi ovat valonarkoja. Suojaa nämä reagenssit valolta säilytyksen ja käytön valmistelun aikana.
- F. qHBV-kohteen vahvennereagenssin lämpötilan täytyy olla 15–30 °C ennen käyttöä.

## Näytteiden keruu ja säilytys

**Huom.:** Käsittele kaikki näytteitä aivan kuin ne sisältäisivät mahdollisesti tartuntavaarallisia aineita. Käytä yleisiä varotoimia.

**Huom.:** Vältä ristikontaminaatiota näytteiden käsittelyn aikana. Hävitä esim. käytetyt materiaalit viemättä niitä avoimien putkien yli.

Seuraaviin lasi- tai muoviputkiin kerättyjä kokoverinäytteitä voidaan käyttää:

- EDTA- tai ACD-antikoagulantteja sisältävät putket
- Plasman valmistusputket (PPT)
- Seerumiputket
- Seerumin erotusputket (SST)

Anna seerumin hyytyä ennen seerumin lisäkäsittelyä.

### A. Näytteenotto

Kokoveri voidaan säilyttää 2–30 °C:ssa, ja se on sentrifugoitava 24 tunnin kuluessa näytteenotosta. Erotta plasma tai seerumi pelletöidyistä punasoluista käytettävän putken valmistajan ohjeiden mukaisesti. Plasma tai seerumi voidaan testata Panther Systemissä ensisijaisessa putkessa tai siirtää toissijaiseen Aptima-näytealikoittiputkeen (SAT). Ensisijaisten keräysputkien seerumin tai plasman minimimäärä on 1200 µL, ja SAT:ien minimimäärä on 700 µL, jotta saadaan 500 µL:n reaktiomäärä.

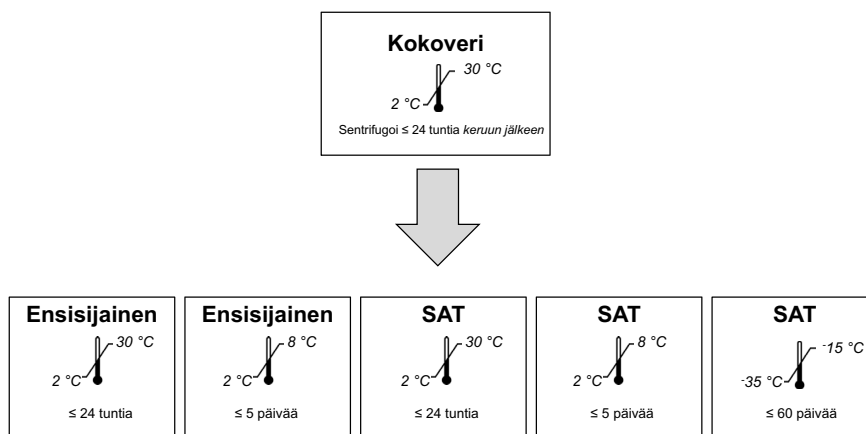
Jos plasmaa ja seerumia ei testata heti, niitä voidaan säilyttää alla esitettyjen ohjeiden mukaisesti. Jos plasma tai seerumi siirretään SAT-putkeen, se voidaan jäädyttää -20 °C:seen. Älä tee useampaa kuin kolmea jäädytys-sulatuskäsittelyä. Älä jäädytä näytteitä EDTA-, ACD- tai seerumin ensisijaisissa keruuputkissa.

### B. Näytteiden säilytysolosuhteet

#### 1. EDTA- ja ACD-plasmanäytteet

Kokoveri voidaan säilyttää 2–30 °C:ssa, ja se on sentrifugoitava 24 tunnin kuluessa näytteenotosta. Plasmaa voidaan sen jälkeen säilyttää jossain seuraavista olosuhteista:

- ensisijaisessa keruuputkessa tai SAT-putkessa 2–30 °C:ssa enintään 24 tunnin ajan,
- ensisijaisessa keruuputkessa tai SAT-putkessa 2–8 °C:ssa enintään 5 päivän ajan tai
- SAT-putkessa -20 °C:ssa enintään 60 päivän ajan.

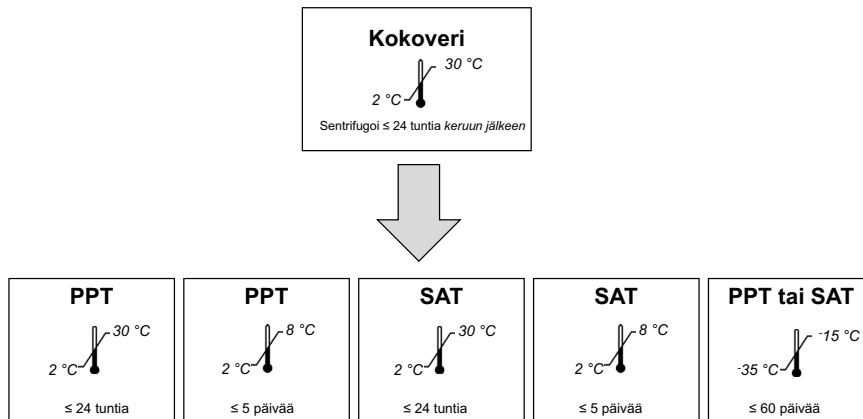


**Kuva 1. EDTA/ACD-putkien säilytysehdot**

## 2. PPT-näytteet

Kokoveri voidaan säilyttää 2–30 °C:ssa, ja se on sentrifugoitava 24 tunnin kuluessa näytteenotosta. Plasmaa voidaan sen jälkeen säilyttää jossain seuraavista olosuhteista:

- PPT:ssä tai SAT:ssä 2–30 °C:ssa enintään 24 tunnin ajan,
- PPT:ssä tai SAT:ssä 2–8 °C:ssa enintään 5 tunnin ajan tai
- PPT:ssä tai SAT:ssä lämpötilassa -20 °C enintään 60 päivää.

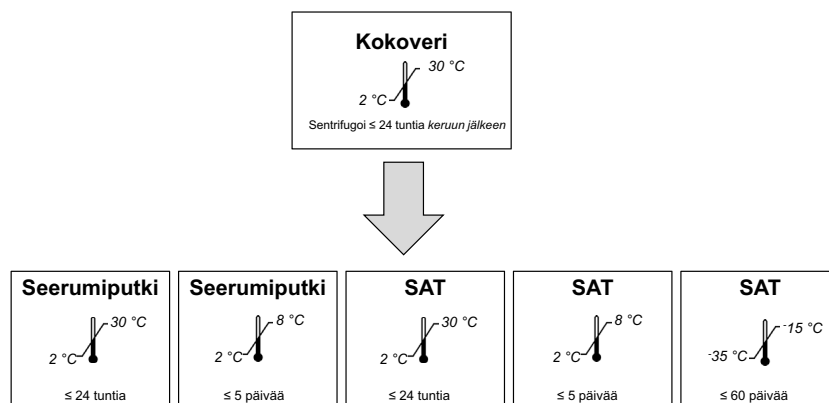


**Kuva 2. PPT-putkien säilytysolosuhteet**

## 3. Seerumiputkien näytteet

Kokoveri voidaan säilyttää 2–30 °C:ssa, ja se on sentrifugoitava 24 tunnin kuluessa näytteenotosta. Seerumia voidaan sen jälkeen säilyttää jossain seuraavista olosuhteista:

- seerumiputkessa tai SAT-putkessa 2–30 °C:ssa enintään 24 tunnin ajan,
- seerumiputkessa tai SAT-putkessa 2–8 °C:ssa enintään 5 päivän ajan tai
- SAT-putkessa -20 °C:ssa enintään 60 päivän ajan.



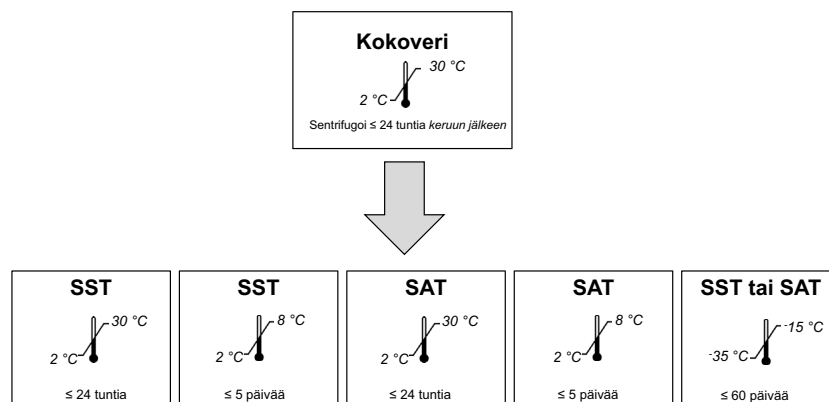
**Kuva 3. Seerumiputkien säilytysolosuhteet**



#### 4. SST-näytteet

Kokoveri voidaan säilyttää 2–30 °C:ssa, ja se on sentrifugoitava 24 tunnin kuluessa näytteenotosta. Seerumia voidaan sen jälkeen säilyttää jossain seuraavista olosuhteista:

- SST:ssä tai SAT:ssä 2–30 °C:ssa enintään 24 tunnin ajan,
- SST:ssä tai SAT:ssä 2–8 °C:ssa enintään 5 tunnin ajan tai
- SST:ssä tai SAT:ssä lämpötilassa -20 °C enintään 60 päivää.



**Kuva 4. SST-putkien säilytysolosuhteet**

#### C. Pitkäaikainen säilytys jäädytettynä

Plasma- tai seeruminäytteitä voidaan säilyttää -65 °C...-85 °C:ssa enintään 60 päivän ajan SAT-putkissa.

#### D. Plasma- ja seeruminäytteiden laimentaminen

Plasma- ja seeruminäytteet voidaan laimentaa SAT-putkessa Panther Systemissä testausta varten. Katso lisätietoja *Panther Systemin testausmenetelmä* -kohdan kappaleen E, "Näytteiden käsittely", vaiheesta 6.

**Huom.:** Jos näyte laimennetaan, se on testattava heti laimentamisen jälkeen. Älä jäädytä laimennettua näytettä.

### Panther Systemissä säilytetyt näytteet

Näytteet voidaan jättää Panther Systemiin ilman korkkia enintään 8 tunnin ajaksi. Näytteet voidaan poistaa Panther Systemistä ja testata, kunhan kokonaissäilytysaika järjestelmässä ei ylitä 8 tuntia, ennen kuin Panther System pipetoi näytteen.

### Näytteen kuljetus

Pidä näytteen säilytysolosuhteet kohdassa *Näytteiden keruu ja säilytys* kuvatuina.

**Huom.:** Näytteet on kuljetettava soveltuvien kansallisten, kansainvälisten ja alueellisten kuljetussääntöjen mukaisesti.

## Panther System

Aptima HBV Quant Assay -analyysin reagenssit luetellaan alla Panther Systemiä varten. Reagenssin yksilöintimerkinnät luetellaan myös reagenssin nimen vieressä.

### Toimitetut reagenssit ja materiaalit

**Huom.:** Jos haluat tietoja kaikista vaara- ja varotoimilausekkeista, jotka saattavat liittyä reagensseihin, tutustu käyttöturvallisuustiedotekirjastoon verkko-osoitteessa [www.hologic.com/sds](http://www.hologic.com/sds).

**Aptima HBV Quant Assay -pakkaus**, 100 testiä (luettelonro PRD-03424)  
(1 analyysilaatikko, 1 kalibraattoripakkaus, 1 kontrollipakkaus ja 1 kohteen vahvennereagenssilaatikko)

Kalibraattorit ja kontrollit voidaan tilata erikseen. Katso yksittäiset luettelonumerot alta.

#### Aptima HBV Quant Assay -laatikko

(säilytä 2–8 °C:ssa vastaanoton jälkeen)

Symboli	Osa	Määrä
A	<b>qHBV-monistusreagenssi</b> <i>Ei-infektiivat nukleiinihapot puskuriliuokseen kuivattuina.</i>	1 injektiopullo
E	<b>qHBV-entsyymireagenssi</b> <i>Käänteistranskriptaasi ja RNA-polymeraasi kuivattuina HEPES-puskuroidussa liuoksessa.</i>	1 injektiopullo
PRO	<b>qHBV-promoottireagenssi</b> <i>Ei-infektiivat nukleiinihapot puskuriliuokseen kuivattuina.</i>	1 injektiopullo
AR	<b>qHBV-monistuksen sekoitusliuos</b> <i>Vesiliuos, joka sisältää glyserolia ja säilöntäaineita.</i>	1 x 7,2 ml
ER	<b>qHBV-entsyymin sekoitusliuos</b> <i>HEPES-puskuroitu liuos, joka sisältää pinta-aktiivista ainetta ja glyserolia.</i>	1 x 5,8 ml
PROR	<b>qHBV-promootterin sekoitusliuos</b> <i>Vesiliuos, joka sisältää glyserolia ja säilöntäaineita.</i>	1 x 4,5 ml
TCR	<b>qHBV-kohteen poimintareagenssi</b> <i>Nukleiinihapot puskuroidussa suolaliuoksessa, joka sisältää kiinteän faasin ei-infektiivia nukleiinihappoja ja sisäistä kalibraattoria.</i>	1 x 72,0 ml
	<b>Liutuskaulukset</b>	3
	<b>Pääerän viivakoodiarkki</b>	1 arkki

**Aptima HBV Quant Calibrator -pakkaus** (luettelonro PRD-03425)  
(säilytä lämpötilassa -15 – -35 °C vastaanoton jälkeen)

Symboli	Osa	Määrä
PCAL	<b>qHBV Positive Calibrator</b> <i>Plasmidi-DNA puskuroidussa liuoksessa</i>	5 x 2,5 ml
	<b>Kalibraattorin viivakooditarra</b>	—

**Aptima HBV Quant Controls -pakkaus** (luettelonro PRD-03426)  
(säilytä lämpötilassa -15 – -35 °C vastaanoton jälkeen)

Symboli	Osa	Määrä
NC	<b>qHBV-negatiivinen kontrolli</b> <i>HBV-negatiivinen defibrinoitu ihmisen plasma, joka sisältää gentamysiiniä ja 0,2-prosenttista natriumatsidia säilöntäaineina.</i>	5 x 0,8 ml
LPC	<b>qHBV:n alarajan positiivinen kontrolli</b> <i>Inaktivoitu HBV-positiivinen plasma defibrinoidussa ihmisen plasmassa, joka sisältää gentamysiiniä ja 0,2-prosenttista natriumatsidia säilöntäaineina.</i>	5 x 0,8 ml
HPC	<b>qHBV:n ylärajan positiivinen kontrolli</b> <i>Inaktivoitu HBV-positiivinen plasma defibrinoidussa ihmisen plasmassa, joka sisältää gentamysiiniä ja 0,2-prosenttista natriumatsidia säilöntäaineina.</i>	5 x 0,8 ml
	<b>Kontrollin viivakooditarra</b>	—

**Aptima HBV Quant -kohteen vahvennereagenssilaatikko**  
(säilytä 15–30 °C:ssa vastaanoton jälkeen)

Symboli	Osa	Määrä
TER	<b>qHBV-kohteen vahvennereagenssi</b> <i>Litiumhydroksidiliuoksen konsentroitu liuos</i>	1 x 46,0 ml

**Materiaalit, jotka tarvitaan mutta jotka ovat saatavissa erikseen**

**Huom.:** Hologicilta saatavissa oleville materiaaleille on annettu tuotenumerot, ellei toisin ole määritetty.

Materiaali	Luettelonro
Panther System	—
Panther Run Kit for Real Time Assay -analyysit (vain reaaliaikaiset analyysit)	PRD-03455 (5 000 testiä)
<i>Aptima Assay Fluids Kit (tunnetaan myös nimellä Universal Fluids Kit)</i> <i>sisältää Aptima Wash Solution -pesuliuosta, Aptima Buffer for Deactivation Fluid -puskuria ja Aptima Oil Reagent -öljyreagenssia</i>	303014 (1 000 testiä)
<i>Moniputkisyksiköt (MTU:t)</i>	104772-02
<i>Panther-jätepussipakkaus</i>	902731
<i>Panther-jäteastian kansi</i>	504405
Vaihtoehtoisesti Panther System -ajosarja <i>(kun suoritetaan ei-reaaliaikaisia TMA-määrittelyjä rinnan reaaliaikaisten TMA-määrittelysten kanssa)</i> <i>sisältää moniputkisyksiköitä, jätepusseja, jäteastian kansiä ja analyysineiteitä</i>	303096 (5 000 testiä)
Kärjet, 1000 µl, johtava, nesteen tunnistava	10612513 (Tecan)
Valkaisuaine, 5–7-prosenttinen (0,7–1,0 M) natriumhypokloriittiliuos	—
Kertakäyttöiset, jauheettomat käsinet	—
Reagenssin vaihtokorkit <i>Monistus-, entsyymi- ja promootterireagenssin sekoituspullot CL0041 (100 korkkia)</i>	
<i>TCR-pullo</i>	CL0040 (100 korkkia)
<i>TER-pullo</i>	501604 (100 korkkia)
Muovitaustaiset laboratoriopöydän suojuukset	—
Nukkaamattomat liinat	—
Pipetoija	—
Kärjet	—
Käytettävien ensisijaisten keruuputkien on oltava mitoiltaan seuraavanlaisia:	—
<i>13 mm x 100 mm</i>	
<i>13 mm x 75 mm</i>	
<i>16 mm x 100 mm</i>	
Sentrifugi	—
Vortex-sekoitin	—

## Valinnaiset materiaalit

Materiaali	Luettelonro
Aptima-näytealivoottiputket (SAT:t) (100 kpl)	503762
Siirtoputken korkki (100 kpl) <i>korkki SAT:tä varten</i>	504415
Aptima-näytteenlaimennin	PRD-03003
Aptima-näytteenlaimenninpakkaus <i>sisältää näytteenlaimentimen, 100 SAT:tä ja 100 korkkia</i>	PRD-03478
Siirtopipetit	—
Kaupallisesti saatavissa olevat testisarjat, esim. <i>HBV-paneelit, joka on saatu Quality Control for Molecular Diagnosticsilta (QCMD)</i>	—
Vanukärkiset puikot	—
Putkiravistelijä	—

## Panther Systemin testausmenetelmä

**Huom.:** Katso tarkemmat tiedot menetelmästä Panther System -käyttöoppaasta.

### A. Työskentelyalueen valmistelu

- Puhdista työskentelypinnat, joissa reagenssit valmistetaan. Pyyhi työskentelypinnat 2,5–3,5-prosenttisella (0,35–0,5 M) natriumhypokloriittiliuoksella. Anna natriumhypokloriittiliuoksen koskea pintoihin vähintään 1 minuutin ajan ja tee sitten huuhtelu deionisoidulla (DI) vedellä. Älä anna natriumhypokloriittiliuoksen kuivua. Peitä pöytäpinta puhtailla, muovitaustaisilla imukykyisillä työpöytäpeitteillä.
- Puhdista erillinen työskentelypinta, jossa näytteet valmistellaan. Käytä edellä kuvattua menettelyä (vaihe A.1).
- Puhdista pipetoijat. Käytä edellä kuvattua puhdistusmenettelyä (vaihe A.1).

### B. Kalibraattorin ja kontrollien valmistus

Anna kalibraattorin ja kontrollien lämpötilan nousta 15–30 °C:seen ennen käsittelyä toimimalla seuraavasti:

- Poista kalibraattori ja kontrollit säilytyksestä (-15 – -35 °C) ja tuo ne 15–30 °C:n lämpötilaan. Käännä jokaista putkea koko sulatusprosessin ajan, jotta ne sekoittuvat kunnolla. Varmista, että putken sisältö sulaa kokonaan ennen käyttöä.

**Vaihtoehto:** Kalibraattori- ja kontrolliputket voidaan asettaa putkiravistelijaan, jossa ne sekoitetaan kunnolla. Varmista, että putken sisältö sulaa kokonaan ennen käyttöä.

**Huom.:** Vältä liian voimakasta vaahdonkehitystä kääntäessäsi kalibraattoria ja kontrolleja. Vaahto estää Panther Systemin pinnantason havainnoinnin toiminnan.

- Kun putken sisältö on sulanut, kuivaa putken ulkopinta puhtaalla, kuivalla, kertakäyttöisellä pyyhkeellä.
- Älä avaa putkia tässä vaiheessa, jotteivät ne kontaminoidu.

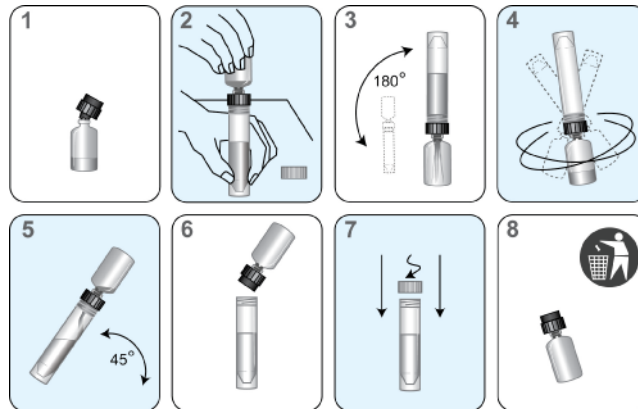
## C. Reagenssin liuotus / uuden tarvikesarjan valmistus

**Huom.:** Reagenssien liuotus on tehtävä ennen minkään töiden aloittamista Panther Systemissä.

1. Toimi seuraavasti kohteen poimintareagenssin (TCR) valmistelemista varten:
  - a. Poista TCR säilytyksestä (2–8 °C). Tarkista TCR-pullon eränumero ja varmista, että se vastaa pääerän viivakoodiarkin eränumeroa.
  - b. Ravistele TCR-pulloa heti voimakkaasti 10 kertaa. Anna TCR-pullon jäädä 15–30 °C:seen lämpenemään vähintään 45 minuutin ajaksi. Ravistele ja kääntelee tänä aikana TCR-pulloa vähintään 10 minuutin välein.

**Vaihtoehto:** TCR-pullo voidaan valmistella putkiravistelijassa seuraavien ohjeiden mukaisesti: Poista TCR säilytyksestä (2–8 °C) ja ravistele sitä heti voimakkaasti 10 kertaa. Aseta TCR-pullo putkiravistelijaan ja jätä TCR 15–30 °C:seen lämpenemään vähintään 45 minuutin ajaksi.
  - c. Varmista, että kaikki sakka on liuoksessa ja magneettihiukkaset on suspendoitu ennen käyttöä.
2. Tee monistus-, entsyymi- ja promootterireagenssien liuotus seuraavalla tavalla:
  - a. Poista kylmäkuivatut reagenssit ja vastaavat liuotusliuokset säilytyksestä (2–8 °C). Käytä jokaista liuotusliuosta kylmäkuivatun reagenssinsa kanssa.
  - b. Varmista, että liuotusliuoksella ja kylmäkuivatulla reagenssilla on täsmäyvät tarran värit. Tarkista pääerän viivakoodiarkin eränumerot ja varmista, että käytät yhdessä asianmukaisia reagensseja.
    - i. Avaa kylmäkuivatettu reagenssipullo poistamalla metallitiiviste ja kumitulppa.
    - ii. Aseta liuotuskaulus (musta) urallinen pää injektiopulloon (Kuva 5, vaihe 1).
    - iii. Avaa täsmävä liuotusliuospullo ja aseta korkki puhtaalle, peitetylle työskentelypinnalle.
    - iv. Aseta liuotusliuospullo vakaalle pinnalle (eli pöydälle). Käännä sen jälkeen kylmäkuivatua reagenssia sisältävä pullo liuotusliuospullon päälle ja kiinnitä kaulus lujasti liuotusliuospulloon (Kuva 5, vaihe 2).
    - v. Käännä kootut pullot hitaasti (injektiopullo kiinnitettynä liuospulloon), jotta liuos pääsee valumaan lasiseen injektiopulloon (Kuva 5, vaihe 3).
    - vi. Ota kootut pullot ja ravistele koottuja pulloja vähintään 10 sekunnin ajan (Kuva 5, vaihe 4).
    - vii. Odota vähintään 30 minuuttia, jota kylmäkuivatettu reagenssi valuu liuokseen.
    - viii. Kun kylmäkuivatettu reagenssi on valunut liuokseen, sekoita koottuja pulloja vähintään 10 sekunnin ajan ja ravistele sitten liuosta kevyesti lasisessa injektiopullossa edestakaisin, jotta se sekoittuu kunnolla.
  - c. Kallista koottuja pulloja hitaasti uudelleen, jotta kaikki liuos pääsee valumaan takaisin liuotusliuospulloon (Kuva 5, vaihe 5).
  - d. Ota liuotuskaulus ja lasinen injektiopullo varovasti pois (Kuva 5, vaihe 6).
  - e. Laita korkki takaisin pulloon. Merkitse käyttäjän nimikirjaimet ja sekoituspäivä tarraan (Kuva 5, vaihe 7).
  - f. Hävitä sekoituskaulus ja lasipullo (Kuva 5, vaihe 8).

**Varoitus:** Vältä liian voimakasta vaahdonkehitystä liuottaessasi reagensseja. Vaahto estää Panther Systemin pinnantason havainnoinnin toiminnan.



**Kuva 5. Reagenssin liuotusprosessi**

3. Ota qHBV-kohteen vahvennereagenssi pois säilytyksestä (15–30 °C). Merkitse käyttäjän nimikirjaimet ja avaamispäivä tarraan. Tarkista TER-pullon eränumero ja varmista, että se vastaa pääerän viivakoodiarkin eränumeroa.
- D. Reagenssin valmistus aiemmin valmistettuja reagensseja varten
1. Ota aiemmin valmistetut reagenssit pois säilytyksestä (2–8 °C). Ennalta valmistettujen monistus-, entsyymi- ja promootterireagenssien ja TCR:n lämpötilan on oltava 15–30 °C ennen analyysin aloittamista.
  2. Poista TER säilytyksestä (15–30 °C).
  3. Ennalta valmistetun TCR:n tapauksessa suorita edellä kuvattu vaihe C.1 ennen järjestelmään lisäämistä.
  4. Sekoita ja käänteile monistus-, entsyymi- ja promootterireagensseja, jotta ne sekoittuvat kunnolla, ennen kuin lisäät ne järjestelmään. Vältä liian voimakasta vaahdonkehitystä käännellessäsi reagensseja.
  5. Älä täytä vajaita reagenssipulloja. Panther System tunnistaa ja hylkää liian täydet pullot.
- E. Näytteiden käsittely
1. Varmista, että jäädytetyt näytteet on sulatettu kunnolla. Sekoita sulatettuja näytteitä vortex-sekoittimella 3–5 sekunnin ajan, jotta ne sekoittuvat kunnolla.
  2. Anna näytteiden lämpötilan nousta 15–30 °C:seen ennen käsittelyä. Katso kohdasta *Panther Systemissä säilytetyt näytteet* lisätietoja järjestelmässä säilytyksestä.
  3. Varmista, että jokainen ensisijainen keruuputki sisältää vähintään 1200 µl näytettä. Varmista, että jokainen Aptima-näytealikoottiputki (SAT) sisältää vähintään 700 µl näytettä. Jos näytteen laimennus on tarpeen, katso lisätietoja alta vaiheesta E.6.
  4. Sekoita vortex-sekoittimella näytteitä SAT-putkissa 3–5 sekunnin ajan, jotta ne sekoittuvat kunnolla.
  5. Sentrifugoi jokaista näytettä 1000–3000 G:n kiihtyvyydellä 10 minuutin ajan juuri ennen näytteiden asettamista näytetelineeseen. Älä poista korkkeja. Putkessa olevat kuplat estävät Panther Systemin pinnantason havainnoinnin toiminnan.

Katso alta kohdasta *Järjestelmän valmistelu*, vaihe F.2 lisätietoja telineeseen asettamisesta ja korkkien poistamisesta.

6. Näytteen laimentaminen SAT:ssä

Näyte voidaan laimentaa SAT-putkessa Panther Systemissä testausta varten.

**Huom.:** Jos näyte laimennetaan, se on testattava heti laimentamisen jälkeen.

a. Pienien näytteiden laimentaminen

Näytteiden tilavuus voidaan kasvattaa pienimpään sallittuun tilavuuteen (700 µl) Aptima-näytteenlaimentimella. Näytteet, joiden tilavuus on vähintään 240 µl, voidaan laimentaa kahteen osaan näytteenvaimenninta (1:3) seuraavasti:

- i. Aseta 240 µl näytettä SAT-putkeen.
- ii. Lisää 480 µl näytteenlaimenninta.
- iii. Sulje putki korkilla.
- iv. Kääntelee putkea kevyesti viisi kertaa, jotta se sekoittuu.

Suhteessa 1:3 laimennetut näytteet voidaan testata käyttämällä Panther Systemin 1:3-asetusta (katso tarkempia tietoja *Panther System -käyttöoppaasta*). Ohjelmisto ilmoittaa automaattisesti puhtaan tuloksen käyttämällä laimennuskerrointa. Nämä näytteet merkitään laimennetuiksi näytteiksi.

b. Väkevien näytteiden laimentaminen

Jos näytteen tulos ylittää kvantitoinnin ylärajan (ULoQ), se voidaan laimentaa 99 osalla Aptima-näytteenlaimenninta (1:100) seuraavasti:

- i. Aseta 30 µl näytettä SAT-putkeen.
- ii. Lisää 2970 µl näytteenlaimenninta.
- iii. Sulje putki korkilla.
- iv. Kääntelee putkea kevyesti viisi kertaa, jotta se sekoittuu.

Suhteessa 1:100 laimennetut näytteet voidaan testata käyttämällä Panther-järjestelmän 1:100-asetusta (katso lisätietoja *Panther System -käyttöoppaasta*). Ohjelmisto ilmoittaa automaattisesti puhtaan tuloksen käyttämällä laimennuskerrointa. Nämä näytteet merkitään laimennetuiksi näytteiksi.

**Huom.:** Laimennetuille näytteille, joiden sekoittamattomat pitoisuudet ylittävät ULoQ-arvon, tulokset ilmoitetaan tieteellistä viittausta käyttämällä.

F. Järjestelmän valmistelu

1. Valmistele järjestelmä *Panther System -käyttöoppaan* ja kohdan *Menetelmää koskevia huomautuksia ohjeiden mukaisesti*. Varmista, että käytetyt reagenssitelineet ja TCR-sovittimet ovat sopivankokoisia.
2. Lisää näytteet näytetelineeseen. Suorita seuraavat vaiheet jokaiselle näyteputkelle (näyte ja tarvittaessa kalibraattori ja kontrollit):
  - a. Avaa yhden näyteputken korkki, mutta älä ota sitä vielä pois.

**Huom.:** Ole erityisen varovainen, jottei aerosolien leviäminen aiheuta kontaminaatiota. Avaa näytteiden korkit varovasti.
  - b. Aseta näyteputki näytetelineeseen.
  - c. Toista vaiheet 2.a ja 2.b kaikille jäljellä oleville näytteille.



- d. Kun näytteet on asetettu näytetelineeseen, ota jokainen näyteputken korkki pois ja laita ne yhteen näytetelineeseen. Kontaminaation välttämiseksi älä vie korkkia minkään muun näytetelineen tai näyteputken yli.
- e. Käytä tarvittaessa uutta, kertakäyttöistä siirtopipettiä mahdollisten kuplien tai vaahdon poistamiseen.
- f. Kun viimeinen korkki on poistettu, aseta näyteteline näytesyvennykseen.  
**Huom.:** Jos ajat samaan aikaan muita analyysejä ja näytetyyppejä, kiinnitä näytepidike ennen näytetelineen asettamista näytesyvennykseen.
- g. Toista vaiheet 2.a ja 2.f seuraavalle näytetelineelle.

## Menetelmää koskevia huomautuksia

### A. Kalibraattori ja kontrollit

1. qHBV-positiivinen kalibraattori, qHBV:n alarajan positiivisen kontrollin, qHBV:n ylärajan positiivisen kontrollin ja qHBV-negatiivisten kontrollien putket voidaan asettaa mihin tahansa paikkaan näytetelineeseen ja mille tahansa Panther Systemin näytelokeron kaistalle. Näytteiden pipetointi aloitetaan, kun toinen seuraavista kahdesta ehdosta on täytetty:
  - a. Kalibraattori ja kontrollit ovat tällä hetkellä järjestelmän käsiteltävinä.
  - b. Kalibraattorin ja kontrollien validit tulokset rekisteröidään järjestelmään.
2. Kun kalibraattori- ja kontrolliputket on pipetoitu ja niitä käsitellään Aptima HBV Quant Assay -määritysreagenssarjan kanssa, näytteet voidaan testata asiaankuuluvien, liuotettujen tarvikesarjojen kanssa enintään 24 tunnin ajan, **paitsi jos**:
  - a. kalibraattorin tai kontrollin tulokset eivät ole valideja.
  - b. asiaankuuluvaa analyysireagenssarjaa ei ole poistettu järjestelmästä.
  - c. asiaankuuluvan analyysireagenssarjan säilyvyysaika ei ole ylittynyt.
3. Kalibraattori- ja jokaista kontrolliputkea voidaan käyttää vain kerran. Jos putkea yritetään käyttää useammin kuin kerran, seurauksena voi olla käsittelyvirheitä.

### B. Käsineiden jauhe

Kuten kaikkien reagenssijärjestelmien tapauksessa, tiettyjen käsineiden liian suuret jauhemäärät voivat aiheuttaa avattujen putkien kontaminoitumisen. Siksi suosittelemme jauheettomia käsineitä.

## **Laaduntarkistus**

Käyttäjä saattaa pilata ajon tai näytteen tuloksen, jos analyysin suorituksen aikana ilmenee teknisiä, käyttäjään tai laitteeseen liittyviä ongelmia, jotka on dokumentoitava. Tässä tapauksessa näytteet on testattava uudelleen.

### **Analyysin kalibrointi**

Analyysi on kalibroitava, jotta voidaan saada kelvollisia tuloksia. Yksi positiivinen kalibraattori ajetaan kolmesti joka kerta, kun reagenssisarja asetetaan Panther Systemiin. Kun kalibrointi on tehty, se on voimassa enintään 24 tunnin ajan. Panther Systemin ohjelmisto kertoo käyttäjälle, milloin kalibrointi on tarpeen. Käyttäjä lukee jokaisen reagenssisarjan mukana toimitetusta pääerän viivakoodiarkista kalibrointikertoimen.

Käsittelyn aikana Panther Systemin ohjelmisto tarkistaa automaattisesti kalibraattorin hyväksyntäehdot. Jos alle kaksi kalibraattorin ajoista on kelvollisia, ohjelmisto hylkää ajon automaattisesti. Virheelliseksi määritetyn ajon näytteet on testattava uudelleen käyttämällä juuri valmistettua kalibraattoria ja juuri valmistettuja kontrolleja.

### **Negatiiviset ja positiiviset kontrollit**

Analyysin kontrollien sarja on testattava, jotta voidaan saada kelvollisia tuloksia. Negatiivisen kontrollin, alarajan positiivisen kontrollin ja ylärajan positiivisen kontrollin yksi ajo on testattava joka kerta, kun reagenssisarja asetetaan Panther Systemiin. Kun testaus on tehty, kontrolleja voi käyttää enintään 24 tunnin ajan. Panther Systemin ohjelmisto kertoo käyttäjälle, milloin kontrolleja tarvitaan.

Käsittelyn aikana Panther Systemin ohjelmisto tarkistaa automaattisesti kontrollien hyväksyntäehdot. Jotta tuloksista tulee kelvollisia, negatiivisen kontrollin on annettava "Ei havaittu" -tulos ja positiivisen kontrollin tuloksen on oltava ennalta määritettyjen parametrien rajoissa (LPC-nimellistavoite: 2,7 Log<sub>10</sub> IU/ml, HPC-nimellistavoite: 4,6 Log<sub>10</sub> IU/ml). Jos jokin kontrolleista saa epäkelvon tuloksen, ohjelmisto hylkää ajon automaattisesti. Virheelliseksi määritetyn ajon näytteet on testattava uudelleen käyttämällä juuri valmistettua kalibraattoria ja juuri valmistettuja kontrolleja.

### **Sisäinen kalibraattori / sisäinen kontrolli**

Jokainen näyte sisältää sisäistä kalibraattoria / sisäistä kontrollia (IC). Käsittelyn aikana Panther System -ohjelmisto tarkistaa automaattisesti IC-hyväksyntäehdot. Jos IC-tulos on epäkelpo, näytteen tulos hylätään. Jokainen epäkelvon IC-tuloksen saanut näyte on testattava uudelleen, jotta sille saadaan kelvollinen tulos.

Panther System -ohjelmisto on suunniteltu verifioimaan prosesseja tarkasti, kun menettelyt suoritetaan noudattamalla tämän pakkauksen lisälehdessä ja *Panther System -käyttöoppaan ohjeita*.

## Tulosten tulkitseminen

Panther System määrittää automaattisesti HBV-DNA-pitoisuuden näytteistä ja kontrolleista vertaamalla tuloksia kalibrointikäyrään. HBV:n DNA-pitoisuudet ilmoitetaan yksiköissä IU/ml ja  $\log_{10}$  IU/ml. Tulosten tulkinta esitetään kohdassa Taulukko 1. Jos laimennetuille näytteille käytetään laimennosta, Panther System laskee automaattisesti HBV-pitoisuuden sekoittamattomalle näytteelle kertomalla pitoisuustulokset laimennuskertoimella, ja laimennetut näytteet merkitään laimennetuiksi.

**Huom.:** Laimennettujen näytteiden tapauksessa ”Ei havaittu”- tai ”< 10 havaittu” -ilmoitus voi aiheutua laimennettaessa näyte, jonka pitoisuus on yli mutta silti lähellä LoD (havaitsemisraja)- tai LLoQ (kvantitoinnin alaraja) -raja-arvoja. On suositeltavaa kerätä ja testata toinen sekoittaman näyte, jos kvantitatiivista tulosta ei saada.

Taulukko 1: Tuloksen tulkinta

Ilmoitettu Aptima HBV Quant Assay -analyysin tulos		Tulkinta
IU/ml	Log <sub>10</sub> -arvo <sup>a</sup>	
Ei havaittu	Ei havaittu	HBV:n DNA:ta ei havaittu.
< 10 havaittu	< 1,0	HBV:n DNA havaitaan, mutta sen pitoisuus on alle LLoQ:n.
10–1 000 000 000	1,0–9,0	HBV:n DNA:n pitoisuus on lineaarisella alueella 10–1 000 000 000 IU/ml.
> 1 000 000 000	> 9,0	HBV:n DNA:n pitoisuus on yli ULoQ:n.
Epäkelpo <sup>b</sup>	Epäkelpo <sup>b</sup>	Tuloksen muodostuksessa tapahtui virhe. Näyte on testattava uudelleen.

<sup>a</sup> Arvo lyhennetään kahteen desimaaliin.

<sup>b</sup> Epäkelvot tulokset näytetään sinisellä fontilla.

**Huom.:** Laimennetuille näytteille, joiden sekoittamattomat pitoisuudet ylittävät ULoQ-arvon, tulokset ilmoitetaan tieteellistä viittausta käyttämällä.

## Rajoitukset

- Tätä analyysiä saavat käyttää vain toimenpiteen suorittamisesta opastusta saaneet henkilöt. Tässä pakkausselosteessa annettujen ohjeiden noudattamattomuus saattaa aiheuttaa virheellisiä tuloksia.
- Luotettavat tulokset määräytyvät riittävän näytteen keruun, kuljetuksen, säilytyksen ja käsittelyn mukaan.
- Vaikkakin se on harvinaista, mutaatiot alukkeiden ja/tai koettimien kattamilla virusgenomin erittäin hyvin säilyneillä alueilla Aptima HBV Quant Assay -analyysissä voivat aiheuttaa viruksen alikvantitoinnin tai havaitsemisen epäonnistumisen.

**Suorituskyky****Havaitsemisraja käytettäessä WHO:n 3. kansainvälistä standardia**

Analyysin havaitsemisraja määritetään siksi HBV:n DNA-pitoisuudeksi, joka havaitaan 95 %:n tai suuremmalla todennäköisyydellä CLSI EP17-A2:n mukaisesti.<sup>12</sup>

LoD määritettiin testaamalla WHO:n 3. kansainvälisen hepatiitti B -viruksen DNA:n standardin (NIBSC 10/264) testisarjat laimennettuina HBV-negatiiviseen ihmisen plasmaan ja seerumiin. Jokaiselle laimennokselle testattiin 36 replikaattia jokaisella kolmesta reagenssierästä, jolloin saatiin vähintään 108 replikaattia laimennosta kohti. Probittianalyysi suoritettiin ennakoitujen havaitsemisrajojen luomiseksi. Kohdassa Taulukko 2 esitetyt LoD-arvot ovat tuloksia reagenssierästä, jolla on korkein ennakoitu havaitsemisraja. Aptima HBV Quant Assay -analyysin LoD WHO:n 3. kansainvälisen standardin mukaisesti määritettynä on 5,58 IU/ml plasman osalta ja 4,29 IU/ml seerumin osalta.

*Taulukko 2: Havaitsemisraja käytettäessä WHO:n 3. kansainvälistä HBV-standardia*

Ennakoitu havaitsemisraja	Pitoisuus (IU/ml)	
	Plasma	Seerumi
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

### Havaitsemisraja HBV-genotyyppien kesken

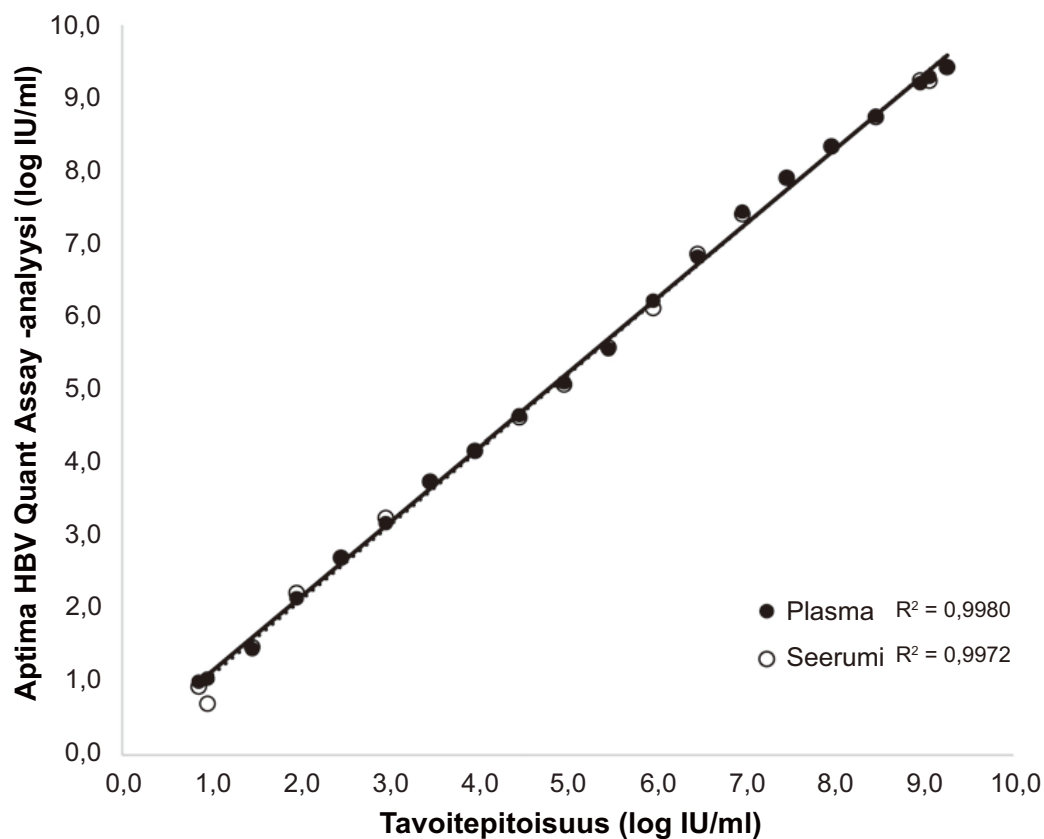
LoD määritettiin testaamalla genotyyppien A, B, C, D, E, F, G ja H HBV-positiivisten näytteiden laimennoksia HBV-negatiivisessa ihmisen plasmassa ja seerumissa. Pitoisuudet määritettiin käyttämällä CE-merkittyä ja Health Canada -lisensoitua vertailuanalyysiä. Jokaiselle testisarjan jäsenelle testattiin vähintään 24 replikaattia jokaisesta kahdesta reagenssierästä, jolloin saatiin vähintään 48 replikaattia testisarjan jäsentä kohti. Probittianalyysi suoritettiin 50 %:n ja 95 %:n ennakoitujen havaitsemisrajojen luomiseksi. Kohdassa Taulukko 3 esitetyt LoD-arvot ovat tuloksia reagenssierästä, jolla on korkein ennakoitu havaitsemisraja.

Taulukko 3: Havaitsemisraja HBV-genotyyppien kesken käytettäessä kliinisiä näytteitä

Genotyyppi	Ennakoitu havaitsemisraja	Pitoisuus (IU/ml)	
		Plasma	Seerumi
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

## Lineaarinen alue

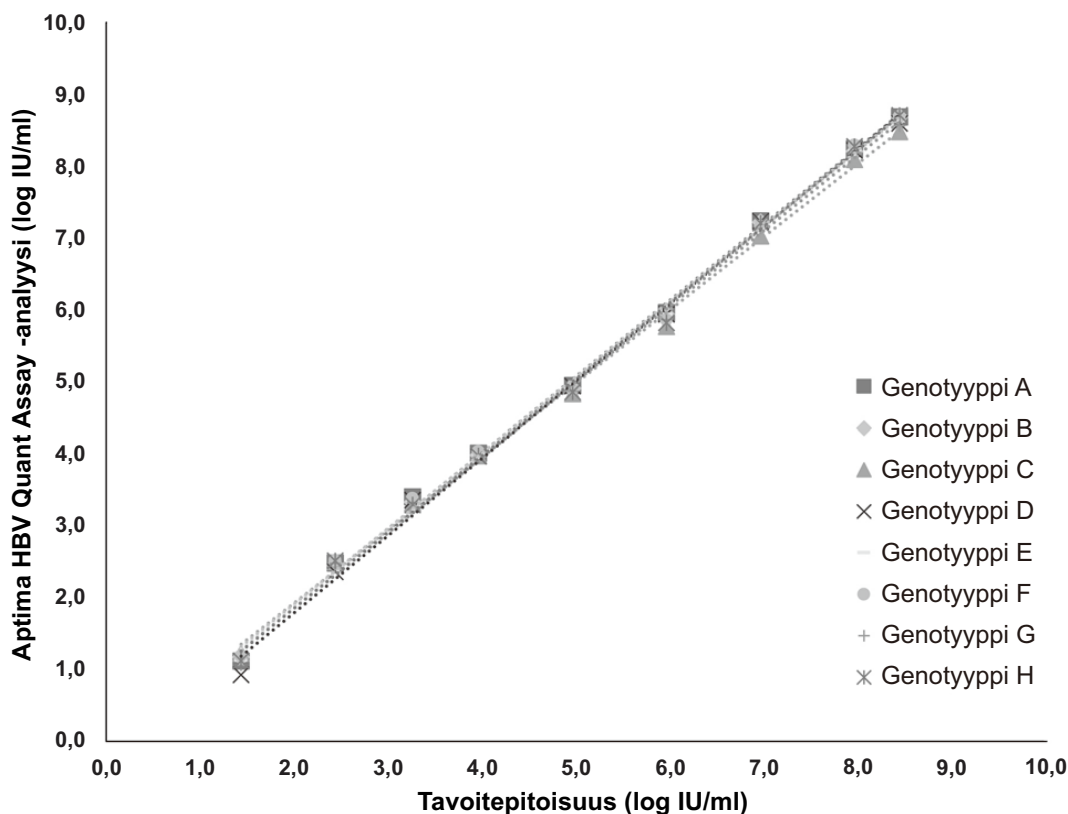
Lineaarinen alue määritettiin testaamalla testisarjat, jotka koostuivat HBV:n DNA:sta laimennettuna HBV-negatiiviseen ihmisen plasmaan ja seerumiin CLSI EP06-A:n mukaisesti.<sup>13</sup> Testisarjojen pitoisuusalue oli 0,86–9,26 log IU/ml. Aptima HBV Quant Assay -analyysi osoittautui lineaariseksi testatulla alueella, ja sen kvantitoinnin yläraja (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) oli 9 log IU/ml, kuten kohdasta Kuva 6 nähdään.



Kuva 6. Lineaarisuus plasmassa ja seerumissa

## Lineaarisuus HBV-genotyyppien kesken

Lineaarinen vaste genotyypeille A, B, C, D, E, F, G ja H vahvistettiin testaamalla testisarjat, joissa oli HBV:n DNA:ta laimennettuna puskuriin pitoisuuksilla 1,44–8,44 log IU/ml. Lineaarisuus osoitettiin testatulla alueella kaikille testatuille genotyypeille, kuten kohdasta Kuva 7 nähdään.



Kuva 7. Lineaarisuus HBV-genotyyppien A–H kesken

## Kvantitoinnin alaraja (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) käytettäessä WHO:n 3. kansainvälistä standardia

Kvantitoinnin alaraja (LLoQ) määritetään alimmaksi pitoisuudeksi, jolla HBV:n DNA kvantitoidaan luotettavasti kokonaisvirheen rajoissa CLSI EP17-A2:n mukaisesti.<sup>12</sup> Kokonaisvirhe arvioitiin kahdella menetelmällä: Analyysin kokonaisvirhe (Total Analytical Error, TAE) = |poikkeama| + 2SD; ja kokonaisvirhe (Total Error, TE) = neliöjuuri(2) x 2SD. Mittausten tarkkuuden ja täsmällisyyden varmistamista varten Aptima HBV Quant Assay -analyysin kokonaisvirheeksi määritettiin 1 log IU/ml (eli LLoQ-rajalla kahden mittauksen välinen ero, joka on yli 1 log IU/ml, on tilastollisesti merkitsevä).

LLoQ määritettiin testaamalla WHO:n 3. kansainvälisen hepatiitti B -viruksen RNA:n standardin (NIBSC 10/264) testisarjat laimennettuina HBV-negatiiviseen ihmisen plasmaan ja seerumiin. Jokaiselle laimennokselle testattiin 45 replikaattia jokaisella kolmesta reagenssierästä, jolloin saatiin vähintään 135 replikaattia laimennosta kohti. Kolmen reagenssierän tulokset näytetään Taulukko 4 plasmalle ja Taulukko 5 seerumille. Alhaisimman havaitun tarkkuustavoitteen (TE ≤ 1 log IU/ml ja TAE ≤ 1 log IU/ml) täyttävän pitoisuuden tulokset 100 %:n havaitsemisosuudella on varjostettu kummassakin taulukossa, ja niiden yhteenveto on Taulukko 6.

Laskettu LLoQ WHO:n 3. kansainvälisen hepatiitti B -viruksen standardille on 4,80 IU/ml plasman osalta ja 6,34 IU/ml seerumin osalta, ja ne perustuvat korkeimpaan kolmesta reagenssierästä laskettuun pitoisuuteen. Koska plasman laskettu LLoQ on alhaisempi kuin laskettu LoD 5,58 IU/ml, plasman LLoQ on 5,58 IU/ml WHO:n 3. kansainvälistä standardia varten EP 17-A2:n mukaisesti.

Taulukko 4: LLoQ:n määrittäminen käytettäessä WHO:n 3. kansainvälistä standardia plasmassa laimennetulle HBV:lle

Reagenssierä	Tavoitepitoisuus		Aptima HBV Quant	SD	Poikkeama	Laskettu TE	Laskettu 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 = keskihajonta

Taulukko 5: LLoQ:n määrittäminen käytettäessä WHO:n 3. kansainvälistä standardia seerumissa laimennetulle HBV:lle

Reagenssierä	Tavoitepitoisuus		Aptima HBV Quant	SD	Poikkeama	Laskettu TE	Laskettu 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 = keskihajonta

Taulukko 6: Lasketun LLoQ:n yhteenvedo käyttäen WHO:n 3. kansainvälistä HBV-standardia

Reagenssierä	Plasman LLoQ		Seerumin 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 = keskihajonta



## Kvantitoinnin alarajan (LLOQ) määrittäminen HBV-genotyyppien kesken

LLOQ määritettiin testaamalla genotyyppien A, B, C, D, E, F, G ja H HBV-positiivisten näytteiden laimennoksia HBV-negatiivisessa ihmisen plasmassa ja seerumissa. Jokaiselle testisarjan jäsenelle testattiin vähintään 36 replikaattia jokaisesta kahdesta reagenssierästä, jolloin saatiin vähintään 72 replikaattia testisarjan jäsentä kohti. Reagenssierän, jolla on suurin tarkkuustavoitteen ( $TE \leq 1 \log \text{ IU/ml}$  ja  $TAE \leq 1 \log \text{ IU/ml}$ ) täyttävä pitoisuus 100 %:n havaitsemisosuudella, tulokset näytetään Taulukko 7 plasmalle ja Taulukko 8 seerumille. Tarkkuustavoitteen 100 %:n havaitsemisosuudella täyttävän alhaisimman pitoisuuden tulokset on varjostettu kummassakin taulukossa, ja niiden yhteenveto on Taulukko 9. Genotyyppien A, B, C, D, E, F, G ja H lasketun LLOQ-arvojen yhteenvedot ovat esitetään kohdassa Taulukko 9. Näin analyysin kokonais-LLOQ:ksi määritettiin 10 IU/ml.

Taulukko 7: LLOQ:n määrittäminen genotyyppien kesken plasmasta

Genotyyppi	Tavoitepitoisuus		Aptima HBV Quant	SD	Poikkeama	Laskettu TE	Laskettu 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 = keskihajonta

Taulukko 8: LLoQ:n määrittäminen genotyyppien kesken seerumista

Genotyyppi	Tavoitepitoisuus		Aptima HBV Quant	SD	Poikkeama	Laskettu TE	Laskettu 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 = keskihajonta

Taulukko 9: LLoQ:n yhteenveto genotyyppien kesken plasman ja seerumin osalta

Genotyyppi	Plasman LLoQ		Seerumin 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

## Toistettavuus

Toistettavuuden arviointia varten tehtiin 28 testisarjan jäsentä liuottamalla HBV-positiivisia kliinisiä näytteitä (genotyyppi A ja C) tai lisäämällä HBV:n DNA:ta (genotyyppi A ja C) HBV-negatiiviseen plasmaan ja seerumiin. Testisarjan testasi kolme käyttäjää, jotka käyttivät kolmea reagenssierää kolmella Panther System -järjestelmällä vähintään 20 päivän aikana.

Taulukko 10 ja Taulukko 11 esittävät analyysin tulosten toistettavuuden (yksiköissä log IU/ml) laitteiden, käyttäjien, erien ja ajojen välillä, ajojen sisällä ja kokonaisuudessaan.

Kokonaisvaihtelu johtui pääasiassa ajon sisäisestä vaihtelusta (eli satunnaisvirheestä).

Taulukko 10: Aptima HBV Quant Assay -analyysin toistettavuus genotyypille A

Matriisi	N	Keskipitoisuus (log IU/ml)	Käyttäjien välillä		Laitteiden välillä		Erien välillä		Ajojen välillä		Ajon sisällä		Yhteensä	
			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
Seerumi	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
Seerumi	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
Seerumi	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
Seerumi	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
Seerumi	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
Seerumi	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
Seerumi	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 = vaihtelukerroin, SD = keskihajonta

**Huom.:** Joidenkin tekijöiden aiheuttama vaihtelu voi olla numeerisesti negatiivista, mikä voi tapahtua, jos näiden tekijöiden aiheuttama vaihtelu on erittäin pientä. Kun näin tapahtuu, SD- ja CV-arvoina esitetään 0.

Taulukko 11: Aptima HBV Quant Assay -analyysin toistettavuus genotyypille C

Matriisi	N	Keskipitoisuus (log IU/ml)	Käyttäjien välillä		Laitteiden välillä		Erien välillä		Ajojen välillä		Ajon sisällä		Yhteensä	
			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
Seerumi	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
Seerumi	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
Seerumi	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
Seerumi	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
Seerumi	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
Seerumi	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
Seerumi	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 = vaihtelukerroin, SD = keskihajonta

**Huom.:** Joidenkin tekijöiden aiheuttama vaihtelu voi olla numeerisesti negatiivista, mikä voi tapahtua, jos näiden tekijöiden aiheuttama vaihtelu on erittäin pientä. Kun näin tapahtuu, SD- ja CV-arvoina esitetään 0.

## Mahdollisesti häiritsevät aineet

Aptima HBV Quant Assay -analyysin herkkyys endogeenisten aineiden tai HBV-infektion saaneille potilaille yleisesti määrättyjen lääkkeiden pitoisuuden kohoamisen aiheuttamille häiriöille arvioitiin. Sellaiset HBV-negatiiviset plasmanäytteet ja näytteet testattiin, joihin on lisätty HBV:ta pitoisuudella 4,3 log IU/ml HBV:n DNA:ta.

Analyysin suorittamisessa ei havaittu mitään häiriöitä albumiinin (90 mg/ml), hemoglobiinin (5 mg/ml), triglyserideihin (30 mg/ml) tai konjugoitumattoman bilirubiinin (0,2 mg/ml) läsnä ollessa.

Sellaisten potilaiden, joilla määritettyjen aineiden pitoisuudet olivat koholla, tai sellaisten potilaiden, joilla on kohdassa Taulukko 12 mainittu sairaus, kliiniset plasmanäytteet testattiin Aptima HBV Quant Assay -analyysillä. Analyysin toiminnassa ei havaittu mitään häiriöitä.

Taulukko 12: Testattujen kliinisten näytteiden tyypit

Kliinisten näytteiden tyypit	
1	Tumavasta-aine (ANA)
2	Reumatoiditekijä (RF)
3	Alkoholin aiheuttama kirroosi (AC)
4	Alkoholin aiheuttama hepatiitti
5	Muu kuin alkoholin aiheuttama hepatiitti
6	Autoimmuunihepatiitti
7	Kohonnut alaniiniaminotransferaasipitoisuus (ALT)
8	Hepatosellulaarinen karsinooma (HCC)
9	Multipeliskleroosi (MS)
10	Systeeminen lupus erythematosus (SLE)
11	Hyperglobulinemia
12	Nivelreuma (RA)
13	Jo-1:n vasta-aine (JO-1)
14	Multippeli myelooma (MM)
15	Hemolysoitu (kohonnut hemoglobiinipitoisuus)
16	Keltatauti (kohonnut bilirubiinipitoisuus)
17	Lipemia (kohonnut lipidipitoisuus)
18	Kohonnut proteiini
19	HBV-vasta-aineet (rokotettu)
20	HCV-vasta-aineet
21	HIV-1- ja HIV-2-vasta-aineet

Analyysin suorittamisessa ei havaittu mitään häiriöitä, kun kohdassa Taulukko 13 mainittuja eksogeenisiä aineita oli pitoisuuksilla, jotka olivat vähintään kolme kertaa  $C_{max}$  (ihmisen plasma).

Taulukko 13: Eksogeeniset aineet

Eksogeeniset aineet yhdistettyinä	Testatut eksogeeniset aineet
1	Saquinavir, ritonavir, amprenavir, indinavir, lopinavir, nelfinavir mesylate
2	Clarithromycin, valganciclovir hydrochloride, efavirenz, nevirapine
3	Paroxetine HCl, enfuvirtide, zidovudine, didanosine, abacavir sulfate
4	Ribavirin, entecavir, adefovir dipivoxil, tenofovir disoproxil fumarate, lamivudine, ganciclovir, acyclovir
5	Stavudine, ciprofloxacin, fluoxetine, azithromycin, valacyclovir, sertraline, zalcitabine
6	Interferoni-alfa-2a, interferoni-alfa-2b, pegyloitu interferoni-alfa-2b

## Spesifisyys

Spesifisyys määritettiin käyttämällä 292 tuoretta ja 747 jäädytettyä HBV-negatiivista kliinistä näytettä. Testattuja plasmanäytteitä oli 521 ja vastaavasti seeruminäytteitä 518. Spesifisyys laskettiin sellaisten HBV-negatiivisten näytteiden prosenttiosuutena, joiden tulos oli ”Ei havaittu”. HBV:n DNA:ta ei havaittu 1038 näytteessä. Spesifisyys oli 99,9 % (1038/1039, 95 %:n luottamusväli (CI): 99,5-100 %).

Taulukko 14: Spesifisyys plasman ja seerumin kliinisissä näytteissä

	Tuore plasma	Jäädytetty plasma	Kokonaisplasma	Tuore seerumi	Jäädytetty seerumi	Kokonaisseerumi	Yhdistetty
Kelvolliset monikerrat (n)	145	376	521	147	371	518	1.039
Ei havaittu	145	376	521	147	370	517	1.038
<b>Spesifisyys (95 %:n CI)</b>	100 % (97,4-100)	100 % (99,0-100)	100 % (99,3-100)	100 % (97,5-100)	99,7 % (98,5-100)	99,8 % (98,9-100)	99,9 % (99,5-100)

CI = luottamusväli

## Analyyttinen spesifisyys

Mahdollinen ristireaktiivisuus kohdassa Taulukko 15 mainittujen patogeenien kanssa arviointiin HBV-negatiivisella ihmisen plasmalla HBV:n DNA:n ollessa läsnä pitoisuudella 4,3 log IU/ml HBV:tä tai HBV:n puuttuessa. Ristireaktiivisuutta tai interferenssiä ei havaittu bakteerisesti kontaminoidussa plasmassa tai näytteissä, jotka oli otettu koehenkilöiltä, joilla oli muu veren kautta tarttuva patogeeni tai jotka olivat saaneet HBV- ja flunssarokotteet.

Taulukko 15: Analyyttisen spesifisyyden suhteen testatut patogeenit

Mikro-organismi/patogeeni	Lähde	Mikro-organismi/patogeeni	Lähde
Hepatiitti C -virus	Kliininen näyte	Ihmisen herpesvirus, tyyppi 8	Viljelyneeste
Hepatiitti A -virus	Kliininen näyte	Japanilainen aivokuumevirus	Askiittineeste
HBV-rokotettu	Kliininen näyte	Murray Valleyn aivokuumevirus	Solun lyaatti
HIV-1 ja -2	Kliininen näyte	St. Louisin aivokuumevirus	Viljelyneeste
Ihmisen T-solun lymfotrooppinen virus, tyypit 1 ja 2	Kliininen näyte	Vaccinia-virus	Solun lyaatti
Parvovirus B19	Kliininen näyte	Keltakuumevirus	Viljelyneeste
Sytomegalovirus	Kliininen näyte	<i>Candida albicans</i>	Viljely
Denguevirus, tyyppi 1–4	Kliininen näyte	<i>Chlamydia trachomatis</i>	Viljely
Epstein-Barr-virus	Kliininen näyte	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	Viljely
Flunssarokotettu	Kliininen näyte	<i>Mycobacterium gordonae</i>	Viljely
Ihmisen papilloomavirus	Kliininen näyte	<i>Mycobacterium smegmatis</i>	Viljely
Herpes simplex -virus 1 ja 2	Kliininen näyte	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Viljely
Vihurirokkovirus	Kliininen näyte	<i>Propionibacterium acnes</i>	Viljely
Varicella zoster -virus	Kliininen näyte	<i>Staphylococcus aureus</i>	Viljely
Länsi-Niilin virus	Kliininen näyte	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Viljely
BK ihmisen polyomavirus	Solun lyaatti	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Viljely
Ihmisen herpesvirus 6B	Viljelyneeste	<i>Trichomonas vaginalis</i>	Viljely

**Kliinisten näytteiden toistettavuus**

Toistettavuus arvioitiin testaamalla luonnostaan infektoituneiden HBV-positiivisten kliinisten plasma- ja seeruminäytteiden kolme replikaattia. Testattujen plasma- ja seeruminäytteiden keskipitoisuus ja keskihajonta esitetään kohdissa Taulukot 16 ja 17.

Taulukko 16: Kliinisten plasmanäytteiden toistettavuus

Plasmanäyte	Keskipitoisuus (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 = keskihajonta

Taulukko 17: Kliinisten seeruminäytteiden toistettavuus

Seeruminäyte	Keskipitoisuus (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 = keskihajonta



## Näytteen laimentaminen näytteenlaimentimella

Jotta saatiin arvioitua HBV:n DNA:n talteenotto näytteistä, jotka oli laimennettu Aptima-näytteenlaimentimella, lineaarisella alueella olevat plasma- ja seeruminäytteet laimennettiin 1:3 Aptima-näytteenlaimentimella. Lisäksi väkevät luonnostaan infektoituneet kliiniset näytteet ja näytteet, joihin oli lisätty HBV-DNA:ta pitoisuuksilla, jotka olivat yli ULoQ-raja-arvon, laimennettiin 1:100 Aptima-näytteenlaimentimella. Jokainen näyte testattiin sekoittamattomana ja laimennettuna (1:3 tai 1:100) kolmena replikaattina. Keskimääräisen ilmoitetun pitoisuuden (laimennuskerronta käytetty laimennetun näytteen tulokseen) ja keskimääräisen sekoittamattoman pitoisuuden erot ilmoitetaan kohdassa Taulukko 18 plasmalle ja kohdassa Taulukko 19 seerumille. Näytepitoisuudet saatiin tarkasti talteen laimennetuista näytteistä.

Taulukko 18: Näytteen laimentaminen Aptima-näytteenlaimentimella plasmassa

Laimennos	Sekoittamaton keskipitoisuus (log IU/ml)	Ilmoitettu keskipitoisuus <sup>a</sup> (log IU/ml)	Ero (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 <sup>b</sup> (10,20 <sup>c</sup> )	10,40	0,20

<sup>a</sup> Ilmoitettu pitoisuus on arvo, joka on laskettu laimennuskertoimen käyttämisen jälkeen.

<sup>b</sup> Näyte, johon on lisätty HBV:ta.

<sup>c</sup> Tavoitepitoisuusarvo, joka on suurempi kuin ULoQ.

Taulukko 19: Näytteen laimentaminen Aptima-näytteenlaimentimella seerumissa

Laimennos	Sekoittamaton keskipitoisuus (log IU/ml)	Ilmoitettu keskipitoisuus <sup>a</sup> (log IU/ml)	Ero (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
1:100	8,47	8,31	-0,16
	8,47	8,19	-0,28
	> 9,00 <sup>b</sup> (10,20 <sup>c</sup> )	10,43	0,23

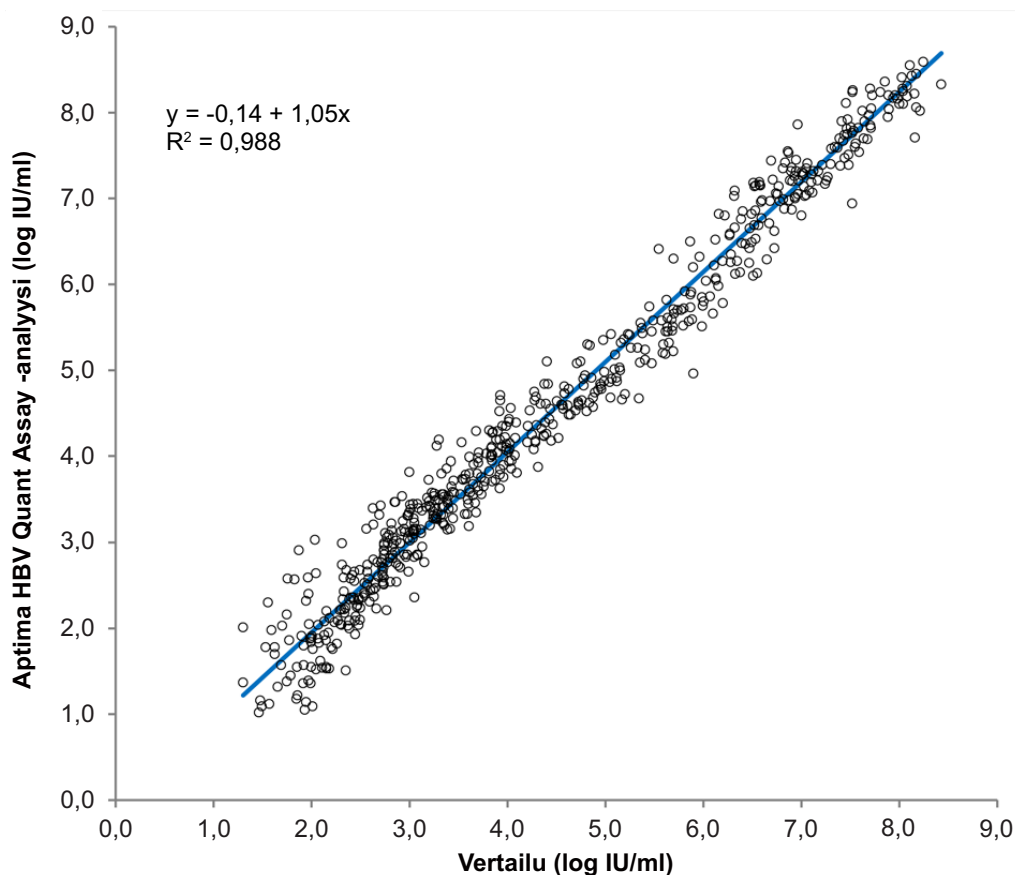
<sup>a</sup> Ilmoitettu pitoisuus on arvo, joka on laskettu laimennuskertoimen käyttämisen jälkeen.

<sup>b</sup> Näyte, johon on lisätty HBV:ta.

<sup>c</sup> Tavoitepitoisuusarvo, joka on suurempi kuin ULoQ.

## Menetelmän korrelaatio

Aptima HBV Quant Assay -analyysin suorituskykyä arvioitiin suhteessa CE-merkittyn ja Health Canada -lisensoituun vertailuanalyysiin testaamalla HBV-infektoituneiden potilaiden laimentamattomia kliinisiä näytteitä. Lineaariseen regression käytettiin yhteensä 614 kliinistä näytettä kummallekin analyysille yhteiseltä lineaariselta alueelta kohdan Kuva 8 mukaisesti.



**Kuva 8. Aptima HBV Quant Assay -analyysin ja vertailuanalyysin välinen korrelaatio**

## Näytteiden välinen kontaminaatio

Käyttämällä kolmea Panther System -järjestelmää ja testisarjoja, joihin oli lisätty HBV:ta, määritettiin, että Panther System vähentää näytteiden välisen kontaminaation aiheuttamien epäkelpojen positiivisten tulosten riskiä. Näytteiden välinen kontaminaatio arvioitiin käyttämällä väkeviä plasmanäytteitä, joihin oli lisätty HBV:n DNA:ta (8 log IU/ml), HBV-negatiivisten näytteiden joukkoon shakkilautakuvion tavoin siroteltuina. Testaus suoritettiin viidellätoista ajolla. Näytteiden välisen kontaminaation kokonaisosuus oli 0,0 % (0/705).

## Lähdeluettelo

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

**Asiakastuki:** +1 844 Hologic (+1 844 465 6442)  
customersupport@hologic.com

**Tekninen tuki:** +1 888 484 4747  
molecularsupport@hologic.com

Lisää yhteystietoja on osoitteessa [www.hologic.com](http://www.hologic.com).



**Emergo Europe**  
Prinsessegracht 20  
2514 AP The Hague  
The Netherlands

Hologic, Aptima ja Panther ovat Hologic Inc:n ja/tai sen tytäryhtiöiden tavaramerkkejä ja/tai rekisteröityjä tavaramerkkejä Yhdysvalloissa ja/tai muissa maissa. Kaikki muut tässä pakkauselosteessa olevat tavaramerkit ovat omistajiensa omaisuutta.

Yksi tai useampi sivustossa [www.hologic.com/patents](http://www.hologic.com/patents) mainituista US-patenteista voi kattaa tämän tuotteen.

© 2016-2017 Hologic, Inc. Kaikki oikeudet pidätetään.

AW-13182-1701 versio. 003  
2017-05