

cobas[®] HBV

Ilościowy test kwasu nukleinowego do użytku z systemem cobas[®] 4800

Do stosowania w diagnostyce *in vitro*

cobas[®] HBV	120 Tests	P/N: 06979564190
cobas[®] HBV/HCV/HIV-1 Control Kit	10 Sets	P/N: 06979572190
cobas[®] 4800 System Sample Preparation Kit 2	240 Tests 960 Tests	P/N: 06979513190 P/N: 06979521190
cobas[®] 4800 System Wash Buffer Kit	240 Tests 960 Tests	P/N: 05235863190 P/N: 05235871190
cobas[®] 4800 System Specimen Diluent 2	240 Tests	P/N: 06979556190
cobas[®] 4800 System Lysis Kit 2	240 Tests 960 Tests	P/N: 06979530190 P/N: 06979548190

Spis treści

Zastosowanie

Podsumowanie oraz opis testu

Informacje podstawowe	4
Uzasadnienie badań na obecność HBV	5
Objaśnienie testu	5
Zasady procedury	5

Materiały i odczynniki

Odczynniki	7
Wymagania dotyczące przechowywania i użytkowania odczynników	12
Wymagane materiały dodatkowe	12
Urządzenia i oprogramowanie wymagane, lecz niedostarczane	13
Obsługiwane próbki na próbki	13

Wymagania dotyczące środków ostrożności i użytkowania

Ostrzeżenia i środki ostrożności	14
Dobra praktyka laboratoryjna	15
Użytkowanie odczynników	15
Zanieczyszczenie	15
Integralność	16
Utylizacja	16
Rozlanie płynów i czyszczenie	16
Pobieranie, transport i przechowywanie próbek	17
Pobieranie próbek	17
Transport, przechowywanie i stabilność próbek	17

Instrukcja użytkowania

Wykonywanie oznaczenia	18
Objętość przetwarzania próbki	18
Wielkość przebiegu	18
Przebieg pracy	19

Wyniki

Kontrola jakości i ważność wyników	22
Interpretacja wyników kontroli	22
Interpretacja wyników	23
Lista flag wyników	24
Ograniczenia metody	25

Ocena skuteczności w badaniach nieklinicznych

Najważniejsze parametry działania testu	26
Granica wykrywalności (LoD)	26
Międzynarodowy standard WHO	26
Zakres liniowości	28
Dokładność wewnątrz laboratorium	30
Weryfikacja genotypu	32
Swoistość analityczna	33
Swoistość analityczna — substancje wpływające na wynik testu	33
Równoważność matrycy — osocze pobrane na EDTA i surowice	35
Błąd całego systemu	35
Zanieczyszczenie pomiędzy próbkami	35

Ocena klinicznej wiarygodności testu

Swoistość	36
-----------------	----

Dodatkowe informacje

Najważniejsze cechy testu	37
Oznaczenia	38
Pomoc techniczna	39
Wytwórca	39
Znaki towarowe i patenty	39
Prawo autorskie	39
Piśmiennictwo	40
Wersja dokumentu	41

Zastosowanie

cobas® HBV:

cobas® HBV to test *in vitro* amplifikacji kwasu nukleinowego do ilościowego oznaczania DNA wirusa zapalenia wątroby typu B (HBV) w ludzkim osoczu EDTA lub surowicy osób zakażonych wirusem HBV przy użyciu zautomatyzowanego systemu **cobas® 4800** do przetwarzania próbek, amplifikacji i detekcji.

Test ten jest przeznaczony do użycia jako pomoc w opiece klinicznej nad chorymi z przewlekłym zakażeniem wirusem HBV, poddawany terapii przeciwwirusowej. Test można zastosować do zmierzenia wyjściowego poziomu DNA wirusa HBV oraz do powtórnego pomiaru podczas leczenia, co pomaga w ocenie odpowiedzi chorego na leczenie. Wyniki testu **cobas® HBV** muszą być interpretowane w oparciu o wszystkie istotne dane kliniczne i laboratoryjne.

cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit:

Zestaw **cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit** jest przeznaczony do stosowania jako pozytywna i negatywna kontrola oznaczania w systemie **cobas® 4800** z testami **cobas® HBV**, **cobas® HCV**, i **cobas® HIV-1**.

Podsumowanie oraz opis testu

Informacje podstawowe

Wirus zapalenia wątroby typu B (HBV) jest jednym z szeregu wirusów o znanej zdolności wywoływania wirusowego zapalenia wątroby. Przeszło dwa miliardy ludzi na całym świecie było narażonych na wirus HBV, zaś spośród nich ponad 350 milionów osób to przewlekle zakażeni nosiciele.¹ Wirus HBV to główna przyczyna chorób wątroby w Stanach Zjednoczonych (USA) mimo spadającej liczby przypadków ostrego zakażenia w związku ze szczepieniami oraz uniwersalnymi środkami ostrożności dotyczącymi stosowania igieł.² Całkowita częstość występowania zakażeń wirusem HBV w USA została oszacowana na od 0,3% do 0,5%, przy czym od 47% do 70% przypadków dotyczy osób urodzonych poza USA.² Jednak programy celowanych badań przesiewowych wykazały w pewnych populacjach imigrantów wysokiego ryzyka częstości występowania ponad 15% większe.³ Pacjenci z przewlekłym zakażeniem wirusem HBV wykazują podwyższone ryzyko długoterminowych powikłań zakażenia, w tym przewlekłego zapalenia i marskości wątroby oraz pierwotnego raka wątrobowokomórkowego.⁴⁻⁷ Markery serologiczne są powszechnie stosowane w roli diagnostycznych i/lub prognostycznych wskaźników ostrego lub przewlekłego zakażenia wirusem HBV.⁸ Centra Kontroli i Zapobiegania Chorobom (ang. Centers for Disease Control and Prevention, CDC) w USA rozszerzyły swoje zalecenia dotyczące rutynowych badań przesiewowych osób wysokiego ryzyka, aby obejmowały one teraz badania przesiewowe w populacjach, w których częstość występowania antygenu powierzchniowego wirusa HBV (HBsAg) przekracza 2%, w tym osób z endemicznych obszarów świata (takich jak Azja i Afryka), mężczyzn uprawiających seks z mężczyznami oraz użytkowników narkotyków z użyciem igieł.²

Najczęściej stosowanym markerem zakażenia wirusem HBV jest obecność antygenu HBsAg.⁸ Chociaż u nosicieli może dochodzić do eliminacji antygenu HBsAg oraz do wytwarzania przeciwciał skierowanych przeciwko niemu, okazuje się, że osoby te są nadal obciążone ryzykiem rozwoju w późniejszym okresie życia poważnych powikłań dotyczących wątroby.^{9,10} Antygenu HBe (HBeAg) używa się zazwyczaj jako markera wtórnego, wskazującego na czynną replikację HBV związaną z postępującą chorobą wątroby. Okazuje się, że niezdolność do eliminacji antygenu HBeAg zwiększa ryzyko wystąpienia krańcowych stadiów rozwoju choroby wątroby.^{9,10} Szczepy wariantów mutantów wirusa HBV w regionie precore tracą zdolność wytwarzania

antygeny HBeAg nawet w przypadku występowania czynnego zakażenia ograniczając zastosowanie tego markera do celów monitorowania postępu choroby.⁷

Uzasadnienie badań na obecność HBV

DNA wirusa HBV w osoczu z dodatkiem EDTA i surowicy można oznaczyć ilościowo za pomocą technik amplifikacji kwasu nukleinowego, takich jak PCR.¹¹⁻¹⁴ Kilka kluczowych wytycznych zaleca stosowanie metodologii PCR w czasie rzeczywistym w celu ilościowego oznaczania DNA wirusa HBV głównie ze względu na zwiększoną czułość oraz szerszy zakres liniowy.^{15,16}

Objaśnienie testu

Test **cobas®** HBV to ilościowy test kwasu nukleinowego stosowany w systemie **cobas®** 4800. Test **cobas®** HBV umożliwia wykrywanie oraz ilościowe oznaczanie DNA HBV w próbkach osocza krwi pobranej na EDTA lub w surowicy zakażonych pacjentów. Sondy są stosowane do wykrywania i oznaczania ilościowego, ale nie do rozróżniania genotypów A, B, C, D, E, F, G i H wirusa HBV oraz najczęściej występującego mutantu w regionie precore. Liczba kopii wirusa jest określana ilościowo według standardu ilościowego DNA faga lambda (DNA QS), który jest wprowadzany do każdej próbki podczas jej przygotowania. DNA QS spełnia również funkcję kontroli wewnętrznej, monitorującej cały proces przygotowania próbki oraz amplifikacji PCR. Dodatkowo test wykorzystuje trzy kontrole zewnętrzne: o wysokim mianie dodatnim, o niskim mianie dodatnim i kontrolę ujemną. Zewnętrzne kontrole wysokododatnie i niskododatnie wytwarza się przez rozcieńczanie z materiału wyjściowego o mianie spójnym z 2. międzynarodowym standardem WHO HBV. Każda seria zestawu do amplifikacji/detekcji została skalibrowana w odniesieniu do 2. międzynarodowego standardu WHO HBV (kod NIBSC 97/750).

Zasady procedury

Test **cobas®** HBV opiera się na całkowicie zautomatyzowanym przygotowaniu próbek (ekstrakcji i oczyszczaniu kwasów nukleinowych), po którym przeprowadzana jest amplifikacja i detekcja podczas reakcji PCR. System **cobas®** 4800 składa się z aparatu **cobas®** x 480 oraz analizatora **cobas®** z 480. Automatyczne przetwarzanie danych jest prowadzone przez oprogramowanie **cobas®** 4800, które przypisuje wynik testu dla wszystkich badań jako „nie wykryto”, „< dolnej granicy oznaczalności”, „> górnej granicy oznaczalności” lub „wykryto DNA HBV”, wartość w liniowym zakresie oznaczalności (dolna granica oznaczalności $\leq x \leq$ górna granica oznaczalności). Wyniki można analizować bezpośrednio na ekranie systemu, można je eksportować lub wydrukować w postaci raportu.

Kwasy nukleinowe z próbek pacjentów, kontrole zewnętrzne i dodane cząsteczki QS DNA faga lambda są izolowane równocześnie. Podsumowując, kwasy nukleinowe wirusów są uwalniane przez dodanie do próbek proteiny i odczynnika do lizy. Uwolnione kwasy nukleinowe łączą się z silikonową powierzchnią dodanych szklanych cząstek magnetycznych. Niezwiązane substancje i zanieczyszczenia, takie jak zdenaturowane białka, pozostałości komórek i potencjalne inhibitory reakcji PCR są usuwane na kolejnych etapach z użyciem buforu płuczącego, a oczyszczone kwasy nukleinowe są następnie wymywane w podwyższonej temperaturze ze szklanych cząstek magnetycznych z użyciem buforu do elucji.

Wybiórcza amplifikacja docelowych kwasów nukleinowych z próbki pacjenta jest możliwa przez zastosowanie docelowych swoistych dla wirusa starterów, przedniego i wstecznego, które są wybierane w obrębie wysoce konserwatywnych obszarów HBV. Selektywna amplifikacja DNA QS uzyskiwana jest przy użyciu starterów wiodącego odwrotnego o swoistej sekwencji, które wybierane są tak, aby nie były homologiczne z genomem HBV. Do amplifikacji w procesie PCR wykorzystywana jest termostabilna polimeraza DNA. Odczynnik Master Mix zamiast trifosforanu deoksytymidyny (dTTP) zawiera trifosforan deoksyurydyny (dUTP), który jest wbudowywany do nowo syntetyzowanego DNA (amplikonu).^{14, 17, 18} Stanowiące zanieczyszczenie amplikony z poprzednich reakcji PCR są niszczone jako matryce PCR za pomocą enzymu AmpErase, który znajduje się

w mieszaniu Master Mix, przed pierwszym etapem denaturacji w procesie PCR. Enzym AmpErase katalizuje usuwanie uracylu z DNA, ale nie wykazuje działania na naturalnie występujący DNA, który nie zawiera uracylu. Amplikony powstające podczas kolejnych cykli PCR nie ulegają inaktywacji, ponieważ enzym AmpErase jest nieaktywny w temperaturach używanych podczas hybrydyzacji i denaturacji termicznej w procesie PCR.

Odczynnik Master Mix **cobas®** HBV zawiera sondy detekcyjne, które są swoiste wobec odpowiednio sekwencji docelowych wirusa HBV oraz kwasu nukleinowego QS. Swoiste dla wirusów HBV oraz standardu DNA-QS sondy detekcyjne są znakowane jednym z dwóch unikatowych barwników fluorescencyjnych, pełniących rolę barwnika reporterowego. Każda sonda jest również wyznakowana drugim barwnikiem pełniącym rolę wygaszacza. Dwa barwniki reporterowe są mierzone przy zdefiniowanych długościach fali umożliwiając w ten sposób jednoczesne wykrywanie i rozróżnianie amplifikowanego docelowego wirusa HBV oraz standardu DNA-QS.^{12,13} W przypadku niezwiązania z sekwencją docelową sygnał fluorescencyjny nienaruszonej sondy jest tłumiony przez barwnik wygaszający. Podczas amplifikacji PCR hybrydyzacja sond do swoistych sekwencji jednoniciowej matrycy DNA skutkuje cięciem nici sondy przez polimerazę DNA w wyniku jej aktywności egzonukleazy w kierunku od końca 5' do 3', co powoduje rozdzielenie barwników reporterowego i wygaszającego oraz wygenerowanie sygnału fluorescencyjnego. Z każdym cyklem PCR generowana jest zwiększająca się liczba rozszczepionych sond i jednocześnie wzrasta sumaryczny sygnał barwnika reporterowego.

Ponieważ fluorescencja dwóch swoistych barwników reporterowych jest mierzona przy określonych długościach fali, możliwa jest równoczesna detekcja i rozróżnienie zamplifikowanych sekwencji docelowych wirusów HBV oraz standardu DNA-QS.

Materiały i odczynniki

Odczynniki

Wszystkie nieotwarte odczynniki i kontrole mogą być przechowywane zgodnie z zaleceniami zawartymi w tabeli **Wymagania dotyczące przechowywania i użytkowania odczynników**.

Zestaw	Elementy i składniki odczynników	Ilość na zestaw	Symbol bezpieczeństwa i ostrzeżenie ^a
cobas® HBV 120 testów (P/N: 06979564190)	MMX R1 (Odczynnik 1 cobas® Master Mix) Octan magnezu, wodorotlenek potasu, < 0,1% azydku sodu	10 × 1,75 ml	ND
	HBV MMX R2 (Odczynnik 2 cobas® HBV Master Mix) Bufor trycynowy, octan potasu, 18% dimetylosulfotlenku, glicerol, < 0,1% Tween 20, EDTA, < 0,12% dATP, dCTP, dGTP, dUTP, < 0,01% starterów sensownych i antysensownych dla HBV, < 0,01% starterów sensownego i antysensownego standardu ilościowego, < 0,01% znakowanych barwnikami fluorescencyjnymi sond oligonukleotydowych, swoistych dla HBV i standardu ilościowego, < 0,01% aptameru oligonukleotydowego, < 0,01% polimerazy DNA Z05D (bakteryjnej), < 0,01% enzymu AmpErase (uracylo-N- glikozylazy) (bakteryjnej), < 0,1% azydku sodu	10 × 0,5 ml	ND
	DNA QS (Standard ilościowy cobas® HBV DNA) Bufor Tris, < 0,05% EDTA, < 0,001% konstruktu innego niż HBV zawierającego starter wiążący region inny niż HBV oraz region unikatowej sondy (niezakaźny DNA), 0,002% Poli-rA RNA (syntetyczny), < 0,1% azydku sodu	10 × 1,75 ml	ND

Zestaw	Elementy i składniki odczynników	Ilość na zestaw	Symbol bezpieczeństwa i ostrzeżenie ^a
cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit 10 zestawów (P/N: 06979572190)	HBV/HCV/HIV-1 L(+) C (Kontrola słabo dodatnia cobas® HBV/HCV/HIV-1) < 0,001% syntetycznego RNA (Armored) wirusa HIV-1 grupy M opłaszczonego białkiem kapsydowym bakteriofaga MS2, < 0,001% syntetycznego (plazmidowego) DNA wirusa HBV opłaszczonego białkiem kapsydowym bakteriofaga Lambda, < 0,001% syntetycznego (Armored) RNA wirusa HCV opłaszczonego białkiem kapsydowym bakteriofaga MS2, prawidłowe osocze ludzkie niewykazujące reaktywności w licencjonowanych testach na obecność przeciwciał przeciwko wirusowi HIV 1/2, HCV, antygenowi HBsAg ani przeciwciał przeciwko antygenowi HBe; RNA wirusa HIV-1, RNA wirusa HIV-2, RNA wirusa HCV i DNA wirusa HBV niewykrywalnego metodami PCR 0,1% substancji konserwującej ProClin® 300 ^b	10 × 0,75 ml	  OSTRZEŻENIE H317: Może powodować reakcję alergiczną skóry. P261: Unikać wdychania pyłu/dymu/gazu/mgły/par/rozpylonej cieczy. P272: Zanieczyszczonej odzieży ochronnej nie wynosić poza miejsce pracy. P280: Stosować rękawice ochronne. P333 + P313: W przypadku wystąpienia podrażnienia skóry lub wysypki: zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza. P362 + P364: Zanieczyszczoną odzież zdjąć i wyprać przed ponownym użyciem. P501: Zawartość/pojemnik usuwać do autoryzowanego zakładu utylizacji odpadów. 55965-84-9 Masa reakcyjna: 5-chloro-2-metylo-4-izotiazolino-3-on [WE nr 247-500-7] i 2-metylo-2H-izotiazolo-3-on [WE nr 220-239-6] (3:1).
	HBV/HCV/HIV-1 H(+) C (Kontrola silnie dodatnia cobas® HBV/HCV/HIV-1) < 0,001% syntetycznego RNA (Armored) wirusa HIV-1 grupy M opłaszczonego białkiem kapsydowym bakteriofaga MS2, < 0,001% syntetycznego (plazmidowego) DNA wirusa HBV opłaszczonego białkiem kapsydowym bakteriofaga Lambda, < 0,001% syntetycznego (Armored) RNA wirusa HCV opłaszczonego białkiem kapsydowym bakteriofaga MS2, prawidłowe osocze ludzkie niewykazujące reaktywności w licencjonowanych testach na obecność przeciwciał przeciwko wirusowi HIV 1/2, HCV, antygenowi HBsAg ani przeciwciał przeciwko antygenowi HBe; RNA wirusa HIV-1, RNA wirusa HIV-2, RNA wirusa HCV i DNA wirusa HBV niewykrywalnego metodami PCR 0,1% substancji konserwującej ProClin® 300 ^b	10 × 0,75 ml	  OSTRZEŻENIE H317: Może powodować reakcję alergiczną skóry. P261: Unikać wdychania pyłu/dymu/gazu/mgły/par/rozpylonej cieczy. P272: Zanieczyszczonej odzieży ochronnej nie wynosić poza miejsce pracy. P280: Stosować rękawice ochronne. P333 + P313: W przypadku wystąpienia podrażnienia skóry lub wysypki: zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza. P362 + P364: Zanieczyszczoną odzież zdjąć i wyprać przed ponownym użyciem. P501: Zawartość/pojemnik usuwać do autoryzowanego zakładu utylizacji odpadów. 55965-84-9 Masa reakcyjna: 5-chloro-2-metylo-4-izotiazolino-3-on [WE nr 247-500-7] i 2-metylo-2H-izotiazolo-3-on [WE nr 220-239-6] (3:1).

Zestaw	Elementy i składniki odczynników	Ilość na zestaw	Symbol bezpieczeństwa i ostrzeżenie ^a
	(-) C (Kontrola ujemna cobas®) Prawidłowe osocze ludzkie niereaktywne w licencjonowanych testach na obecność przeciwciał przeciwko HIV-1/2, przeciwciał przeciwko HCV, antygenu HBsAg, przeciwciał przeciwko HBc; RNA wirusa HIV-1, RNA wirusa HIV-2, RNA wirusa HCV i DNA wirusa HBV niewykrywalnego przy użyciu metod PCR < 0,1% substancji konserwującej ProClin® 300^b	10 × 0,75 ml	  OSTRZEŻENIE H317: Może powodować reakcję alergiczną skóry. P261: Unikać wdychania pyłu/dymu/gazu/mgły/par/rozpylonej cieczy. P272: Zanieczyszczoną odzież ochronną nie wносить poza miejsce pracy. P280: Stosować rękawice ochronne. P333 + P313: W przypadku wystąpienia podrażnienia skóry lub wysypki: zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza. P362 + P364: Zanieczyszczoną odzież zdjąć i wyprać przed ponownym użyciem. P501: Zawartość/pojemnik usuwać do autoryzowanego zakładu utylizacji odpadów. 55965-84-9 Masa reakcyjna: 5-chloro-2-metylo-4-izotiazolino-3-on [WE nr 247-500-7] i 2-metylo-2H-izotiazolo-3-on [WE nr 220-239-6] (3:1).

^a Oznakowanie bezpieczeństwa produktu jest zgodne przede wszystkim z wytycznymi GHS UE.

^b Substancja niebezpieczna.

Zestaw	Elementy i składniki odczynników	Ilość na zestaw	Symbol bezpieczeństwa i ostrzeżenie ^a
cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 2 240 testów (P/N: 06979513190)	MGP 2 (Odczynnik 2 cobas® 4800 MGP) Szkłane cząstki magnetyczne, bufor Tris, 0,1% metylo-4-hydroksybenzoesanu, < 0,1% azydku sodu	10 × 8 ml	ND
	EB 2 (Bufor do elucji 2 cobas® 4800)Bufor Tris, 0,2% metylo-4-hydroksybenzoesan	10 × 17 ml	ND
cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 2 960 testów (P/N: 06979521190)	MGP 2 (Odczynnik 2 cobas® 4800 MGP) Szkłane cząstki magnetyczne, bufor Tris, 0,1% metylo-4-hydroksybenzoesanu, < 0,1% azydku sodu	10 × 16 ml	ND
	EB 2 (Bufor do elucji 2 cobas® 4800)Bufor Tris, 0,2% metylo-4-hydroksybenzoesan	10 × 17 ml	ND
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit 240 testów (P/N: 05235863190)	WBD wuwodny cytrynian sodu, 0,05% N-metyloizotiazolonu HCl	10 × 55 ml	ND
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit 960 testów (P/N: 05235871190)	WBD wuwodny cytrynian sodu, 0,05% N-metyloizotiazolonu HCl	10 × 200 ml	ND
cobas® 4800 System Specimen Diluent 2 240 testów (P/N: 06979556190)	SD 2 Bufor Tris, 0,1% metylo-4-hydroksybenzoesanu, < 0,1% azydku sodu	10 × 8 ml	ND

Zestaw	Elementy i składniki odczynników	Ilość na zestaw	Symbol bezpieczeństwa i ostrzeżenie ^a
cobas® 4800 System Lysis Kit 2 240 testów (P/N: 06979530190)	P 2 (Proteaza 2 cobas® 4800) Bufor Tris, < 0,05% EDTA, chlorek wapnia, octan wapnia, 8% (udział wagowo-obj.) proteinazy ^b	10 × 1,0 ml	 NIEBEZPIECZEŃSTWO H317: Może powodować reakcję alergiczną skóry. H334: Może powodować objawy alergii lub astmy lub trudności w oddychaniu w następstwie wdychania. P261: Unikać wdychania mgły lub par. P280: Stosować rękawice ochronne. P284: Stosować indywidualne środki ochrony dróg oddechowych. P304 + P340: W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO DRÓG ODDECHOWYCH: wyprowadzić lub wynieść poszkodowanego na świeże powietrze i zapewnić mu warunki do swobodnego oddychania. P333 + P313: W przypadku wystąpienia podrażnienia skóry lub wysypki: zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza. P342 + P311: W przypadku wystąpienia objawów ze strony układu oddechowego: skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUĆ/lekarzem. 39450-01-6 Proteinaza serynowa, <i>Tritirachium album</i>
	LYS 2 (Bufor do lizy 2 do systemu cobas® 4800) 43% (udział wagowy) tiocyjanian guanidyny ^b , 5% (udział wagowo-obj.) polidokanol ^b , 2% (udział wagowo-obj.) ditiotreitol ^b , dwuwodny cytrynian sodu	10 × 27 ml	  NIEBEZPIECZEŃSTWO H302: Działa szkodliwie po połknięciu. H314: Powoduje poważne oparzenia skóry oraz uszkodzenia oczu. H411: Działa toksycznie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki. EUH032: W kontakcie z kwasami uwalnia bardzo toksyczne gazy. EUH071: Działa żrąco na drogi oddechowe. P273: Unikać uwolnienia do środowiska. P280: Stosować rękawice ochronne/odzież ochronną/ochronę oczu/ochronę twarzy/ochronę słuchu. P303 + P361 + P353: W PRZYPADKU KONTAKTU ZE SKÓRĄ (lub z włosami): natychmiast zdjąć całą skażoną odzież. Spłukać skórę pod strumieniem wody. P304 + P340 + P310: W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO DRÓG ODDECHOWYCH: wyprowadzić lub wynieść poszkodowanego na świeże powietrze i zapewnić mu warunki do swobodnego oddychania. Natychmiast skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUĆ/lekarzem. P305 + P351 + P338 + P310: W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO OCZU: ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Nadal płukać. Natychmiast skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUĆ/lekarzem. P391: Zebrać wyciek. 593-84-0 Tiocyjanian guanidyny 9002-92-0 Polidokanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimerkaptobutano-2,3-diol

Zestaw	Elementy i składniki odczynników	Ilość na zestaw	Symbol bezpieczeństwa i ostrzeżenie ^a
cobas® 4800 System Lysis Kit 2 960 testów (P/N: 06979548190)	P 2 (Proteaza 2 cobas® 4800) Bufor Tris, < 0,05% EDTA, chlorek wapnia, octan wapnia, 8% (udział wagowo-obj.) proteinazy ^b	10 × 1,0 ml	 NIEBEZPIECZEŃSTWO H317: Może powodować reakcję alergiczną skóry. H334: Może powodować objawy alergii lub astmy lub trudności w oddychaniu w następstwie wdychania. P261: Unikać wdychania mgły lub par. P280: Stosować rękawice ochronne. P284: Stosować indywidualne środki ochrony dróg oddechowych. P304 + P340: W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO DRÓG ODDECHOWYCH: wyprowadzić lub wynieść poszkodowanego na świeże powietrze i zapewnić mu warunki do swobodnego oddychania. P333 + P313: W przypadku wystąpienia podrażnienia skóry lub wysypki: zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza. P342 + P311: W przypadku wystąpienia objawów ze strony układu oddechowego: skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUĆ/lekarzem. 39450-01-6 Proteinaza serynowa, <i>Tritirachium album</i>
	LYS 2 (Bufor do lizy 2 do systemu cobas® 4800) 43% (udział wagowy) tiocyjanian guanidyny ^b , 5% (udział wagowo-obj.) polidokanol ^b , 2% (udział wagowo-obj.) ditiotreitol ^b , dwuwodny cytrynian sodu	10 × 84 ml	 NIEBEZPIECZEŃSTWO H302: Działa szkodliwie po połknięciu. H314: Powoduje poważne oparzenia skóry oraz uszkodzenia oczu. H411: Działa toksycznie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki. EUH032: W kontakcie z kwasami uwalnia bardzo toksyczne gazy. EUH071: Działa żrąco na drogi oddechowe. P273: Unikać uwolnienia do środowiska. P280: Stosować rękawice ochronne/odzież ochronną/ochronę oczu/ochronę twarzy/ochronę słuchu. P303 + P361 + P353: W PRZYPADKU KONTAKTU ZE SKÓRĄ (lub z włosami): natychmiast zdjąć całą skażoną odzież. Spłukać skórę pod strumieniem wody. P304 + P340 + P310: W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO DRÓG ODDECHOWYCH: wyprowadzić lub wynieść poszkodowanego na świeże powietrze i zapewnić mu warunki do swobodnego oddychania. Natychmiast skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUĆ/lekarzem. P305 + P351 + P338 + P310: W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO OCZU: ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Nadal płukać. Natychmiast skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUĆ/lekarzem. P391: Zebrać wyciek. 593-84-0 Tiocyjanian guanidyny 9002-92-0 Polidokanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimerkaptobutano-2,3-diol

^a Oznakowanie bezpieczeństwa produktu jest zgodne przede wszystkim z wytycznymi GHS UE.

^b Substancja niebezpieczna.

Wymagania dotyczące przechowywania i użytkowania odczynników

Odczynnik	Temperatura przechowywania	Czas przechowywania
cobas® HBV	2–8°C	Zachowuje trwałość do momentu upływu wskazanej daty ważności.
cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit	2–8°C	Zachowuje trwałość do momentu upływu wskazanej daty ważności.
cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 2	2–8°C	Zachowuje trwałość do momentu upływu wskazanej daty ważności.
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit	15–25°C	Zachowuje trwałość do momentu upływu wskazanej daty ważności.
cobas® 4800 System Specimen Diluent 2	2–8°C	Zachowuje trwałość do momentu upływu wskazanej daty ważności.
cobas® 4800 System Lysis Kit 2	2–8°C	Zachowuje trwałość do momentu upływu wskazanej daty ważności.

Nie należy zamrażać odczynników.

Wymagane materiały dodatkowe

Materiały	P/N
Płytki do ekstrakcji (z głębokimi dołkami) systemu cobas® 4800 2,0 ml	06884008001
Płytki AD (z mikrodołkami) systemu cobas® 4800 0,3 ml	05232724001
Aplikator folii uszczelniającej	04900383001
Końcówki CORE, 1000 µl, statyw zawierający 96 sztuk	04639642001
Pojemnik na odczynnik 200 ml	05232759001
Pojemnik na odczynnik 50 ml	05232732001
Nośnik 24-pozycyjny	04639502001
Nośnik 32-pozycyjny	04639529001
Worek na odpady stałe	05530873001 (mały) lub 04691989001 (duży)
Plastikowa zsuwnia Hamilton STAR	04639669001
Rękawiczki laboratoryjne, bezpudrowe	Akceptowalne są jakiegokolwiek bezpudrowe rękawice jednorazowe.
Mieszadło wibracyjne (do mieszania jednej próbki)	Akceptowalne jest dowolne mieszadło wibracyjne.
Wirówka laboratoryjna, wyposażona w rotor uchylony o minimalnej wartości RCF równej 1500	Akceptowalna jest dowolna wirówka spełniająca te wymagania.

W celu uzyskania dodatkowych informacji dotyczących materiałów sprzedawanych oddzielnie prosimy o kontakt z miejscowym przedstawicielstwem firmy Roche.

Urządzenia i oprogramowanie wymagane, lecz niedostarczane

Urządzenia i oprogramowanie wymagane, lecz niedostarczane
System cobas® 4800 Aparat cobas® x 480 Analizator cobas® z 480 Jednostka sterująca
Oprogramowanie aplikacyjne (podstawowe) systemu cobas® 4800 w wersji 2.2.0 lub nowsze
System cobas® 4800 cobas® HBV AP wersja 1.1.0 lub nowsza

Uwaga: Szczegółową listę zamówień na statywy na próbki, statywy na końcówki, statywy na odczynniki i nośniki na płytki akceptowane przez urządzenia można uzyskać po skontaktowaniu się z miejscowym przedstawicielstwem firmy Roche.

Obsługiwane próbki na próbki

Test akceptuje powszechnie stosowane próbki pierwotne i wtórne.

Obsługiwane są następujące próbki na próbki:

Probówki pierwotne

Średnica nominalna (mm)	Objętość wejściowa próbki — przetworzona (odwirowana) krew pełna		Dodatek próbki	
	Objętość przetwarzania 400 µl	Objętość przetwarzania 200 µl	Osocze pobrane na EDTA	Surowica
11-14	1800 µl lub więcej	1000 µl lub więcej	Z żelem lub bez żelu	Z żelem
14,5-16	Ponad 4000 µl	Ponad 4000 µl	Z żelem lub bez żelu	Z żelem

W celu uzyskania informacji na temat zamawiania określonych próbek na próbki oraz minimalnych objętości wejściowych określonych próbek pierwotnych, należy skontaktować się z lokalnym przedstawicielem firmy Roche.

Probówki wtórne

Średnica nominalna (mm)	Objętość wejściowa próbki	
	Objętość przetwarzania 400 µl	Objętość przetwarzania 200 µl
11-16	1000 µl lub więcej (określone próbki wtórne mają minimalną objętość wejściową poniżej 1000 µl)	750 µl lub więcej (określone próbki wtórne mają minimalną objętość wejściową poniżej 750 µl)

W celu uzyskania informacji na temat zamawiania określonych próbek na próbki oraz minimalnych objętości wejściowych określonych próbek wtórnych, należy skontaktować się z lokalnym przedstawicielem firmy Roche.

Wymagania dotyczące środków ostrożności i użytkowania

Ostrzeżenia i środki ostrożności

Podobnie jak w przypadku każdej procedury testowej, dla prawidłowego przeprowadzenia badania kluczowe znaczenie ma zachowanie zasad dobrej praktyki laboratoryjnej. Z uwagi na wysoką czułość analityczną niniejszego testu należy przedsięwziąć wyjątkową ostrożność, aby zapobiec zanieczyszczeniu odczynników, próbek oraz mieszanin do amplifikacji.

- Do stosowania wyłącznie w diagnostyce *in vitro*.
- Test **cobas®** HBV jest przeznaczony wyłącznie do ilościowego oznaczania wirerii HBV i nie służy do wstępnej diagnostyki klinicznej infekcji HBV.
- Test **cobas®** HBV nie jest przeznaczony do przesiewowego badania na obecność wirusa HBV we krwi lub produktach krwiopochodnych ani do stosowania jako test diagnostyczny, potwierdzający zakażenie wirusem HBV.
- Ze wszystkimi próbkami pacjentów należy obchodzić się tak jak z materiałem zakaźnym, stosując procedury dobrej praktyki laboratoryjnej, takie jak określone w dokumentach Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories oraz CLSI Document M29-A4.^{19,20} Procedurę tę powinien wykonywać wyłącznie personel biegły w pracy z materiałami niebezpiecznymi biologicznie oraz w stosowaniu testu **cobas®** HBV i systemu **cobas®** 4800 System.
- Wszystkie materiały pochodzenia ludzkiego należy uważać za potencjalnie zakaźne i postępować z nimi z zastosowaniem ogólnych środków ostrożności.
- Zestaw kontroli **cobas®** HBV/HCV/HIV-1 zawiera osocze pochodzące z krwi ludzkiej. Wykorzystany w nim materiał został przebadany z wykorzystaniem licencjonowanego testu z użyciem przeciwciał i nie wykazywał obecności przeciwciał przeciwko antygenowi HCV, antygenowi HIV-1/2, HBsAg ani antygenowi HBc. Testowanie metodami PCR nie wykazało RNA wirusa HIV-1, RNA wirusa HIV-2, RNA wirusa HCV ani DNA wirusa HBV. Żadna ze znanych metod badania nie może zaoferować całkowitej pewności, że produkty otrzymane z ludzkiej krwi nie będą przenosić czynników zakaźnych.
- Nie wolno narażać odczynnika MGP na działanie źródeł pola magnetycznego.
- **Nie zamrażać pełnej krwi ani innych próbek przechowywanych w probówkach pierwotnych.**
- W celu zagwarantowania optymalnego działania testu należy stosować wyłącznie dostarczone lub wymienione potrzebne materiały eksploatacyjne.
- Karty charakterystyki (ang. Safety Data Sheet, SDS) są dostępne na żądanie w miejscowym przedstawicielstwie firmy Roche.
- Ściśle przestrzegać podanych procedur i wytycznych w celu zapewnienia prawidłowego wykonania testu. Wszelkie odchylenia od procedur i wytycznych mogą mieć wpływ na optymalną skuteczność testu.
- Jeżeli w trakcie obchodzenia się z próbkami i ich przygotowywania nie stosuje się odpowiedniej kontroli zanieczyszczenia między próbkami, może dojść do wystąpienia fałszywie dodatnich wyników.
- Dodatkowe ostrzeżenia, środki ostrożności oraz procedury mające na celu zredukowanie ryzyka zakażenia, dotyczące aparatu **cobas®** x 480 lub analizatora **cobas®** z 480 można znaleźć w podręczniku użytkownika systemu **cobas®** 4800 System. W przypadku podejrzenia wystąpienia zanieczyszczenia należy przeprowadzić czyszczenie oraz konserwację tygodniową zgodnie z opisem zamieszczonym w podręczniku użytkownika systemu **cobas®** 4800 System.

- Należy poinformować lokalny właściwy organ oraz producenta o wszelkich poważnych zdarzeniach, które mogą wystąpić podczas stosowania tego testu.

Uwaga: *Szczegółowe instrukcje zamieszczono w części „Pobieranie, transport i przechowywanie próbek”.*

Dobra praktyka laboratoryjna

- Nie należy pipetować za pomocą ust.
- Nie wolno jeść, pić ani palić w obszarach roboczych laboratorium.
- Należy dokładnie umyć ręce po zakończeniu pracy z próbką i odczynnikami z zestawu, a także po zdjęciu rękawiczek laboratoryjnych.
- Podczas pracy z jakimikolwiek odczynnikami należy używać osłon na oczy oraz fartuchów laboratoryjnych i rękawiczek laboratoryjnych. Należy unikać kontaktu wymienionych materiałów ze skórą, oczami i błonami śluzowymi. Jeżeli dojdzie do kontaktu, miejsce jego wystąpienia należy natychmiast spłukać dużą ilością wody. Jeżeli nie zostaną podjęte odpowiednie działania lecznicze, może dojść do oparzeń. W razie rozlania przed wytarciem należy rozcieńczyć wodą.
- Dokładnie oczyścić i odkazić wszystkie laboratoryjne powierzchnie robocze świeżo przygotowanym roztworem 0,5% podchlorynu sodu w wodzie destylowanej lub dejonizowanej (rozcieńczyć domowy wybielacz w stosunku 1:10). Następnie należy przetrzeć powierzchnię 70% etanolem.
- W laboratorium należy zachowywać spójną temperaturę, która spełnia parametry środowiskowe określone w podręczniku użytkownika systemu **cobas®** 4800 System.

Użytkowanie odczynników

- Aby uniknąć zanieczyszczenia między próbkami lub kontrolami, z wszystkimi odczynnikami, kontrolami i próbkami należy postępować zgodnie z zasadami dobrej praktyki laboratoryjnej.
- Przed użyciem należy ocenić wzrokowo każdą butelkę odczynnika oraz fiolkę, aby upewnić się, że nie ma żadnych oznak wycieku. W razie wystąpienia wycieku nie wolno używać tego materiału do badania.
- Bufor do lizy 2 do systemu **cobas®** 4800 zawiera tiocyjanian guanidyny, potencjalnie niebezpieczną substancję chemiczną. Nie dopuszczać do kontaktu odczynników ze skórą, oczami i błonami śluzowymi. Jeżeli dojdzie do kontaktu, natychmiast spłukać dużą ilością wody; w przeciwnym razie mogą powstać oparzenia.
- Test **cobas®** HBV, zestaw **cobas®** 4800 Sample Preparation Kit 2 oraz rozcieńczalnik **cobas®** 4800 System Specimen Diluent 2 zawierają azydek sodu jako środek konserwujący. Nie dopuszczać do kontaktu odczynników ze skórą, oczami i błonami śluzowymi. Jeżeli dojdzie do kontaktu, natychmiast spłukać dużą ilością wody; w przeciwnym razie mogą powstać oparzenia. Jeżeli dojdzie do rozlania wymienionych odczynników, przed wytarciem należy rozcieńczyć je wodą.
- Nie wolno dopuszczać do kontaktu buforu do lizy 2 **cobas®** 4800 zawierającego tiocyjanian guanidyny, z roztworem podchlorynu sodu (wybielaczem). Połączenie to może skutkować wytworzeniem silnie trującego gazu.

Zanieczyszczenie

- Aby zapobiec zanieczyszczeniu, podczas pracy z próbkami i odczynnikami testu **cobas®** HBV należy nosić i zmieniać rękawiczki laboratoryjne. Podczas pracy z próbkami i kontrolami należy unikać zanieczyszczenia rękawic. Podczas obchodzenia się z próbkami i zestawem odczynników należy nosić rękawiczki laboratoryjne, fartuchy laboratoryjne oraz osłonę oczu.
- Należy unikać zanieczyszczenia odczynników przez rybonukleazy i mikrobiologicznego.

- Jeżeli w trakcie obchodzenia się z próbkami nie jest możliwa odpowiednia kontrola przeniesienia zanieczyszczenia między próbkami, może dojść do wystąpienia wyników fałszywie dodatnich.

Integralność

- Nie wolno używać zestawów po upływie daty ważności.
- Nie należy poddawać odczynników pulowaniu.
- Nie wolno używać przedmiotów jednorazowego użytku po upływie daty ważności.
- Wszystkie przedmioty jednorazowego użytku są przeznaczone do jednokrotnego użycia. Nie wykorzystywać ponownie.
- Całe wyposażenie powinno być odpowiednio konserwowane, zgodnie z instrukcjami producenta.

Utylizacja

- Test **cobas®** HBV, zestaw **cobas®** 4800 System Sample Preparation Kit 2 oraz rozcieńczalnik **cobas®** 4800 System Specimen Diluent 2 zawierają azydek sodu (patrz „**Ostrzeżenia i środki ostrożności**”). Azydek sodu może reagować z instalacjami wodno-kanalizacyjnymi wykonanymi z ołowiu lub miedzi, tworząc silnie wybuchowe azydki metali. Usuwając roztwory zawierające azydek sodu do zlewów laboratoryjnych, należy przepłukać rury dużą ilością zimnej wody, aby zapobiec nagromadzeniu azydków.
- Należy wyrzucić wszystkie nieużyte odczynniki, postępując zgodnie z przepisami krajowymi, federalnymi, stanowymi i lokalnymi.

Uwaga: *Informacje dotyczące usuwania odpadów płynnych zamieszczono w odpowiednim podręczniku użytkownika systemu **cobas®** 4800 System.*

Rozlanie płynów i czyszczenie

- Odczynnik **cobas®** 4800 Lysis Buffer 2 zawiera tiocyjanian guanidyny. Jeśli płyn zawierający tiocyjanian guanidyny ulegnie rozlaniu, do czyszczenia należy używać odpowiedniego detergentu laboratoryjnego i wody. Jeśli rozlany płyn zawiera potencjalne czynniki zakaźne, do czyszczenia należy NAJPIERW użyć detergentu laboratoryjnego i wody, a następnie 0,5% roztworu podchlorynu sodu.
- Jeśli do rozlania płynu dojdzie na powierzchni aparatu **cobas®**x 480, należy postępować zgodnie z instrukcjami zamieszczonymi w podręczniku użytkownika systemu **cobas®** 4800 System w celu przeprowadzenia czyszczenia.
- Do czyszczenia aparatu **cobas®** x 480 lub analizatora **cobas®** z 480 nie wolno używać roztworu podchlorynu sodu (wybielacza). Czyszczenia aparatu **cobas®** x 480 lub analizatora **cobas®** z 480 należy dokonywać zgodnie z procedurami opisanymi w podręczniku użytkownika systemu **cobas®** 4800 System.

Pobieranie, transport i przechowywanie próbek

Uwaga: *Ze wszystkimi próbkami należy obchodzić się jak z materiałem potencjalnie zakaźnym.*

Wszystkie próbki należy przechowywać w określonych temperaturach.

Podwyższona temperatura ma wpływ na stabilność próbek.

W przypadku używania próbek zamrożonych w probówkach wtórnych należy umieścić próbki w temperaturze pokojowej (15–30°C) aż do całkowitego ich rozmrożenia, a następnie krótko wymieszać (np. na mieszadło wibracyjnym przez 3–5 sekund) i odwirować w celu zebrania całej objętości próbki na dnie probówki.

Pobieranie próbek

Krew pełną należy pobierać do probówek do rozdziału surowicy SST™, probówek do otrzymywania osocza BD Vacutainer® PPT™, przeznaczonych do metod diagnostyki molekularnej lub sterylnych probówek zawierających EDTA jako antykoagulant.

Uwaga: *Użytkownik musi przestrzegać instrukcji dostarczonych przez producenta probówek podczas przygotowania surowicy/osocza.*

Transport, przechowywanie i stabilność próbek

- Krew pełna pobrana do probówek do rozdziału surowicy SST™, probówek przeznaczonych do metod diagnostyki molekularnej BD Vacutainer® PPT™ lub sterylnych probówek zawierających EDTA jako antykoagulant może być przechowywana i (lub) transportowana do 24 godzin w temperaturze od 2°C do 25°C przed przygotowaniem osocza/surowicy i wykonywaniem dalszych badań.
- Po oddzieleniu próbki osocza/surowicy mogą być przechowywane w probówkach wtórnych do 24 godzin w temperaturze od 2°C do 30°C, do 72 godzin w temperaturze od 2°C do 8°C lub do 6 tygodni w temperaturze ≤ -18°C. Oddzielone próbki osocza/surowicy w probówkach wtórnych są stabilne przez trzy cykle zamrażania/odmrażania, gdy są przechowywane w temperaturze ≤ -18°C.
- Jeśli próbki mają być przesyłane, należy je opakować i oznaczyć zgodnie z odpowiednimi krajowymi i (lub) międzynarodowymi przepisami dotyczącymi transportu próbek i czynników etiologicznych.

Instrukcja użytkowania

Wykonywanie oznaczenia

Objętość przetwarzania próbki

Domyślna objętość przetwarzania próbki dla testu **cobas®** HBV wynosi 400 µl. Dla próbek o niskiej objętości można wybrać objętość przetwarzania wynoszącą 200 µl. Jedynie w tej sytuacji w systemie należy użyć dodatkowego odczynnika **cobas®** 4800 System Specimen Diluent 2. Użytkownik zostanie powiadomiony o takiej konieczności przez kreator oprogramowania, jeżeli podczas tworzenia harmonogramu pracy zostanie wybrany typ próbki „Diluted serum or plasma”.

Rysunek 1: Przebieg pracy z użyciem testu cobas® HBV

1	Uruchomienie systemu.
2	Wykonanie czynności konserwacyjnych aparatów.
3	Wyjęcie próbek i odczynników z miejsca przechowywania.
4	Rozpoczęcie przebiegu
5	Skanowanie kart z parametrami
6	Załadowanie próbek
7	W przypadku korzystania z systemu LIS: potwierdzenie zlecenia pracy. W przypadku braku systemu LIS: utworzenie zlecenia pracy.
8	Załadowanie materiałów eksploatacyjnych (płytki głębokodołkowej, płytki mikrodołkowej, statywów na końcówki)
9	Załadowanie odczynników
10	Rozpoczęcie przebiegu przygotowania próbek.
11	Wyjęcie i uszczelnienie płytki mikrodołkowej.
12	Załadowanie płytki mikrodołkowej do analizatora.
13	Wyjęcie próbek, zużytych odczynników i płytki głębokodołkowej.
14	Przeanalizowanie wyników.
15	W przypadku korzystania z systemu LIS: przesłanie wyników do systemu LIS.
16	Wyjęcie płytki z analizatora.

Uwaga: *Szczegółowe instrukcje obsługi można znaleźć w podręczniku użytkownika systemu **cobas®** 4800 System.*

Wielkość przebiegu

Ogólne zestawy odczynników do przygotowywania próbek (**cobas®** 4800 System Sample Preparation Kit 2, **cobas®** 4800 System Lysis Kit 2 oraz **cobas®** 4800 System Wash Buffer Kit) są dostępne w dwóch wielkościach, z których każda wystarcza na 10 przebiegów zawierających do 24 lub 96 próbek włączając kontrole i próbki do oznaczania. Test **cobas®** HBV jest dostępny w jednym rozmiarze zestawu, który wystarcza do zbadania 120 (10×12) próbek, włączając kontrole i próbki. Test **cobas®** HBV/HCV/HIV-1 Control Kit jest dostępny w jednym rozmiarze zestawu, który może zostać wykorzystany we wszystkich konfiguracjach przebiegu. W każdej partii testowej musi być użyta jedna HBV/HCV/HIV-1 Low Positive Control, jedna HBV/HCV/HIV-1 High Positive Control oraz jedna Negative Control. W przypadku przebiegu z jednym testem maksymalna dopuszczalna liczba próbek to 93 próbki pacjentów i 3 kontrole.

Na Rysunek 1 podsumowano tę procedurę.

07702361001-09PL

Doc. Rev. 9.0

Uwaga: *W celu optymalnego użycia odczynników ogólne zestawy odczynników do przygotowywania próbek mogą być używane dla przebiegów zawierających łącznie 1–21 próbek (zestaw testowy 10×24) lub łącznie 1–93 próbek (zestaw testowy 10×96). Jednak nie można łączyć ze sobą różnych wielkości zestawu cobas® 4800 System Wash Buffer Kit, cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 2 i cobas® 4800 System Lysis Kit 2. Przykładowo, jeśli na początku przebiegu skanowana jest butelka z odczynnikiem Wash Buffer z zestawu 96 testów, należy użyć pozostałych odczynników z pozostałych zestawu do przygotowywania próbek również o rozmiarze 96 testów.*

Przebieg pracy

Test cobas® HBV to oznaczenie prowadzone z wykorzystaniem przebiegu pracy Full Workflow w ramach oprogramowania cobas® 4800. Obejmuje on przygotowanie próbek w aparacie cobas® x 480 oraz amplifikację/detekcję w analizatorze cobas® z 480. Test cobas® HBV nie może być wykonany w trybie partii mieszanej z innymi testami. Szczegóły można znaleźć w podręczniku użytkownika systemu cobas® 4800 System.

1. Uruchom system postępując zgodnie z instrukcjami opisanymi w podręczniku użytkownika systemu cobas® 4800 System.
2. Wykonaj czynności konserwacyjne, postępując zgodnie z instrukcjami opisanymi w podręczniku użytkownika systemu cobas® 4800 System.
3. Zgromadź wszystkie wymagane odczynniki i materiały eksploatacyjne. Wszystkie odczynniki, oprócz odczynników HBV MMX R2 i MMX R1, przed załadowaniem do aparatu cobas® x 480 muszą znajdować się w temperaturze pokojowej. Odczynniki HBV MMX R2 i MMX R1 można umieszczać w aparacie bezpośrednio z temperatury przechowywania 2–8°C, ponieważ ich temperatura zostanie wyrównana do temperatury otoczenia wewnątrz aparatu cobas® x 480 podczas procesu przetwarzania.

Uwaga: *Wszystkie odczynniki i pojemniki na odczynniki są opatrzone kodem kreskowym i są przeznaczone do jednokrotnego użycia. Oprogramowanie cobas® 4800 śledzi użycie odczynników oraz pojemników na odczynniki i odrzuca wcześniej używane odczynniki lub pojemniki na odczynniki.*

4. Rozpocznij nowy przebieg i wybierz jako rodzaj przebiegu pracy HBV.
5. Należy postępować zgodnie z przewodnikiem kreatora oprogramowania i zeskanować kod kreskowy na kartach parametrów zakresów kontroli i współczynników kalibracji.

Uwaga: *Zeskanuj karty parametrów z nieprzetworzonych odczynników. Oprogramowanie nie sprawdza dat ważności odczynników na kartach parametrów. Przed zeskanowaniem odpowiedniego ID kodu kreskowego sprawdź datę ważności wydrukowaną na karcie parametrów lub zestawach odczynników.*

6. Załaduj próbki. Można ładować pierwotne lub wtórne próbki na próbki, a minimalna objętość próbek zależy od rodzaju i wielkości próbki. Więcej szczegółów, patrz część dotycząca obsługiwanych rodzajów próbek.
7. Utwórz zlecenie pracy. Zlecenie pracy można utworzyć na trzy sposoby:
 - Korzystając z edytora próbki przed umieszczeniem statywu z próbkami w aparacie cobas® x 480 (przycisk „Editor” po prawej stronie menu głównego). Zlecenia pracy można zapisać, edytować i wczytać ponownie w razie potrzeby. Podczas wybierania żądanych wyników należy zaznaczyć opcję „HBV”.

- Przez skorzystanie z kreatora oprogramowania dla nowego przebiegu i umieszczenie próbek w aparacie **cobas® x 480** po wyświetleniu takiego polecenia. Kody kreskowe próbek zostaną automatycznie zeskanowane i konieczne będzie zdefiniowane żądanych wyników dla każdej próbki. Podczas wybierania żądanych wyników należy zaznaczyć opcję „HBV”.
- Przez skorzystanie z systemu LIS placówki.

Dodatkowe szczegóły można znaleźć w podręczniku użytkownika systemu **cobas® 4800 System**. Podczas wybierania żądanych wyników należy zaznaczyć opcję „HBV”. Umieść próbki i zdefiniuj/wybierz zlecenie pracy lub skorzystaj z systemu LIS, zależnie od tego co będzie właściwe.

8. Załaduj materiały eksploatacyjne zgodnie z instrukcjami kreatora oprogramowania. Nie należy umieszczać pojedynczych końcówek ani ich wyjmować z częściowo wykorzystanego statywu, gdyż oprogramowanie śledzi liczbę pozostałych końcówek. Jeśli liczba końcówek będzie niewystarczająca do przeprowadzenia przebiegu, oprogramowanie poinformuje o tym fakcie użytkownika.

9. Załaduj odczynniki.

Załaduj odczynniki do przygotowywania próbek do pojemników na odczynniki opatrzonych kodem kreskowym. Pojemniki na odczynniki są dostępne w dwóch rozmiarach: 200 ml i 50 ml. Postępuj zgodnie ze wskazówkami kreatora oprogramowania w celu wybrania pojemnika na odczynniki odpowiednich rozmiarów. Kody kreskowe pojemnika na odczynniki muszą znajdować się po prawej stronie nośnika. Załaduj odczynniki do przygotowywania próbek, stosując metodę „zeskanuj, zeskanuj, przelej, umieść”:

- Zeskanuj kod kreskowy butelki odczynnika.
- Zeskanuj kod kreskowy pojemnika na odczynniki.
- Przelej odczynnik do pojemnika.
- Umieść wypełniony pojemnik na odczynniki w przypisanej mu pozycji w nośniku na odczynniki.

Uwaga: *System **cobas® 4800** ma wewnętrzny zegar, kontrolujący czas, przez jaki odczynniki znajdują się w systemie. Od momentu zeskanowania LYS 2 lub WB w ciągu 1 godziny należy zakończyć proces ładowania i kliknąć przycisk Start. Na zakładce „Workplace” wyświetlany jest zegar odliczający czas. System nie zezwoli na rozpoczęcie przebiegu, jeżeli czas wyświetlany przez zegar aparatu upływał.*

Uwaga: *Aby zapewnić właściwe przeniesienie odczynnika MGP, zworteksuj lub energicznie wstrząśnij fiolkę odczynnika MGP bezpośrednio przed umieszczeniem jej w pojemniku na odczynniki.*

10. Umieść fiolki odczynników do amplifikacji/detekcji (HBV MMX R2, MMX R1 i DNA QS), fiolki kontroli [HBV/HCV/HIV-1 L(+)C, HBV/HCV/HIV-1 H(+)C i (–) C] oraz fiolki z odczynnikami ogólnymi (P2 i SD2 zgodnie z wymogami) bezpośrednio w statywie na odczynniki.

Uwaga: *W celu zapobiegania niepotrzebnym przerwaniom przebiegu i skażeniom należy strząsnąć fiolki z odczynnikami, aby zapobiec powstawaniu pęcherzyków/warstwy płynu. Kontrole należy otwierać zaczynając od tych najbliższych użytkownika (od pozycji 24 do 1). Po pracy z kontrolami dodatkimi należy zmienić rękawiczki laboratoryjne.*

11. Rozpocznij przebieg przygotowania próbek. Po pomyślnym przebiegu przygotowania próbek przyciski „Sample Preparation results” oraz „Unload” staną się dostępne. W razie potrzeby wybierz przycisk „Sample Preparation results” w celu przeanalizowania wyników, a następnie wybierz przycisk „Unload”, aby wyładować nośniki na płytki. Można również wybrać przycisk „Unload” w celu wyładowania nośnika na płytki bez przeglądania wyników. Patrz podręcznik użytkownika systemu **cobas® 4800 System**.

12. Po rozładowaniu płytki mikrodołkowej, należy postępować zgodnie z instrukcjami w podręczniku użytkownika systemu **cobas® 4800 System** dotyczącymi uszczelniania i przenoszenia płytki do analizatora **cobas® z 480**.
13. Załaduj płytkę mikrodołkową do analizatora i rozpocznij przebieg amplifikacji i detekcji zgodnie z instrukcją w podręczniku użytkownika systemu **cobas® 4800 System**.

Uwaga: *System **cobas® 4800** ma wewnętrzny zegar, kontrolujący czas, jaki upływa od momentu dodania przygotowanych próbek do aktywowanego odczynnika Master Mix. Amplifikację i detekcję należy rozpocząć jak najszybciej, jednak nie później niż 40 minut od zakończenia przebiegu w aparacie **cobas® x 480**. Na zakładce „Workplace” wyświetlany jest zegar odliczający czas. System przerwie przebieg, jeżeli ten czas zostanie przekroczony.*

14. Wyjmij próbki, zużyte odczynniki i płytkę głębokodołkową zgodnie z instrukcjami w podręczniku użytkownika systemu **cobas® 4800 System**.
15. Po zakończeniu przebiegu amplifikacji i detekcji należy wykonywać instrukcje w podręczniku użytkownika systemu **cobas® 4800 System** dotyczące przeglądania i akceptowania wyników.
16. W przypadku pracy z systemem LIS, wyślij wyniki do systemu LIS.
17. Wykonuj instrukcje w podręczniku użytkownika systemu **cobas® 4800 System** dotyczące wyładowywania płytki mikrodołkowej z analizatora **cobas® z 480**.

Wyniki

System **cobas**® 4800 automatycznie określa poziom DNA HBV w próbkach i kontrolach. Stężenie DNA HBV wyraża się w jednostkach międzynarodowych IU (International Units) na mililitr (IU/ml).

Kontrola jakości i ważność wyników

- W każdej partii przetwarzana jest jedna ujemna kontrola (–) C i dwie kontrole dodatnie: kontrola nisko dodatnia HBV/HCV/HIV-1 L(+)C oraz kontrola wysoko dodatnia HBV/HCV/HIV-1 H(+)C.
- Sprawdź ważność partii w oprogramowaniu **cobas**® 4800 i (lub) raporcie.
- Wyniki są unieważniane automatycznie przez oprogramowanie **cobas**® 4800 na podstawie uzyskania niepomysłnych wyników kontroli ujemnej i kontroli dodatniej.

Interpretacja wyników kontroli

Tabela 1: Interpretacja wyników kontroli dla kontroli ujemnych i dodatnich

Kontrola ujemna	Wynik	Interpretacja
(–) C	Target Not Detected	Kontrola jest ważna. Nie wykryto HBV DNA.
	Invalid	Wynik oznaczony jako nieważny lub wynik obliczonego miana kontroli ujemnej nie jest wynikiem ujemnym.
Kontrola dodatnia	Wynik	Interpretacja
HBV/HCV/HIV-1 L(+)C	Miano	Kontrola jest ważna. Obliczone miano jest w zakresie kontroli.
	Invalid	Wynik oznaczony jako nieważny lub obliczone miano dla kontroli nisko dodatniej nie mieści się w określonym zakresie.
HBV/HCV/HIV-1 H(+)C	Miano	Kontrola jest ważna. Obliczone miano jest w zakresie kontroli.
	Invalid	Wynik oznaczony jako nieważny lub obliczone miano dla kontroli wysoko dodatniej nie mieści się w określonym zakresie.

Interpretacja wyników

Uwaga: Cały proces walidacji testu i partii jest realizowany przez oprogramowanie cobas® 4800.

Uwaga: Ważna partia może obejmować zarówno ważne, jak i nieważne wyniki próbek.

W przypadku ważnej partii wyniki badania próbek interpretuje się w sposób, który przedstawia Tabela 2.

Tabela 2: Interpretacja wyników dla poszczególnych materiałów docelowych

cobas® HBV	Raport wyniku i jego interpretacja
Target Not Detected	Nie wykryto DNA HBV. Podać wynik jako „Nie wykryto HBV”.
< Titer Min	Obliczone miano jest niższe od dolnej granicy liniowości testu (LLOQ). Podać wynik jako „Wykryto HBV, miano poniżej (miano min.)”. Miano min. = 1,00E+01 IU/ml (400 µl i 200 µl)
Miano	Obliczone miano znajduje się w zakresie liniowym testu — jest większe lub równie mianu min. oraz mniejsze lub równe mianu maks. Podać wynik jako „Wykryto (miano) HBV”.
> Titer Max ^a	Obliczone miano jest wyższe od górnej granicy liniowości testu (ULOQ). Podać wynik jako „Wykryto HBV, miano powyżej (miano maks.)”. Miano maks. = 1,00E+09 IU/ml (400 µl i 200 µl)

^a Wynik próbki > Titer Max odnosi się do HBV dodatnich próbek z mianami powyżej górnej granicy liniowości testu (ULOQ). Jeśli potrzebny jest wynik ilościowy, oryginalną próbkę należy rozcieńczyć HBV-ujemnym ludzkim osoczem pobranym na EDTA lub surowicą, w zależności od typu oryginalnej próbki, a następnie powtórzyć test. Otrzymany wynik należy pomnożyć przez współczynnik rozcieńczenia.

Lista flag wyników

Tabela poniżej wymienia wszystkie flagi dotyczące interpretacji wyniku.

Tabela 3: Lista flag

Kod flagi	Opis	Zalecane działanie
R4800	Wartość docelowa jest nieważna z powodu niepowodzenia obliczeń.	Wartość docelowa jest nieważna z powodu niepowodzenia obliczeń. 1. Ponownie oznacz próbkę. 2. Jeżeli problem powtarza się, skontaktuj się z serwisem firmy Roche.
R4801	Standard ilościowy jest nieważny.	Standard ilościowy jest nieważny dla próbki. 1. Ponownie oznacz próbkę. 2. Jeżeli problem powtarza się, skontaktuj się z serwisem firmy Roche.
R4802	Kontrola zewnętrzna jest nieważna.	Kontrola zewnętrzna jest nieważna. ^a 1. Powtórz cały przebieg ze świeżymi odczynnikami. 2. Jeżeli problem powtarza się, skontaktuj się z serwisem firmy Roche.
R4803	Standard ilościowy jest nieważny.	Standard ilościowy jest nieważny dla kontroli zewnętrznej. 1. Powtórz cały przebieg ze świeżymi odczynnikami. 2. Jeżeli problem powtarza się, skontaktuj się z serwisem firmy Roche.
R4804	Kontrola zewnętrzna jest poza zakresem.	Kontrola zewnętrzna jest poza zakresem. ^b 1. Powtórz cały przebieg ze świeżymi odczynnikami. 2. Jeżeli problem powtarza się, skontaktuj się z serwisem firmy Roche.
X3	Błąd: Wykryto skrzep. Próbka nie została przetworzona.	Upewnij się, że próbki obsługiwano zgodnie z instrukcją obsługi. 1. Sprawdź próbkę pod kątem skrzepów. 2. Ponownie oznacz próbkę.
X4	Błąd: Wystąpił błąd pipetowania. Próbka nie została przetworzona.	Najbardziej prawdopodobną przyczyną jest niewystarczająca objętość próbki lub błąd mechaniczny podczas pipetowania. 1. Upewnij się, że jest dostępna wystarczająca objętość próbki. 2. Sprawdź, czy płytka zrzucająca końcówkę jest umieszczona prawidłowo. 3. Ponownie oznacz próbkę.

^a Jest to flaga próbki, która występuje, gdy kontrola zewnętrzna w przebiegu jest nieważna.

^b Jest to flaga obejmująca wszystkie scenariusze, w których kontrola zewnętrzna jest nieważna (wartość docelowa lub miano).

Uwaga: Wszystkie flagi systemowe — patrz podręcznik użytkownika systemu cobas® 4800 System.

Ograniczenia metody

1. Test **cobas**® HBV był oceniany tylko w połączeniu z zestawem **cobas**® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit, **cobas**® 4800 System Sample Preparation Kit 2, **cobas**® 4800 System Lysis Kit 2, **cobas**® 4800 System Wash Buffer Kit oraz **cobas**® 4800 System Specimen Diluent 2.
2. Uzyskanie wiarygodnych wyników zależy od właściwego pobrania, transportu, przechowywania oraz przetwarzania próbki. Należy postępować zgodnie z procedurami opisanymi w niniejszej instrukcji użytkownika (określanej również mianem ulotki dołączonej do opakowania) oraz w podręczniku użytkownika systemu **cobas**® 4800 System.
3. Ten test został zatwierdzony wyłącznie do badania osocza pobranego na EDTA i surowicy. Badanie innych rodzajów próbek może dawać nieprawidłowe wyniki.
4. Oznaczenie ilościowe DNA wirusa HBV zależy od liczby cząstek wirusa obecnych w próbce i mogą na nie mieć wpływ: metoda pobrania próbki, czynniki zależne od pacjenta (tj. wiek, obecność objawów) i/lub stadium zakażenia.
5. Mutacje w obrębie wysoko konserwatywnych regionów genomu wirusowego, z którymi wiążą się startery i/lub sondy używane w teście **cobas**® HBV — chociaż rzadkie — mogą wpływać na wiązanie starterów i/lub sond oraz spowodować zaniżenie miana lub niewykrycie wirusa.
6. Wartość predykcyjna oznaczenia zależy do częstości występowania choroby w danej populacji.
7. Dodanie do odczynnika Master Mix **cobas**® HBV enzymu AmpErase umożliwia selektywną amplifikację docelowego kwasu dezoksyrybonukleinowego; jednak aby uniknąć zanieczyszczenia odczynników i mieszanin amplifikacyjnych, konieczne jest stosowanie dobrej praktyki laboratoryjnej i dokładne przestrzeganie procedur wyszczególnionych w niniejszej instrukcji.
8. Tego produktu mogą używać wyłącznie osoby przeszkolone w zakresie technik PCR i używania systemu **cobas**® 4800.
9. Zatwierdzono użycie tego produktu tylko z aparatem **cobas**® x 480 i analizatorem **cobas**® z 480. Z tym produktem nie można stosować żadnych innych urządzeń do przygotowania próbek ani systemów do PCR.
10. Z uwagi na różnice między technologiami zaleca się, aby przed zmianą stosowanych metod użytkownik przeprowadził w laboratorium badania korelacji stosowanych metod w celu określenia występujących między nimi różnic jakościowych. Użytkownicy powinni postępować zgodnie z własnymi określonymi zasadami/procedurami.
11. Zanieczyszczenie krzyżowe próbek może spowodować wyniki fałszywie dodatnie. Częstość zanieczyszczenia krzyżowego między próbkami testu **cobas**® HBV została określona w badaniach nieklinicznych na poziomie 0,0% z jednostronnym 95% przedziałem ufności wynoszącym 1,3%. Nie zaobserwowano zanieczyszczenia krzyżowego pomiędzy przebiegami.
12. Test **cobas**® HBV nie jest przeznaczony do przesiewowego badania na obecność wirusa HBV we krwi lub produktach krwiopochodnych ani do stosowania jako test diagnostyczny, potwierdzający zakażenie wirusem HBV.

Ocena skuteczności w badaniach nieklinicznych

Najważniejsze parametry działania testu

Granica wykrywalności (LoD)

Międzynarodowy standard WHO

Granice wykrywalności testu **cobas®** HBV, określono na podstawie analizy serii rozcieńczeń międzynarodowego standardu WHO dla DNA HBV do oznaczeń opartych na technologii amplifikacji kwasów nukleinowych (2nd WHO International Standard, kod NIBSC 97/750), genotyp A, uzyskanego z NIBSC w HBV-ujemnym ludzkim osoczu pobranym na EDTA lub surowicy z użyciem objętości próbek wynoszących 400 µl i 200 µl. Panel składający się z sześciu poziomów stężeń i próbki ujemnej był testowany na trzech seriach odczytników **cobas®** HBV, wielu przebiegach, dniach, operatorach i aparatach.

Wyniki dla osocza pobranego na EDTA i surowicy z obu objętości jednostek zamieszczono w tabelach od Tabela 4 do Tabela 7. W badaniu wykazano, że test **cobas®** HBV wykrywał DNA HBV w stężeniu 4,4 IU/ml w osoczu pobranym na EDTA oraz 2,8 IU/ml w surowicy z odsetkiem trafień wynoszącym ≥ 95% na podstawie analizy PROBIT dla objętości przetwarzania 400 µl oraz w stężeniu 7,6 IU/ml w osoczu pobranym na EDTA oraz 5,5 IU/ml w surowicy z odsetkiem trafień wynoszącym ≥ 95% na podstawie analizy PROBIT dla objętości przetwarzania 200 µl.

Tabela 4: Granica wykrywalności w osoczu pobranym na EDTA (400 µl)

Stężenie wejściowe (DNA HBV IU/ml)	Liczba ważnych powtórzeń testu	Liczba wyników dodatnich	Odsetek trafień
25,0	126	126	100,0%
15,0	126	126	100,0%
10,0	126	126	100,0%
5,0	126	122	96,8%
2,0	125	94	75,2%
0,5	126	38	30,2%
0,0	36	0	0,0%
LoD w analizie PROBIT przy 95% trafień	4,4 IU/ml 95% przedział ufności: 3,6–5,7 IU/ml		

Tabela 5: Granica wykrywalności w surowicy (400 µl)

Stężenie wejściowe (DNA HBV IU/ml)	Liczba ważnych powtórzeń testu	Liczba wyników dodatnich	Odsetek trafień
25,0	125	125	100,0%
15,0	126	126	100,0%
10,0	126	126	100,0%
5,0	126	126	100,0%
2,0	126	109	86,5%
0,5	126	54	42,9%
0,0	36	0	0,0%
LoD w analizie PROBIT przy 95% trafień	2,8 IU/ml 95% przedział ufności: 2,3–3,8 IU/ml		

Tabela 6: Granica wykrywalności w osoczu pobranym na EDTA (200 µl)

Stężenie wejściowe (DNA HBV IU/ml)	Liczba ważnych powtórzeń testu	Liczba wyników dodatnich	Odsetek trafień
25,0	126	126	100,0%
15,0	126	125	99,2%
10,0	126	125	99,2%
5,0	126	109	86,5%
2,0	126	71	56,4%
0,5	126	18	14,3%
0,0	36	0	0,0%
LoD w analizie PROBIT przy 95% trafień	7,6 IU/ml 95% przedział ufności: 6,3–9,6 IU/ml		

Tabela 7: Granica wykrywalności w surowicy (200 µl)

Stężenie wejściowe (DNA HBV IU/ml)	Liczba ważnych powtórzeń testu	Liczba wyników dodatnich	Odsetek trafień
25,0	126	126	100,0%
15,0	126	126	100,0%
10,0	126	126	100,0%
5,0	126	115	91,3%
2,0	126	90	71,4%
0,5	126	26	20,6%
0,0	36	0	0,0%
LoD w analizie PROBIT przy 95% trafień	5,5 IU/ml 95% przedział ufności: 4,5–7,0 IU/ml		

Zakres liniowości

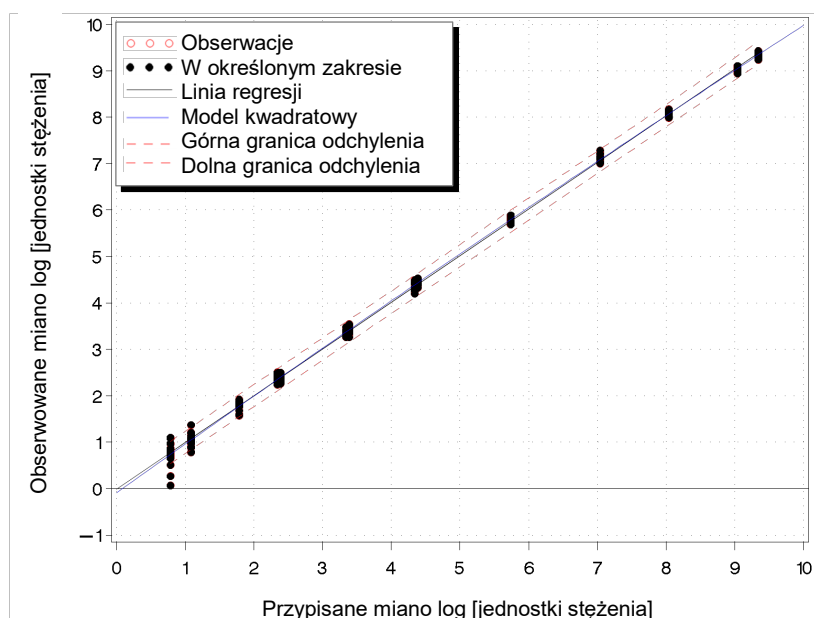
Liniowość testu **cobas**® HBV określono na podstawie analizy serii rozcieńczeń składających się z ≥ 14 elementów panelu z przeważającym genotypem (GT A) HBV rozciągającym się w liniowym zakresie testu. Elementy panelu o najwyższym mianie zostały przygotowane z DNA lambda o wysokim mianie dostępnym na rynku, a elementy panelu o najniższym mianie zostały przygotowane z próbek klinicznych (CS) o wysokim mianie. Panel liniowości opracowano, aby między dwoma źródłami materiałów występowało nałożenie około $2 \log_{10}$.

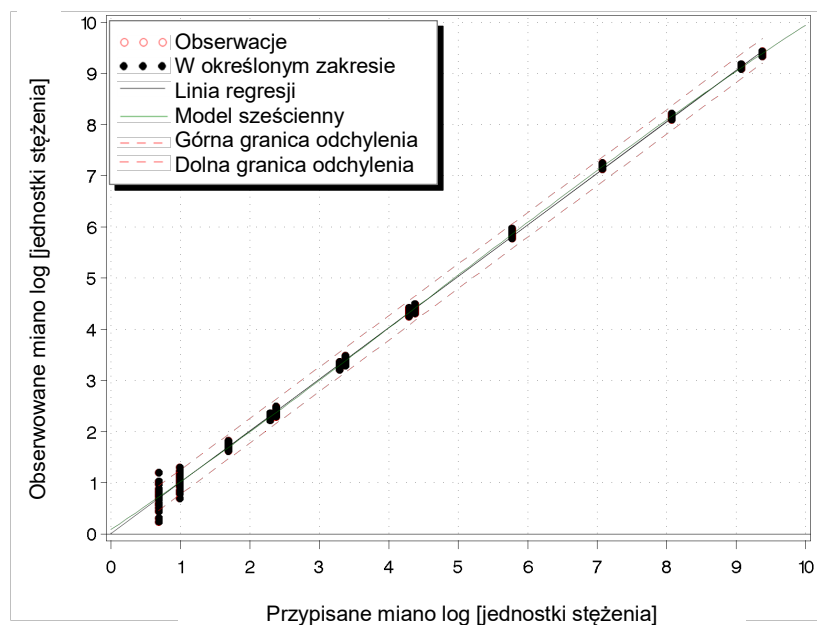
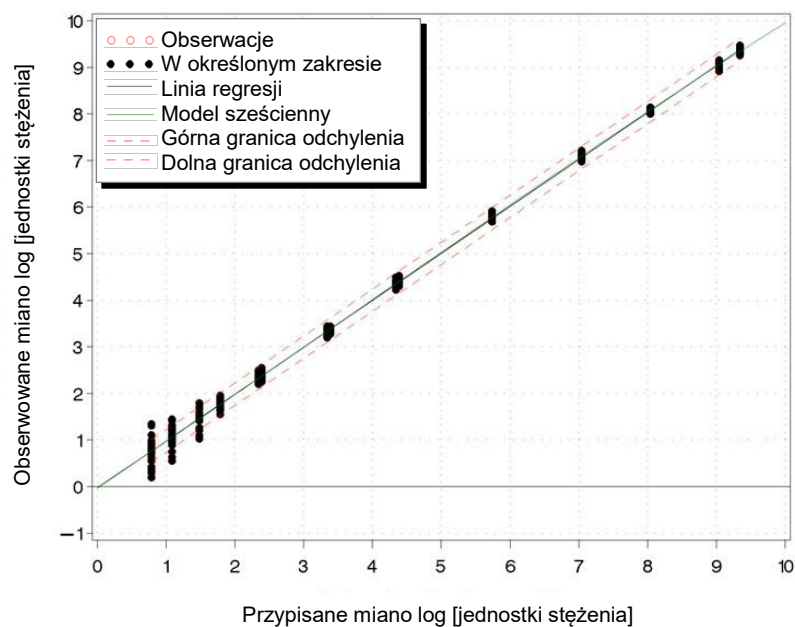
Podczas użycia objętości przetwarzania 400 μ l test **cobas**® HBV ma przebieg liniowy dla osocza pobranego na EDTA i surowicy od 10,0 IU/ml do 1,0E+09 IU/ml i wykazuje maksymalne odchylenie od lepiej pasującej regresji nieliniowej mniejsze lub równe $\pm 0,06 \log_{10}$. W zakresie liniowym dokładność testu mieści się w granicach $\pm 0,08 \log_{10}$ dla osocza pobranego na EDTA i w granicach $\pm 0,12 \log_{10}$ dla surowicy.

Podczas użycia objętości przetwarzania 200 μ l test **cobas**® HBV ma przebieg liniowy dla osocza pobranego na EDTA i surowicy od 10,0 IU/ml do 1,0E+09 IU/ml i wykazuje maksymalne odchylenie od lepiej pasującej regresji nieliniowej mniejsze lub równe $\pm 0,05 \log_{10}$. W zakresie liniowym dokładność testu mieści się w granicach $\pm 0,08 \log_{10}$ dla osocza pobranego na EDTA i w granicach $\pm 0,16 \log_{10}$ dla surowicy.

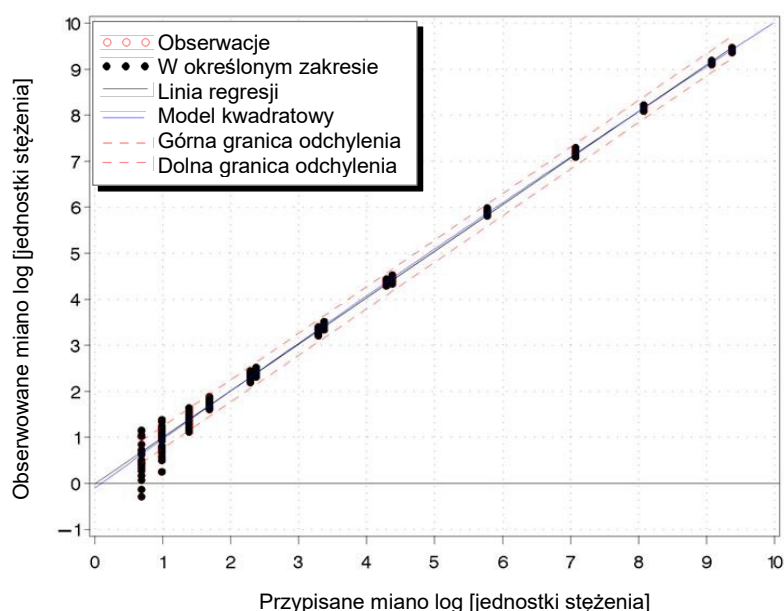
Reprezentatywne wyniki zamieszczono na Rysunek 2 do Rysunek 5.

Rysunek 2: Liniowość w osoczu pobranym na EDTA (400 μ l)



Rysunek 3: Liniowość w surowicy (400 µl)**Rysunek 4: Liniowość w osoczu pobranym na EDTA (200 µl)**

Rysunek 5: Liniowość w surowicy (200 µl)



Dokładność wewnątrz laboratorium

Dokładność testu **cobas®** HBV określono na podstawie analizy serii rozcieńczeń próbek klinicznych (CS) zawierających HBV (genotyp A) lub podstawowy DNA lambda HBV (DNA lambda), przygotowanych w HBV-ujemnym ludzkim osoczu pobranym na EDTA i surowicy. Siedem poziomów rozcieńczeń zbadano w 72 powtórzeniach dla każdego poziomu, matrycy i objętości przetwarzania w trzech seriach odczynników testu **cobas®** HBV przy użyciu trzech aparatów oraz trzech operatorów przez 12 dni. Każda próbka przechodziła całą procedurę testu **cobas®** HBV na systemie **cobas®** 4800. Dlatego podana dokładność odzwierciedla wszystkie aspekty procedury badawczej. Wyniki zamieszczono w tabelach od Tabela 8 do Tabela 11.

Test **cobas®** HBV wykazał wysoką dokładność w trzech seriach odczynników badanych w zakresach stężeń od 2,5E+01 IU/ml do 1,0E+09 IU/ml przy objętościach przetwarzania 200 µl i 400 µl.

Tabela 8: Wewnątrzlaboratoryjna dokładność testu cobas® HBV (próbki osocza pobranego na EDTA — objętość przetwarzania wynosząca 400 µl)*

Stężenie nominalne (IU/ml)	Stężenie przypisane (IU/ml)	Materiał źródłowy	Osocze pobrane na EDTA			
			Seria nr 1	Seria nr 2	Seria nr 3	Wszystkie serie
			SD	SD	SD	Pulowane SD
1,0E+09	1,10E+09	DNA lambda	0,07	0,08	0,05	0,07
1,0E+07	1,10E+07	DNA lambda	0,05	0,05	0,05	0,05
5,0E+05	5,49E+05	DNA lambda	0,06	0,04	0,05	0,05
2,0E+04	2,44E+04	CS	0,06	0,05	0,05	0,05
2,0E+03	2,44E+03	CS	0,08	0,06	0,06	0,07
2,0E+02	2,44E+02	CS	0,06	0,07	0,06	0,06
2,5E+01	3,05E+01	CS	0,14	0,13	0,09	0,12

* Uważa się, iż wartości miana mają charakter rozkładu logarytmiczno-normalnego i są analizowane po zamianie na $\log_{10}$. Kolumny odchylenia standardowego (SD) przedstawiają całkowite przekształcone logarytmicznie miano dla każdej z trzech serii odczynników.

Tabela 9: Wewnętrznlaboratoryjna dokładność testu cobas® HBV (próbki surowicy — objętość przetwarzania wynosząca 400 µl)*

Stężenie nominalne (IU/ml)	Stężenie przypisane (IU/ml)	Materiał źródłowy	Surowica			
			Seria nr 1	Seria nr 2	Seria nr 3	Wszystkie serie
			SD	SD	SD	Pulowane SD
1,0E+09	1,19E+09	DNA lambda	0,04	0,04	0,03	0,04
1,0E+07	1,19E+07	DNA lambda	0,05	0,05	0,04	0,05
5,0E+05	5,93E+05	DNA lambda	0,03	0,04	0,03	0,03
2,0E+04	1,95E+04	CS	0,04	0,03	0,03	0,03
2,0E+03	1,95E+03	CS	0,03	0,02	0,03	0,03
2,0E+02	1,95E+02	CS	0,05	0,04	0,03	0,04
2,5E+01	2,44E+01	CS	0,16	0,08	0,14	0,13

* Uważa się, iż wartości miana mają charakter rozkładu logarytmiczno-normalnego i są analizowane po zamianie na $\log_{10}$. Kolumny odchylenia standardowego (SD) przedstawiają całkowite przekształcone logarytmicznie miano dla każdej z trzech serii odczynników.

Tabela 10: Wewnętrznlaboratoryjna dokładność testu cobas® HBV (osocze pobrane na EDTA — objętość przetwarzania wynosząca 200 µl)*

Stężenie nominalne (IU/ml)	Stężenie przypisane (IU/ml)	Materiał źródłowy	Osocze pobrane na EDTA			
			Seria nr 1	Seria nr 2	Seria nr 3	Wszystkie serie
			SD	SD	SD	Pulowane SD
1,0E+09	1,10E+09	DNA lambda	0,04	0,06	0,04	0,05
1,0E+07	1,10E+07	DNA lambda	0,04	0,07	0,05	0,05
5,0E+05	5,49E+05	DNA lambda	0,03	0,04	0,04	0,04
2,0E+04	2,44E+04	CS	0,04	0,05	0,06	0,05
2,0E+03	2,44E+03	CS	0,05	0,07	0,05	0,06
2,0E+02	2,44E+02	CS	0,05	0,07	0,04	0,06
2,5E+01	3,05E+01	CS	0,30	0,14	0,22	0,23

* Uważa się, iż wartości miana mają charakter rozkładu logarytmiczno-normalnego i są analizowane po zamianie na $\log_{10}$. Kolumny odchylenia standardowego (SD) przedstawiają całkowite przekształcone logarytmicznie miano dla każdej z trzech serii odczynników.

Tabela 11: Wewnętrznlaboratoryjna dokładność testu cobas® HBV (surowica — objętość przetwarzania wynosząca 200 µl)*

Stężenie nominalne (IU/ml)	Stężenie przypisane (IU/ml)	Materiał źródłowy	Surowica			
			Seria nr 1	Seria nr 2	Seria nr 3	Wszystkie serie
			SD	SD	SD	Pulowane SD
1,0E+09	1,19E+09	DNA lambda	0,02	0,02	0,02	0,02
1,0E+07	1,19E+07	DNA lambda	0,03	0,04	0,04	0,04
5,0E+05	5,93E+05	DNA lambda	0,02	0,03	0,04	0,03
2,0E+04	1,95E+04	CS	0,03	0,02	0,03	0,03
2,0E+03	1,95E+03	CS	0,04	0,03	0,03	0,03
2,0E+02	1,95E+02	CS	0,06	0,15	0,05	0,10
2,5E+01	2,44E+01	CS	0,14	0,18	0,15	0,16

* Uważa się, iż wartości miana mają charakter rozkładu logarytmiczno-normalnego i są analizowane po zamianie na $\log_{10}$. Kolumny odchylenia standardowego (SD) przedstawiają całkowite przekształcone logarytmicznie miano dla każdej z trzech serii odczynników.

Weryfikacja genotypu

Wydajność testu **cobas®** HBV na genotypach HBV oceniano na podstawie:

- Weryfikacji granicy wykrywania genotypów od B do H i głównego mutantu w regionie precore
- Weryfikacji liniowości dla genotypów od B do H i mutantu w regionie precore

Weryfikacja granicy wykrywania genotypów od B do H i mutantu w regionie precore

Próbki kliniczne DNA HBV dla ośmiu różnych genotypów (B, C, D, E, F, G, H, mutant w regionie precore G1896A) rozcieńczono w osoczu pobranym na EDTA i surowicy do stężenia LoD w osoczu pobranym na EDTA dla dominującego genotypu (HBV GT A) na podstawie analizy LoD 95% trafień (5,0 IU/ml). Analizę trafień wykonano na 42 powtórzeniach dla każdego genotypu i matrycy próbki. Wyniki te wskazują, że test **cobas®** HBV wykrywał HBV dla genotypów HBV B, C, D, E, F, G, H i mutantu w regionie precore (PC) w stężeniu wynoszącym 5 IU/ml z górną granicą jednostronnego 95% przedziału ufności, która jest większa niż oczekiwany odsetek trafień 95%.

Tabela 12: Weryfikacja LoD dla genotypów HBV B-H i mutantu w regionie precore w 400 µl osocza pobranego na EDTA

Genotyp	Odsetek trafień	Górna granica jednostronnego 95% przedziału ufności
B	97,6%	99,9%
C	95,2%	99,2%
D	100,0%	100,0%
E	100,0%	100,0%
F	100,0%	100,0%
G	100,0%	100,0%
H	90,5%	96,7%
PC	100,0%	100,0%

Tabela 13: Weryfikacja LoD dla genotypów HBV B-H i mutantu w regionie precore w 400 µl surowicy

Genotyp	Odsetek trafień	Górna granica jednostronnego 95% przedziału ufności
B	100,0%	100,0%
C	100,0%	100,0%
D	100,0%	100,0%
E	100,0%	100,0%
F	100,0%	100,0%
G	100,0%	100,0%
H	97,6%	99,9%
PC	100,0%	100,0%

Weryfikacja zakresu liniowego genotypów od B do H i mutantu w regionie precore

Rozcieńczenia seryjne stosowane podczas weryfikacji badania liniowości genotypów testu **cobas®** HBV zawierały dziewięć elementów panelu rozciągającego się na zamierzony zakres liniowy. Elementy panelu o najwyższym mianie zostały przygotowane z DNA lambda o wysokim mianie dostępnym na rynku, a elementy panelu o niższym mianie zostały przygotowane z próbek klinicznych (CS) o wysokim mianie. Panel liniowości opracowano, aby między dwoma źródłami materiałów występowało minimalne nałożenie około $2 \log_{10}$. Zakres liniowy testu **cobas®** HBV rozciągał się od LLoQ (10,0 IU/ml dla objętości przetwarzania 400 µl) do ULoQ ($1,0 \times 10^9$ IU/ml) i obejmował co najmniej dwa kluczowe punkty decyzji medycznych. W osoczu pobranym na EDTA testowano dwanaście powtórzeń na poziom.

Zakres liniowy testu **cobas®** HBV zweryfikowano dla wszystkich ośmiu genotypów (B, C, D, E, F, G, H, mutant w regionie precore). Maksymalne odchylenie między regresją liniową oraz lepiej pasującą regresją nieliniową było równe lub mniejsze niż $\pm 0,08 \log_{10}$.

Swoistość analityczna

Swoistość analityczna testu **cobas®** HBV była oceniana w panelu rozcieńczeń patogenów (Tabela 14) w dodatnim pod względem DNA HBV i ujemnym pod względem DNA HBV osoczu pobranym na EDTA. Patogeny dodawano do ujemnego osocza pobranego na EDTA i testowano je z i bez DNA HBV. W teście **cobas®** HBV wyniki ujemne uzyskano dla wszystkich próbek patogenów bez docelowego HBV, a wyniki dodatnie uzyskano dla wszystkich próbek patogenów z docelowym HBV. Ponadto średni $\log_{10}$ miana każdej próbki dodatniej pod względem HBV zawierającej potencjalnie reagujący krzyżowo mikroorganizm mieścił się w granicach $\pm 0,12 \log_{10}$ średniego $\log_{10}$ miana odpowiedniej dodanej kontroli dodatniej.

Tabela 14: Patogeny testowane pod kątem reakcji krzyżowej

Wirusy		Bakterie	Drożdżaki
Adenowirus typ 5	Wirus Herpes simplex typu 1 i 2	<i>Propionibacterium acnes</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Candida albicans</i>
Wirus cytomegalii	Wirus brodawczaka ludzkiego		
Wirus gorączki Denga typu 1, 2, 3 i 4	Wirus grypy typu A		
Wirus Epsteina-Barr	Wirus zapalenia mózgu z doliny Murray		
Wirus kleszczowego zapalenia mózgu (szczep HYPR)	Wirus zapalenia mózgu z St. Louis		
Wirus zapalenia wątroby typu A	Wirus ospy wietrznej-półpaśca		
Wirus zapalenia wątroby typu C	Wirus gorączki Zachodniego Nilu		
Ludzki wirus upośledzenia odporności-1	Wirus żółtej gorączki		
Ludzki wirus T-limfotropowy typu 1 i 2	Wirus Zika		
Ludzki wirus opryszczki typu 6			

Swoistość analityczna — substancje wpływające na wynik testu

Podwyższone poziomy potencjalnie zakłócających substancji endogennych (trójglicerydów (27,9–30,1 g/l), sprzężonej bilirubiny (0,18–0,22 g/l), niesprężonej bilirubiny (0,19–0,2 g/l), albuminy (57,8–60,6 g/l), hemoglobiny (1,8–2,3 g/l) i ludzkiego DNA (2 mg/l)) w próbkach badano z i bez DNA HBV. Testowane substancje nie zakłócały działania testu **cobas®** HBV. Ponadto nie stwierdzono zakłóceń w obecności markerów immunologicznych tocznia rumieniowatego układowego (SLE), czynnika reumatoidalnego (RF) oraz przeciwciał przeciwjądrowych (ANA).

Średni $\log_{10}$ miana każdej próbki dodatniej pod względem HBV zawierającej potencjalnie interferujące substancje endogenne i markery chorób autoimmunologicznych mieścił się w granicach między $-0,05 \log_{10}$ a $0,07 \log_{10}$ średniego $\log_{10}$ miana odpowiedniej dodanej dodatniej kontroli.

Dodatkowo składniki leków wymienione w Tabeli 15 badano w potrójnym $C_{\max}$ z i bez DNA HBV.

Tabela 15: Składniki leków badane pod kątem interferencji z ilościowym oznaczeniem DNA HBV w teście cobas® HBV

Klasa leku	Nazwa własna leku	
Immunomodulatory	Peginterferon α -2a	Rybawiryna
	Peginterferon α -2b	
Inhibitor wejścia HIV	Marawirok	
Inhibitory integrazy HIV	Elwitegrawir/Kobicistat	Raltegrawir
Nienukleozydowe inhibitory odwrotnej transkryptazy HIV	Efawirenz	Newirapina
	Etrawiryna	Rilpiwiryna
Inhibitory proteazy HIV	Atazanawir	Nelfinawir
	Darunawir	Ritonawir
	Fosamprenawir	Sakwinawir
	Lopinawir	Tipranawir
Inhibitory proteazy HCV	Boceprewir	Telaprewir
	Simeprewir	
Inhibitory odwrotnej transkryptazy lub polimerazy DNA	Abakawir	Gancyklowir
	Acyklowir	Lamiwudyna
	Dipiwoksyl adefowiru	Sofosbuwir
	Cidofowir	Telbiwudyna
	Emtrycytabina	Tenofowir
	Entekawir	Valgancyklowir
	Foskarnet	Zydowudyna
Preparaty do leczenia zakażeń oportunistycznych	Azytromycyna	Pirazynamid
	Klarytromycyna	Rifabutyna
	Etambutol	Rifampicyna
	Flukonazol	Sulfametoksazol
	Izoniazyd	Trimetoprim

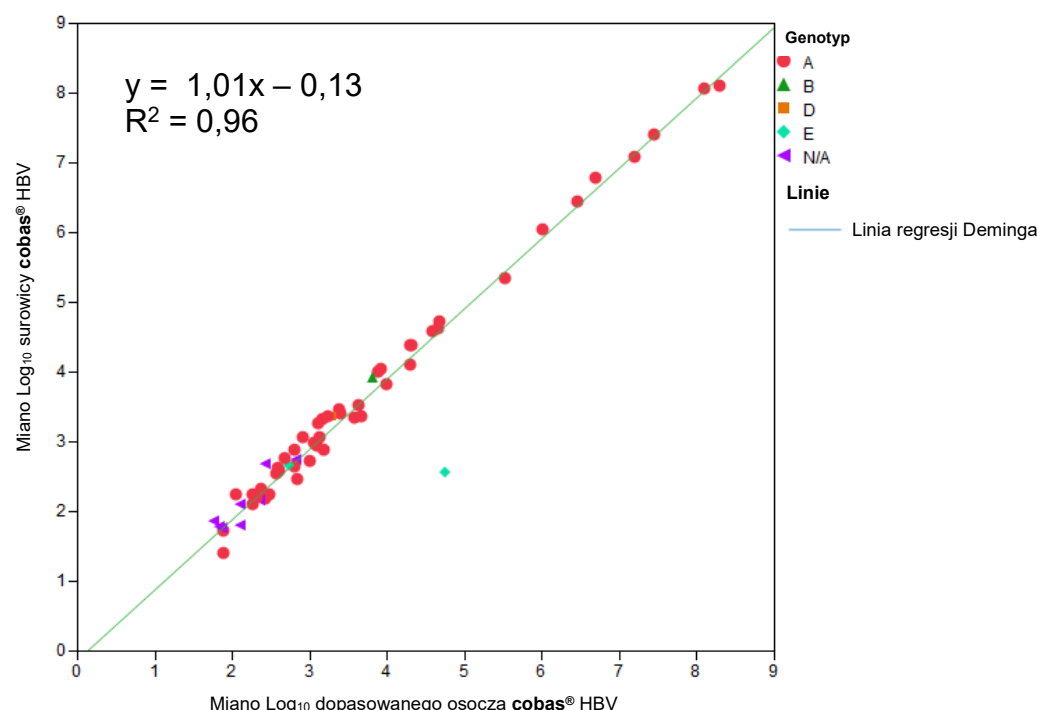
Żaden z potencjalnie zakłócających związków leków nie wykazywał interferencji z testem. W teście cobas® HBV wyniki ujemne uzyskano dla wszystkich próbek bez docelowego HBV, a wyniki dodatnie uzyskano dla wszystkich próbek z docelowym HBV. Ponadto średni $\log_{10}$ miana każdej próbki dodatniej pod względem HBV zawierającej potencjalnie interferujące związki leków mieścił się w granicach pomiędzy $-0,02 \log_{10}$ a $0,03 \log_{10}$ średniego $\log_{10}$ miana odpowiedniej dodanej dodatniej kontroli.

Równoważność matrycy — osocze pobrane na EDTA i surowice

Sto dziewiętnaście sparowanych próbek osocza pobranego na EDTA i surowicy zostało zbadanych pod kątem równoważności matrycy. Spośród tych, 59 sparowanych próbek było próbkami HBV-dodatnimi. Próbki HBV-dodatnie obejmowały genotypy A, B, D i E w zakresie liniowym.

Średnie odchylenie miana dla odpowiadających sobie próbek osocza pobranego na EDTA i surowicy wynosiło $-0,10 \log_{10}$ (95% przedział ufności: $-0,18$; $-0,01$) (Rysunek 6).

Rysunek 6: Równoważność matrycy dotycząca działania z osoczem pobranym na EDTA i surowicą



Błąd całego systemu

Częstotliwość błędu całego systemu dla testu **cobas®** HBV określono badając 100 powtórzeń osocza EDTA z dodanym docelowym HBV. Próbki te były testowane przy stężeniu docelowym wynoszącym około $3 \times \text{LoD}$ (15,0 IU/ml).

Wyniki tego badania wykazały, że we wszystkich powtórzeniach stwierdzono ważność i reaktywność względem HBV, co dało częstość występowania błędów systemowych na poziomie 0,0%. Dolna granica dwustronnego 95% dokładnego przedziału ufności wyniosła 0,0%, a górna 3,6% [0,0%: 3,6%].

Zanieczyszczenie pomiędzy próbkami

Częstość występowania zanieczyszczenia pomiędzy próbkami w teście **cobas®** HBV określono przez oznaczenie 230 powtórzeń próbek HBV-ujemnego osocza pobranego na EDTA i 235 powtórzeń próbek wysokiego miana HBV na poziomie $1,4 \times 10^9$ IU/ml. Łącznie wykonano pięć przebiegów z użyciem próbek dodatnich i ujemnych w układzie naprzemiennym.

Wszystkie 230 powtórzeń ujemnych próbek było ważnych i dało wynik ujemny, z czego wynikała częstość skażenia wynosząca 0,0% z jednostronnym 95% przedziałem ufności wynoszącym 1,3%.

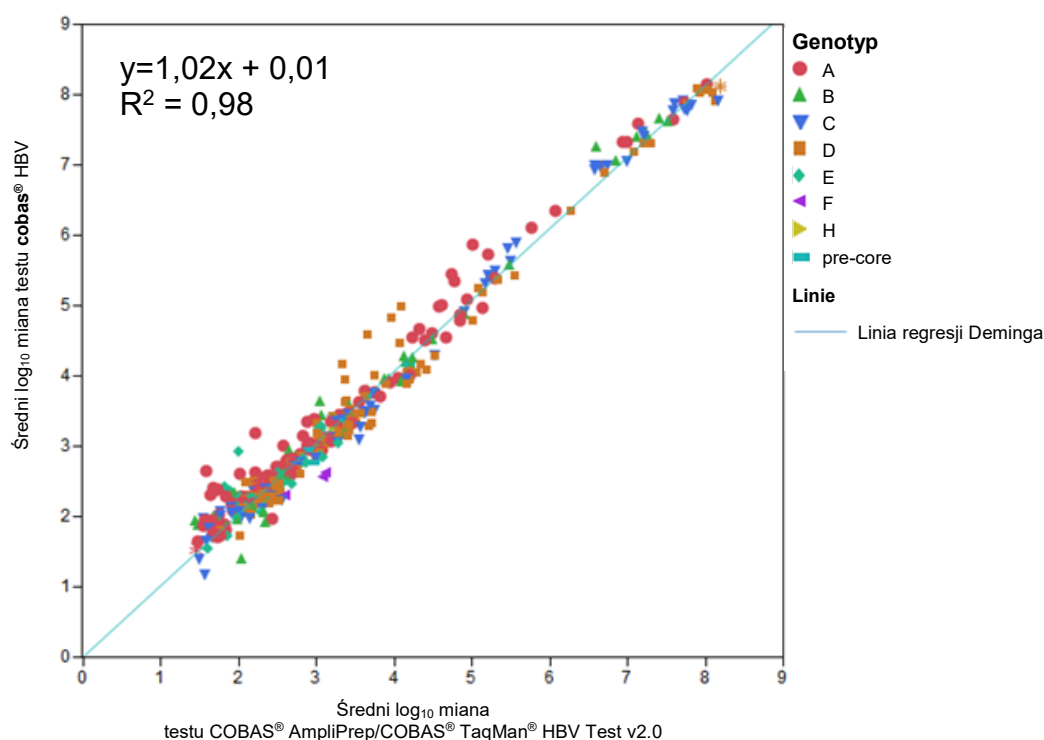
Ocena klinicznej wiarygodności testu

Ocena działania testu cobas® HBV w porównaniu z testem COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HBV Quantitative Test, v2.0

Działanie testu **cobas® HBV** i testu **COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HBV Quantitative Test, v2.0** (TaqMan® HBV Test, v2.0) było porównywane podczas analizy próbek surowicy i osocza pobranego na EDTA od osób zakażonych HBV. W sumie 215 próbek osocza pobranego na EDTA i 170 próbek surowicy dla wszystkich genotypów HBV (z wyjątkiem genotypu G) uzyskało wynik ważny w przeprowadzonej podwójnie analizie i znalazło się w zakresie oznaczalności obu testów. Przeprowadzono analizę regresji Deminga. Średnie odchylenie miana próbek badanych dwoma testami wynosiło 0,06 log₁₀ (95% przedział ufności: 0,04; 0,09).

Rysunek 7 zawiera wyniki regresji Deminga. Kolorem oznaczono dany genotyp.

Rysunek 7: Analiza regresji dla testów cobas® HBV vs TaqMan® HBV Test, v2.0, próbki osocza pobranego na EDTA i surowicy



Swoistość

Swoistość testu **cobas® HBV** określono na podstawie analizy próbek HBV-ujemnego osocza pobranego na EDTA i surowicy od indywidualnych dawców. Sześćset piętnaście pojedynczych próbek osocza pobranego na EDTA i sześćset trzystaście pojedynczych próbek surowicy (w sumie 1228 wyników) było badanych na trzech seriach odczynników **cobas® HBV**. Sześćset piętnaście próbek osocza pobranego na EDTA i 613 próbek surowicy było ujemne pod kątem DNA HBV. W panelu testu swoistość testu **cobas® HBV** wynosiła 100,0% w osoczu i surowicy (jednostronny 95% przedział ufności wynoszący 99,5%).

Dodatkowe informacje

Najważniejsze cechy testu

Rodzaj próbki	Próbki osocza pobranego na EDTA, surowicy		
Objętość przetwarzania próbki	400 µl lub 200 µl		
Czułość analityczna	Osocze pobrane na EDTA: 4,4 IU/ml (400 µl) 7,6 IU/ml (200 µl)	Surowica:	2,8 IU/ml (400 µl) 5,5 IU/ml (200 µl)
Zakres liniowości	400 µl: 10,0 IU/ml – 1,0E+09 IU/ml		
	200 µl: 10,0 IU/ml – 1,0E+09 IU/ml		
Swoistość	100,0% (jednostronny 95% przedział ufności: 99,5%)		
Wykrywane genotypy	Genotypy A-H, mutant G1896A w regionie precore wirusa HBV		

Oznaczenia

Na etykietach produktów diagnostycznych Roche PCR stosuje się następujące oznaczenia.

Tabela 16: Oznaczenia stosowane na etykietach produktów diagnostycznych Roche PCR

Age/DOB Wiek lub data urodzenia	 Wyrób nieprzeznaczony do testów przy pacjencie	QS IU/PCR IU QS na reakcję PCR, użyć jednostek międzynarodowych (IU) QS na reakcję PCR w obliczeniach wyników.
 Oprogramowanie pomocnicze	 Wyrób nieprzeznaczony do samodzielnego testowania	SN Numer seryjny
Assigned Range [copies/mL] Przypisany zakres (kopie/ml)	 Dystrybutor (Uwaga: pod symbolem może być wskazany właściwy kraj/region.)	Site Ośrodek
Assigned Range [IU/mL] Przypisany zakres (IU/ml)	 Nie używać powtórnie	Procedure Standard Procedura standardowa
EC REP Autoryzowany Przedstawiciel we Wspólnocie Europejskiej	 Kobieta	STERILE EO Produkt sterylizowany tlenkiem etylenu
BARCODE Arkusz kodów kreskowych	 Wyłącznie do oceny działania w badaniach IVD	 Przechowywać z dala od światła
LOT Kod partii	GTIN Numer globalny jednostki handlowej	 Przestrzegać zakresu temperatury
 Zagrożenie biologiczne	 Importer	 Plik definicji testów
REF Numer katalogowy	IVD Wyrób medyczny do diagnostyki <i>in vitro</i>	 Tą stroną do góry
 Oznaczenie zgodności CE — wyrób ten jest zgodny z obowiązującymi wymogami dotyczącymi oznaczenia CE dla wyrobu medycznego do diagnostyki <i>in vitro</i>	LLR Dolna granica przypisanego zakresu	Procedure UltraSensitive Procedura ultraczuła
Collect Date Data pobrania	 Mężczyzna	UDI Niepowtarzalny kod identyfikacyjny wyrobu
 Sprawdź w instrukcji użytkowania	 Wytwórca	ULR Górna granica przypisanego zakresu
 Zawartość wystarczająca na <n> testów	CONTROL - Kontrola ujemna	Urine Fill Line Linia napełniania moczem
CONTENT Zawartość zestawu	 Wyrób niejałowy	Rx Only Tylko Stany Zjednoczone: prawo federalne zezwala na sprzedaż tego wyrobu wyłącznie lekarzowi lub na zamówienie takiego lekarza.
CONTROL Próba kontrolna	 Nazwisko pacjenta	 Termin przydatności
 Data produkcji	 Numer pacjenta	
 Wyrób do testów przy pacjencie	 Rozerwać tutaj	
 Wyrób do samodzielnego testowania	CONTROL + Kontrola dodatnia	
	QS copies / PCR Kopie QS na reakcję PCR, użyć kopii QS na reakcję PCR w obliczeniach wyników.	

Pomoc techniczna

W celu uzyskania wsparcia (pomocy) technicznego należy skontaktować się z lokalnym przedstawicielem:
https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm

Wytwórca

Tabela 17: Wytwórca



Wyprodukowano w Stanach Zjednoczonych

Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany
www.roche.com

Wyprodukowano w Stanach Zjednoczonych

Znaki towarowe i patenty

Patrz <https://diagnostics.roche.com/us/en/about-us/patents>

Prawo autorskie

©2024 Roche Molecular Systems, Inc.



Piśmiennictwo

1. Custer B, Sullivan SD, Hazlet TK, Iloeje U, Veenstra DL, Kowdley KV. Global epidemiology of hepatitis B virus. *J Clin Gastroenterol*. 2004; 38:S158-S168.
2. Weinbaum CM, Williams I, Mast EE, et al. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Recommendations for identification and public health management of persons with chronic hepatitis B virus infection. *MMWR Recomm Rep*. 2008;57:1-20.
3. Hu KQ. Hepatitis B virus (HBV) infection in Asian and Pacific Islander Americans (APIAs): how can we do better for this special population? *Am J Gastroenterol*. 2008;103:1824-1833.
4. Dienstag JL. Hepatitis B virus infection. *N Engl J Med*. 2008;359:1486-1500.
5. Liaw YF. Natural history of chronic hepatitis B infection and long-term outcomes under treatment. *Liver Int*. 2009;29Suppl 1:100-107.
6. Fattovich G, Bortolotti F, Donato F. Natural history of chronic hepatitis B: special emphasis on disease progression and prognostic factors. *J Hepatol*. 2008;48:335-352.
7. Buy DY, Lai CL, Yuen MF. Natural history of hepatitis-related hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol*. 2008;14:1652-1656.
8. Kao JH. Diagnosis of hepatitis B virus infection through serologic and virologic markers. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*. 2008;2:553-562.
9. Yuen MF, Wong DK, Fung J, et al. HBsAg Seroclearance in chronic hepatitis B in Asian patients: replicative level and risk of hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology*. 2008;135:1192-1199.
10. Tong MJ, Hsien C, Song JJ, et al. Factors associated with progression to hepatocellular carcinoma and to death from liver complications in patients with HBsAg-positive cirrhosis. *Dig Dis Sci*. 2009;54:1337-1346.
11. Belonia EA, Costa J, Gareen IF, et al. National Institutes of Health. Consensus Development Conference Statement: management of hepatitis B. *Ann Intern Med*. 2009; 150:104-110.
12. Longo MC, Berninger MS, Hartley JL. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions. *Gene*. 1990;93:125-128.
13. Higuchi R, Dollinger G, Walsh PS, Griffith R. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Bio/Technology*. 1992;10:413-417.
14. Heid CA, Stevens J, Livak JK, Williams PM. Real time quantitative PCR. *Genome Research*. 1996; 6: 986-994.
15. Saldanha J, Gerlich W, Lelie N, et al.; WHO Collaborative Study Group. An international collaborative study to establish a World Health Organization international standard for hepatitis B virus DNA nucleic acid amplification techniques. *Vox Sang*. 2001;80:63-71.
16. Pawlotsky JM, Dusheiko G, Hatzakis A, et al. Virologic monitoring of hepatitis B virus therapy in clinical trials and practice: recommendations for a standardized approach. *Gastroenterology*. 2008;134:405-415.
17. Savva R, McAuley-Hecht K, Brown T, Pearl L. The structural basis of specific base-excision repair by uracil-DNA glycosylase. *Nature*. 1995;373:487-493.
18. Mol CD, Arvai AS, Slupphaug G, et al. Crystal structure and mutational analysis of human uracil-DNA glycosylase: structural basis for specificity and catalysis. *Cell*. 1995;80:869-878.
19. Center for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th ed. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention, National Institutes of Health HHS Publication No. (CDC) 21-1112, revised December 2009.
20. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections. Approved Guideline-Fourth Edition. CLSI Document M29-A4:Wayne, PA;CLSI, 2014.

Wersja dokumentu

Informacje dotyczące wersji dokumentu	
Doc Rev. 7.0 02/2024	Informacje dotyczące zagrożeń związanych z zestawami Lysis Kit 2 zostały zaktualizowane. Zaktualizowano stronę z ujednoliconymi symbolami. Dodano część Pomoc techniczna. Zaktualizowano do aktualnych podmiotów gospodarczych. Zaktualizowano sekcję Znaki towarowe i patenty oraz link. Dodano deklarację „Wyprodukowano w”. Zaktualizowano zapis marki cobas®. Dodano symbol „Rx Only”. W razie jakichkolwiek pytań prosimy o kontakt z lokalnym przedstawicielem Roche.
Doc Rev. 8.0 08/2024	Zaktualizowano informacje dotyczące zagrożeń ze strony zestawów Wash Buffer Kit. Usunięto symbol „Rx Only” z pierwszej strony. Zaktualizowano stronę z ujednoliconymi symbolami. W razie jakichkolwiek pytań prosimy o kontakt z lokalnym przedstawicielem Roche.
Doc Rev. 9.0 10/2024	Zaktualizowano w celu zapewnienia zgodności z wymaganiami IVDR. Dodano kod NIBSC do standardu międzynarodowego WHO. Określono region wiążący startera. Dodano część „Ocena klinicznej wiarygodności testu”. Dodano przeznaczenie zestawu cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit. W razie jakichkolwiek pytań prosimy o kontakt z lokalnym przedstawicielem Roche.

Podsumowanie sprawozdania na temat bezpieczeństwa i parametrów działania można znaleźć pod następującym linkiem: <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>