

cobas[®] HBV

**Kiekybinis nukleorūgščių tyrimas,
atliekamas su cobas[®] 6800/8800 sistemomis**

*Skirtas **in vitro** diagnostikai*

cobas[®] HBV

P/N: 07000979190

cobas[®] HBV/HCV/HIV-1 Control Kit

P/N: 06997767190

cobas[®] NHP Negative Control Kit

P/N: 07002220190

Turinys

Paskirtis	4
Tyrimo santrauka ir paaiškinimas.....	4
Reagentai ir medžiagos	6
cobas® HBV reagentai ir kontrolės	6
cobas omni reagentai mėginiams paruošti	9
Reagentų laikymo ir naudojimo reikalavimai	10
Papildomos reikalingos medžiagos	11
Reikalingi instrumentai ir programinė įranga.....	11
Atsargumo priemonės ir naudojimo reikalavimai	12
Įspėjimai ir atsargumo priemonės.....	12
Reagentų naudojimas.....	12
Gera laboratorinė praktika	13
Mėginių ėmimas, transportavimas ir laikymas	13
Mėginiai.....	13
Naudojimo instrukcijos.....	15
Procedūros pastabos	15
cobas® HBV tyrimo atlikimas	15
Rezultatai	16
Kokybės kontrolė ir rezultatų patikimumas.....	16
Rezultatų aiškinimas.....	17
Procedūros apribojimai.....	17

Neklinikinis našumo įvertinimas..... 18

Pagrindinės tyrimo savybės	18
Aptikimo riba (LoD).....	18
Linijinis intervalas	20
Tikslumas (laboratoriniai duomenys)	22
Genotipo nustatymas ir patikrinimas	25
Specifiškumas	28
Analitinis specifiškumas	28
Analitinis specifiškumas – interferuojančios medžiagos	28
Metodų koreliacija	29
Terpės ekvivalentiškumas – EDTA plazma ir serumas	30
Visos sistemos klaidų koeficientas	31
Kryžminis užteršimas	31

Papildoma informacija 32

Pagrindinės tyrimo ypatybės	32
Ženklaai	33
Gamintojas ir platintojai	34
Prekių ženklai ir patentai	34
Auktorijų teisės	34
Šaltinių sąrašas	35
Dokumento leidimas	36

Paskirtis

cobas® HBV – *in vitro* nukleorūgščių amplifikacijos kiekybinis tyrimas hepatito B viruso (HBV) DNR nustatyti HBV užkrėstų asmenų žmogaus EDTA plazmoje ar serume.

Šis tyrimas skirtas naudoti kaip pagalba gydant lėtine HBV infekcija sergančius pacientus, kuriems skirtas antivirusinis gydymas. Tyrimas gali būti naudojamas HBV DNR lygiams nustatyti ties bazine linija ir gydymo metu, kad būtų galima įvertinti reakciją į gydymą. **cobas® HBV** rezultatai turi būti aiškinami atsižvelgiant į visus svarbius klinikinius ir laboratorinius duomenis.

Tyrimo santrauka ir paaiškinimas

Pagrindinė informacija

HBV yra vienas iš kelių žinomų virusų, sukeliančių virusinį hepatitą. Pasaulyje yra per 2 mlrd. gyventojų, kurie turėjo sąlytį su HBV infekcija, o lėtinių HBV nešiotojų skaičius viršija 350 mln.¹ Nors dėl skiepavimo ir universaliųjų atsargumo priemonių naudojant adatas ūmine infekcija užsikrečiama rečiau, Jungtinėse Valstijose (JAV) HBV tebėra pagrindinė kepenų ligos priežastis.² Apskaičiuota, kad bendras HBV infekcijos paplitimas JAV yra 0,3–0,5 %, o 47–70 % atvejų priskiriama gyventojams, gimusiems už JAV ribų.² Tačiau tikslinės patikros programos parodė, kad infekcijos paplitimo lygis tam tikrose didelės rizikos imigrantų populiacijose viršija 15 %.³ Pacientams, sergantiems lėtine HBV infekcija, yra didelė rizika patirti ilgalaikių infekcijos komplikacijų, įskaitant lėtinį hepatitą, cirozę ir hepatoceliulinę karcinomą.^{4–7} Ūminio arba lėtinio HBV infekcijos diagnostikai ir (arba) prognozei dažniausiai naudojami serologiniai žymenys.⁸ JAV ligų kontrolės ir prevencijos centrai išplėtė savo rekomendacijas dėl įprasto didelės rizikos asmenų patikrinimo, papildomai atliekant patikrą tose populiacijose, kuriose HBV paviršiaus antigeno (HBsAg) paplitimas yra didesnis nei 2 %, įskaitant gyventojus iš endeminių pasaulio regionų (pvz., Azijos ir Afrikos), vyrus, turinčius lytinių santykių su vyrais, bei injekcinių narkotikų vartotojus.²

Labiausiai paplitęs HBV infekcijos žymuo yra HBsAg.⁸ Nors nešiotojų organizme HBsAg gali išnykti ir gali susikurti HBsAg antikūnai, vėlesniuose gyvenimo etapuose vis dar išlieka rizika, kad išsivystys sunkios kepenų komplikacijos.^{9, 10} HBe antigenas (HBeAg) paprastai naudojamas kaip antrinis žymuo, rodantis aktyvų HBV dauginimąsi (replikaciją), susijusį su progresuojančia kepenų liga. Nepavykus pašalinti HBeAg padidėja rizika susirgti galutinės stadijos kepenų liga.^{9, 10} Galimos HBV „precore“ mutantų padermės gali prarasti gebėjimą gaminti HBeAg net esant aktyviai infekcijai, todėl šio žymens naudojimas riboja ligos progresavimo stebėjimą.⁷

HBV tyrimų pagrindimas

Nukleorūgščių amplifikacijos technologijos, tokios kaip PGR, gali būti naudojamos siekiant kiekybiškai įvertinti HBV DNR EDTA plazmoje ir serume.^{11–14} Keliose pagrindinėse gairėse HBV DNR koncentracijai apskaičiuoti rekomenduojama naudoti realaus laiko PGR metodiką visų pirma dėl didesnio jautrumo ir platesnio linijinio intervalo.^{15, 16}

Tyrimo paaiškinimas

cobas® HBV yra kiekybinis tyrimas, atliekamas su sistemomis **cobas® 6800** ir **cobas® 8800**. **cobas® HBV** suteikia galimybę aptikti ir kiekybiškai įvertinti HBV DNR užsikrėtusių pacientų EDTA plazmoje ar serume, o gautus rezultatus naudoti laboratorijose, kuriose atliekami klinikiniai tyrimai, taip pat vykdoma įprasta klinikinė HBV sergančių pacientų gydymo praktika. Virusui aptikti ir jo kiekiui nustatyti naudojamas vienas zondas, tačiau juo neatskiriami A–H genotipai. Virusio kiekis nustatomas lyginant su ne HBV DNR kiekybiniu standartu (DNA-QS), kurio pridedama į kiekvieną ruošiamą mėginį. DNA-QS veikia kaip vidinė kontrolė, skirta stebėti visam mėginio paruošimo ir PGR amplifikacijos procesui. Papildomai tyrime naudojamos trys išorinės kontrolės: teigiama didelio titro, teigiama mažo titro ir neigiama kontrolė.

Procedūros principai

cobas® HBV tyrimas pagrįstas visiškai automatizuotu mėginių paruošimu (nukleorūgščių išskyrimu ir išgryninimu), po kurio atliekama PGR amplifikacija ir aptikimas. **cobas®** 6800/8800 sistemos sudaro mėginių tiekimo modulis, perkėlimo modulis, apdorojimo modulis ir analizės modulis. **cobas®** 6800/8800 programinė įranga atlieka automatizuotą duomenų valdymą, kurio metu visiems tyrimams priskiriami tyrimo rezultatai: „Target not detected“ (neaptikta), < LLoQ (apatinė kiekybinio riba), > ULoQ (viršutinė kiekybinio riba) arba „HBV DNA detected“ (HBV DNR aptikta) nurodant reikšmę $LLoQ < x < ULoQ$ linijiniame intervale. Rezultatus galima tiesiogiai peržiūrėti sistemos ekrane, eksportuoti arba išspausdinti kaip ataskaitą.

Nukleorūgštys iš paciento mėginių, išorinių kontrolių ir pridėtų lambda DNR (DNA-QS) molekulių išgaunamos vienu metu.

Viruso nukleorūgštys išskiriamos į mėginį pridėjus proteinazės ir lizės reagentų. Išskirtos nukleorūgštys prisijungia prie magnetinių stiklo dalelių silicio dioksido paviršiaus. Vėlesniame etape plovimo reagentais pašalinamos neprisijungusios medžiagos ir nešvarumai, pvz., denatūruoti baltymai, ląstelių liekanos ir galimi PGR inhibitoriai, o išgrynintos nukleorūgštys nuplaunamos nuo magnetinių stiklo dalelių su eliacijos buferiniu tirpalu esant aukštai temperatūrai.

Atrankinė tiriamų nukleorūgščių amplifikacija iš mėginio gaunama naudojant konkretaus tiriamo viruso tiesioginius ir atvirkštinius pradmenis, kurie parenkami labai konservatyviuose HBV DNR regionuose. Atrankinė DNA-QS amplifikacija atliekama naudojant sekai būdingus tiesioginius ir atvirkštinius pradmenis, kurie parenkami taip, kad neturėtų homologijų su HBV genomu. Amplifikacijai naudojamas aukštai temperatūrai atsparus DNR polimerazės fermentas. Į pagrindinį mišinį įeina deoksiuridino trifosfatas (dUTP), o ne deoksitimidino trifosfatas (dTTP), kuris inkorporuojamas į naujai susintetintą DNR (amplifikacijos produktą).^{14, 17, 18} AmpErase fermentas, įdėtas į PGR mišinį pirmojo terminio ciklo metu, pašalina bet kokius užteršiančius amplifikacijos produktus iš ankstesnių PGR procesų. Tačiau nauji susiformavę amplifikacijos produktai nepašalinami, kadangi AmpErase fermentas tampa neaktyvus aukštesnėje nei 55 °C temperatūroje.

cobas® HBV pagrindiniame mišinyje yra aptikimo zondų, būdingų atitinkamai HBV tikslinėms sekoms ir QS nukleorūgščiai. Kiekvienas iš HBV ir DNA-QS aptikimo zondų pažymėtas vienu iš dviejų unikalių fluorescencinių dažų, kuris veikia kaip signalas. Kiekvienas zondas taip pat turi antrą dažą, kuris veikia kaip slopiklis. Du signaliniai dažai išmatuojami apibrėžtame bangos ilgio intervale, ir tai leidžia vienu metu aptikti ir atskirti amplifikuotus HBV taikinius ir DNA-QS.^{12, 13} Prie tikslinės sekos neprisijungusių zondų fluorescencinį signalą slopina slopinamasis dažas. Vykstant PGR amplifikacijai, zondams prisijungus prie specifinės viengrandės DNR sekos, DNR polimerazė, dėl savo 5'–3' egzonukleazinio aktyvumo zondus perkerpa, dėl ko atskiriami signaliniai ir slopinamieji dažai ir sugeneruojamas fluorescencinis signalas. Su kiekvienu PGR ciklu sukuriami vis daugiau suskaidytų zondų ir stiprėja kaupiamasis signalinio dažo signalas. Du konkretūs signaliniai dažai išmatuojami apibrėžtame bangos ilgio intervale, todėl galima vienu metu aptikti ir atskirti amplifikuotus HBV taikinius ir DNA-QS.

Reagentai ir medžiagos

cobas® HBV reagentai ir kontrolės

Visi neatidaryti reagentai ir kontrolinės medžiagos turi būti laikomi, kaip rekomenduojama 1 lentelėje – 4 lentelėje.

1 lentelė. cobas® HBV

cobas® HBV Laikyti 2–8 °C temperatūroje 96 tyrimų kasetė (P/N 07000979190)		
Rinkinio komponentai	Reagentų sudėtis	Kiekis rinkinyje 96 tyrimų
Proteinazės tirpalas (PASE)	Tris buferinis tirpalas, < 0,05 % EDTA, kalcio chloridas, kalcio acetatas, 8 % proteinazė EUH210: Saugos duomenų lapą galima gauti paprašius. EUH208: Sudėtyje yra subtilizino. Gali sukelti alerginę reakciją.	13 ml
DNR kiekybinis standartas (DNA-QS)	Tris buferinis tirpalas, < 0,05 % EDTA, < 0,001 % ne HBV kilmės DNR konstruktas, kuriame nėra HBV specifinio pradžios prisijungimo sekos ir unikalia zondo jungties vieta (neinfekcinė DNR), 0,002 % poli-rA RNR (sintetinė), < 0,1 % natrio azidas	13 ml
Eliucijos buferinis tirpalas (EB)	Tris buferinis tirpalas, 0,2 % metil-4 hidroksibenzoatas	13 ml
Pagrindinio mišinio 1 reagentas (MMX-R1)	Mangano acetatas, kalio hidroksidas, < 0,1 % natrio azidas	5,5 ml
HBV pagrindinio mišinio 2 reagentas (HBV MMX-R2)	Tricino buferis, kalio acetatas, 18 % dimetilsulfoksidas, glicerolis, < 0,1 % Tween 20, EDTA, < 0,12 % dATP, dCTP, dGTP, dUTPs, < 0,01% HBV geno pradžios ir geno pabaigos pradmenys, < 0,01 % kiekybinio standarto tiesioginiai ir atvirkštiniai pradmenys, < 0,01 % fluorescencine žyme pažymėti oligonukleotidų zondai, specifiniai HBV ir HBV kiekybiniam standartui, < 0,01 % oligonukleotidinis aptameras, < 0,01 % Z05D DNR polimerazė, < 0,10 % fermentas AmpErase (uracil-N-glikozilazė) (mikrobinės kilmės), < 0,1 % natrio azidas	6 ml

* Produkto saugos žymėjimas atliekamas vadovaujantis ES GHS gairėmis.

** Pavojaus medžiaga.

2 lentelė. cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit

cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit

Laikyti 2–8 °C temperatūroje
(P/N 06997767190)

Rinkinio komponentai	Reagentų sudėtis	Kiekis rinkinyje	Saugos simbolis ir įspėjimas*
HBV/HCV/HIV-1 silpnai teigiama kontrolė (HBV/HCV/HIV-1 L(+))	< 0,001 % apsaugota ŽIV-1 M grupės RNR, įkapsuliuota MS2 bakteriofago apvalkalo baltyme, < 0,001 % sintetinė (plazmidė) HBV DNR, įkapsuliuota Lambda bakteriofago apvalkalo baltyme, < 0,001 % sintetinė (apsaugota) HCV RNR, įkapsuliuota MS2 bakteriofago apvalkalo baltyme, įprasta žmogaus kraujo plazma, nereaktyvi pagal licencijuotus HCV antikūnų, ŽIV-1/2 antikūnų, HBsAg, HBc antikūnų tyrimus; ŽIV-1 RNR, ŽIV-2 RNR, HCV RNR ir HBV DNR neaptinkama PGR metodais 0,1 % ProClin® 300 konservantas**	5,2 ml (8 × 0,65 ml)	  ATSARGIAI H317: Gali sukelti alerginę odos reakciją. H412: Kenksminga vandens organizmams, sukelia ilgalaikius pakitimus. P261: Stengtis neįkvėpti dulkių / dūmų / dujų / rūko / garų / aerosolio. P273: Saugoti, kad nepatektų į aplinką. P280: Mūvėti apsaugines pirštines. P333 + P313: Jeigu sudirginama oda arba ją išberia: kreiptis į gydytoją. P362 + P364: Nusivilkti užterštus drabužius ir išskalbti prieš vėl apsivelkant. P501: Turinį / talpyklą išpilti (išmesti) patvirtintoje atliekų šalinimo įmonėje. 55965-84-9 Reakcijos masė: 5-chloro-2-metil-4-izotiazolin-3-onas [EB nr. 247-500-7] ir 2-metil-2H-izotiazol-3-onas [EB nr. 220-239-6] (3:1).
HBV/HCV/HIV-1 stipriai teigiama kontrolė (HBV/HCV/HIV-1 H(+))	< 0,001 % apsaugotos ŽIV-1 M grupės RNR (neinfekcinės RNR MS2 bakteriofage), < 0,001 % sintetinės (plazmidžių) HBV DNR, įkapsuliuotos į Lambda bakteriofago apvalkalo baltymą, < 0,001 % sintetinės (apsaugotos) HCV RNR, įkapsuliuotos į MS2 bakteriofago apvalkalo baltymą, įprasta žmogaus kraujo plazma, nereaktyvi pagal licencijuotus HCV antikūnų, ŽIV-1/2 antikūnų, HBsAg, HBc antikūnų tyrimus; ŽIV-1 RNR, ŽIV-2 RNR, HCV RNR ir HBV DNR neaptinkama PGR metodais 0,1 % ProClin® 300 konservantas**	5,2 ml (8 × 0,65 ml)	  ATSARGIAI H317: Gali sukelti alerginę odos reakciją. P261: Stengtis neįkvėpti dulkių / dūmų / dujų / rūko / garų / aerosolio. P272: Užterštų darbo drabužių negalima išnešti iš darbo vietos. P280: Mūvėti apsaugines pirštines. P333 + P313: Jeigu sudirginama oda arba ją išberia: kreiptis į gydytoją. P362 + P364: Nusivilkti užterštus drabužius ir išskalbti prieš vėl apsivelkant. P501: Turinį / talpyklą išpilti (išmesti) patvirtintoje atliekų šalinimo įmonėje. 55965-84-9 Reakcijos masė: 5-chloro-2-metil-4-izotiazolin-3-onas [EB nr. 247-500-7] ir 2-metil-2H-izotiazol-3-onas [EB nr. 220-239-6] (3:1).

* Produkto saugos žymėjimas atliekamas vadovaujantis ES GHS gairėmis.

** Pavojainga medžiaga.

3 lentelė. cobas® NHP Negative Control Kit

cobas® NHP Negative Control Kit

Laikyti 2–8 °C temperatūroje
(P/N 07002220190)

Rinkinio komponentai	Reagentų sudėtis	Kiekis rinkinyje	Saugos simbolis ir įspėjimas*
Iprastos žmogaus kraujo plazmos neigiama kontrolė (NHP-NC)	Iprasta žmogaus kraujo plazma, nereaktyvi pagal licencijuotus HCV antikūnų, ŽIV-1/2 antikūnų, HBsAg, HBc antikūnų tyrimus; ŽIV-1 RNR, ŽIV-2 RNR, HCV RNR ir HBV DNR neaptinkama PGR metodais < 0,1 % ProClin® 300 konservantas**	16 ml (16 × 1 ml)	  ATSARGIAI H317: Gali sukelti alerginę odos reakciją. P261: Stengtis neįkvėpti dulkių / dūmų / dujų / rūko / garų / aerozolio. P272: Užterštų darbo drabužių negalima išnešti iš darbo vietos. P280: Mūvėti apsaugines pirštines. P333 + P313: Jeigu sudirginama oda arba ją išberia: kreiptis į gydytoją. P362 + P364: Nusivilkti užterštus drabužius ir išskalbti prieš vėl apsivelkant. P501: Turinį / talpyklą išpilti (išmesti) patvirtintoje atliekų šalinimo įmonėje. 55965-84-9 Mišinys: 5-chloro-2-metil-4-izotiazolin-3-onas [EB nr. 247-500-7] ir 2-metil-2H-izotiazol-3-onas [EB nr. 220-239-6] (3:1).

* Produkto saugos žymėjimas atliekamas vadovaujantis ES GHS gairėmis.

** Pavojinga medžiaga.

cobas omni reagentai mėginiams paruošti

4 lentelė. cobas omni reagentai mėginiams paruošti*

Reagentai	Reagentų sudėtis	Kiekis rinkinyje	Saugos simbolis ir įspėjimas**
cobas omni MGP Reagent (MGP) Laikyti 2–8 °C temperatūroje (P/N 06997546190)	Magnetinės stiklo dalelės, Tris buferinis tirpalas, 0,1 % metil-4-hidroksibenzoatas, < 0,1 % natrio azidas	480 tyrimų	Netaikoma
cobas omni Specimen Diluent (SPEC DIL) Laikyti 2–8 °C temperatūroje (P/N 06997511190)	Tris buferinis tirpalas, 0,1 % metil-4-hidroksibenzoatas, < 0,1 % natrio azidas	4 × 875 ml	Netaikoma
cobas omni Lysis Reagent (LYS) Laikyti 2–8 °C temperatūroje (P/N 06997538190)	43 % (masė / masė) guanidino tiocianatas***, 5 % (masė / tūris) polidokanolis***, 2 % (masė / tūris) ditiotreitolis***, natrio citrato dihidratas	4 × 875 ml	  PAVOJINGA H302 + H332: Kenksminga prarijus arba įkvėpus. H314: Smarkiai nudegina odą ir pažeidžia akis. H412: Kenksminga vandens organizmams, sukelia ilgalaikius pakitimus. EUH032: Kontaktuojama su rūgštimis išskiria labai toksiškas dujas. P261: Stengtis neįkvėpti dulkių / dūmų / dujų / rūko / garų / aerosolio. P273: Saugoti, kad nepatektų į aplinką. P280: Mūvėti apsaugines pirštines / dėvėti apsauginius drabužius / naudoti akių (veido) apsaugos priemones. P303 + P361 + P353: PATEKUS ANT ODOS (arba plaukų): nusivilkite visus užterštus drabužius. Nuplaukite odą vandeniu. P304 + P340 + P310: ĮKVĖPUS: išnešti nukentėjusįjį į gryną orą; jam būtina patogi padėtis, leidžianti laisvai kvėpuoti. Nedelsiant skambinti į APSINUODIJIMŲ KONTROLĖS IR INFORMACIJOS BIURĄ / kreiptis į gydytoją. P305 + P351 + P338 + P310: PATEKUS Į AKIS: kelias minutes atsargiai plauti vandeniu. Išimti kontaktinius lęšius, jeigu jie yra ir jeigu lengvai galima tai padaryti. Toliau plauti akis. Nedelsiant skambinti į APSINUODIJIMŲ KONTROLĖS IR INFORMACIJOS BIURĄ / kreiptis į gydytoją. 593-84-0 Guanidinio tiocianatas 9002-92-0 Polidokanolis 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimercaptobutanas-2,3-diolis
cobas omni Wash Reagent (WASH) Laikyti 15–30 °C temperatūroje (P/N 06997503190)	Natrio citrato dihidratas, 0,1 % metil-4-hidroksibenzoatas	4,2 l	Netaikoma

* Šie reagentai neįeina į cobas® HBV tyrimų rinkinį. Žr. papildomų reikalingų medžiagų sąrašą (7 lentelė).

** Produkto saugos žymėjimas atliekamas vadovaujantis ES GHS gairėmis.

*** Pavojinga medžiaga.

Reagentų laikymo ir naudojimo reikalavimai

Reagentai turi būti laikomi ir naudojami, kaip nurodyta 5 lentelėje ir 6 lentelėje.

Kai reagentai neįkelti į **cobas®** 6800/8800 sistemas, juos laikykite atitinkamoje temperatūroje, nurodytoje 5 lentelėje.

5 lentelė. Reagentų laikymas (kai reagentas nėra sistemoje)

Reagentai	Laikymo temperatūra
cobas® HBV	2–8 °C
cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit	2–8 °C
cobas® NHP Negative Control Kit	2–8 °C
cobas omni Lysis Reagent	2–8 °C
cobas omni MGP Reagent	2–8 °C
cobas omni Specimen Diluent	2–8 °C
cobas omni Wash Reagent	15–30 °C

Į **cobas®** 6800/8800 sistemas įkelti reagentai laikomi tinkamoje temperatūroje, o jų galiojimo laiką stebi sistema. **cobas®** 6800/8800 sistemos leidžia naudoti reagentus, tik jei laikomasi visų 6 lentelėje nurodytų sąlygų. Sistema automatiškai neleidžia naudoti nebegaliojančių reagentų. 6 lentelė padeda naudotojui suprasti reagentų naudojimo sąlygas, taikomas **cobas®** 6800/8800 sistemoms.

6 lentelė. Reagentų galiojimo sąlygos, taikomos **cobas®** 6800/8800 sistemų

Reagentai	Rinkinio galiojimo laiko pabaiga	Atidaryto rinkinio stabilumas	Tyrimo atlikimų skaičius, kiek kartų galima naudoti šį rinkinį	Buvimo prietaiso viduje stabilumas (bendras buvimo prietaise (ne šaldytuve) laikas)
cobas® HBV	Galiojimo laikas nepraėjo	30 dienų nuo pirmojo naudojimo	Daugiausia 10 tyrimo atlikimų	Daugiausia 8 val.
cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit	Galiojimo laikas nepraėjo	Netaikoma	Netaikoma	Daugiausia 8 val.
cobas® NHP Negative Control Kit	Galiojimo laikas nepraėjo	Netaikoma	Netaikoma	Daugiausia 10 val.
cobas omni Lysis Reagent	Galiojimo laikas nepraėjo	30 dienų nuo įkėlimo*	Netaikoma	Netaikoma
cobas omni MGP Reagent	Galiojimo laikas nepraėjo	30 dienų nuo įkėlimo*	Netaikoma	Netaikoma
cobas omni Specimen Diluent	Galiojimo laikas nepraėjo	30 dienų nuo įkėlimo*	Netaikoma	Netaikoma
cobas omni Wash Reagent	Galiojimo laikas nepraėjo	30 dienų nuo įkėlimo*	Netaikoma	Netaikoma

* Laikas matuojamas nuo pirmo karto, kai reagentas buvo įkeltas į **cobas®** 6800/8800 sistemas.

Papildomos reikalingos medžiagos

7 lentelė. Medžiagos ir reikmenys, skirti naudoti **cobas®** 6800/8800 sistemose

Medžiaga	P/N
cobas omni Processing Plate	05534917001
cobas omni Amplification Plate	05534941001
cobas omni Pipette Tips	05534925001
cobas omni Liquid Waste Container	07094388001
cobas omni Lysis Reagent	06997538190
cobas omni MGP Reagent	06997546190
cobas omni Specimen Diluent	06997511190
cobas omni Wash Reagent	06997503190
Kietųjų atliekų maišas	07435967001
Kietųjų atliekų konteineris	07094361001

Reikalingi instrumentai ir programinė įranga

cobas® 6800/8800 programinė įranga ir **cobas®** HBV analizės paketas įdiegiami instrumente (-uose). Instrument Gateway (IG) serveris bus pateiktas su sistema.

8 lentelė. Instrumentai

Įranga	P/N
cobas® 6800 sistema (judantis variantas)	05524245001 ir 06379672001
cobas® 6800 sistema (fiksotas variantas)	05524245001 ir 06379664001
cobas® 8800 sistema	05412722001
Mėginių tiekimo modulis	06301037001

Papildomos informacijos apie prietaisuose galimus naudoti pirminius ir antrinius mėginių mėgintuvėlius žr. **cobas®** 6800/8800 sistemos vartotojo vadove.

Pastaba. Kreipkitės į vietinį Roche atstovą dėl išsamaus užsakymo sąrašo, kuriame nurodyti instrumente tinkami naudoti mėginių stoveliai, antgaliams su krešuliais skirti stoveliai ir stovelių dėklai.

Atsargumo priemonės ir naudojimo reikalavimai

Išpėjimai ir atsargumo priemonės

Kaip ir bet kuriam tyrimui, šiam tyrimui tinkamai atlikti reikalinga gera laboratorinė praktika. Dėl didelio šio tyrimo jautrumo reikia imtis atsargumo priemonių, kad nebūtų užteršti reagentai ir amplifikacijos mišiniai.

- Skirta tik *in vitro* diagnostikai.
- **cobas®** HBV nebuvo patvirtintas naudoti kaip patikros tyrimas HBV aptikti kraujyje arba kraujo produktuose ar kaip diagnostinis tyrimas, kuris patvirtintų HBV infekcijos buvimą.
- Su visais pacientų mėginiais turėtų būti elgiamasi taip, lyg jie būtų užkrečiami, atliekant tinkamas laboratorines procedūras, nurodytas Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories ir CLSI dokumente M29-A4.^{19, 20} Šią procedūrą turi atlikti tik darbuotojai, gebantys naudoti **cobas®** HBV ir **cobas®** 6800/8800 sistemas.
- Visas iš žmogaus išskirtas medžiagas reikia laikyti potencialiai užkrečiamomis, todėl reikia taikyti universalias atsargumo priemones. Jei medžiaga išsipila, nedelsdami dezinfekuokite šviežiai paruoštu 0,5 % natrio hipochlorito tirpalu, sumaišytu su distiliuotu ar dejonizuotu vandeniu (buityje naudojamą baliklį atskiedę santykiu 1:10) arba vadovaukitės atitinkamomis vietinėmis procedūromis.
- Į **cobas®** HBV/HCV/HIV-1 Control Kit ir **cobas®** NHP Negative Control Kit įeina plazma, gauta iš žmogaus kraujo. Pradinė medžiaga buvo ištirta naudojant patvirtintus antikūnų tyrimus ir nustatyta, kad ji nereaguoja į HCV viruso antikūną, ŽIV-1/2 viruso antikūną, HBsAg ir HBc antikūną. Ištyrus įprastą žmogaus kraujo plazmą pagal PGR metodus, nebuvo rasta aptinkamų ŽIV-1 (M ir O grupių) RNR, ŽIV-2 RNR, HCV RNR ir HBV DNR. Nėra žinomų tyrimo metodų, galinčių visiškai užtikrinti, kad produktai, išskirti iš žmogaus kraujo, neperduos infekcijos.
- **Neužšaldykite pirminiuose mėgintuvėliuose laikomų viso kraujo ar kitų mėginių.**
- Norėdami užtikrinti didžiausią tyrimo efektyvumą, naudokite tik pateikiamus arba nurodytus reikalingus reikmenis.
- Saugos duomenų lapus (SDS) galite gauti iš vietinio Roche atstovo.
- Kad tyrimas būtų atliktas tinkamai, kruopščiai atlikite procedūras ir laikykitės pateiktų rekomendacijų. Bet koks nukrypimas nuo procedūrų ir rekomendacijų gali turėti įtakos optimaliam tyrimo atlikimui.
- Jei naudojant ir apdorojant mėginius nebus imtasi apsaugos priemonių dėl mėginių kryžminio užteršimo, galima gauti klaidingai teigiamus rezultatus.

Reagentų naudojimas

- Visus reagentus, kontrolines medžiagas ir mėginius naudokite laikydamiesi geros laboratorinės praktikos, kad išvengtumėte mėginių ar kontrolinių medžiagų pernašos.
- Prieš naudodami apžiūrėkite kiekvieną reagentų kasetę, skiediklį, lizės reagentą ir plovimo reagentą, kad įsitikintumėte, jog nėra išsiliejimo požymių. Jei pastebėjote kokių nors skysčio išsiliejimo žymių, tos medžiagos tyrimams nenaudokite.
- Į **cobas omni** Lysis Reagent įeina guanidino tiocianatas – galimai pavojinga cheminė medžiaga. Stenkitės, kad šių reagentų nepatektų ant odos, į akis ar ant gleivinių. Jei medžiagų vis dėlto pateko, nedelsdami nuplaukite dideliu vandens kiekiu, nes to nepadarius gali atsirasti nudegimų.
- Į **cobas®** HBV tyrimų rinkinius, **cobas omni** MGP Reagent, ir **cobas omni** Specimen Diluent kaip konservantas įeina natrio azidas. Stenkitės, kad šių reagentų nepatektų ant odos, į akis ar ant gleivinių. Jei medžiagų vis dėlto pateko, nedelsdami nuplaukite dideliu vandens kiekiu, nes to nepadarius gali atsirasti nudegimų. Išpylę kurį nors reagentą, prieš valydami sausu audiniu, pirmiausia praskieskite išsipylusį reagentą.
- Saugokitės, kad **cobas omni** Lysis Reagent, kuriame yra guanidino tiocianato, neturėtų sąlyčio su natrio hipochlorito (baliklio) tirpalu. Toks mišinys gali išskirti labai nuodingas dujas.
- Visas medžiagas, kurios lietsi su mėginiais ir reagentais, išmeskite pagal šalies ir vietinės taisykles.

Gera laboratorinė praktika

- Nepipetukite burna.
- Nevalgykite, negerkite ir nerūkykite nustatytoje darbo vietoje.
- Dirbdami su mėginiais ir reagentais, mėvėkite laboratorines pirštines bei apsirengkite specialiais laboratoriniais drabužiais ir naudokite apsauginius akinius. Pirštines keiskite tarp mėginių, **cobas®** HBV rinkinių ir **cobas omni** reagentų apdorojimų, kad būtų išvengta užkrėtimo. Venkite pirštinių užteršimo, dirbdami su mėginiais ir kontrolinėmis medžiagomis.
- Baigę dirbti su mėginiais bei rinkinio reagentais ir nusimovę pirštines, kruopščiai nusiplaukite rankas.
- Švariai nuvalykite ir dezinfekuokite visus laboratorijos darbo vietų paviršius, naudodami šviežiai paruoštą 0,5 % natrio hipochlorito tirpalą, sumaišytą su distiliuotu ar dejonizuotu vandeniu (buityje naudojamą baliklį atskiedę santykiu 1:10). Tada nušluostykite paviršių 70 % etanoliu.
- Jei ant **cobas®** 6800/8800 instrumento išsilieja skysčio, vykdydami **cobas®** 6800/8800 sistemos operatoriaus vadove pateiktus nurodymus tinkamai nuvalykite ir pašalinkite instrumento (-ų) paviršiaus užterštumą.

Mėginių ėmimas, transportavimas ir laikymas

Pastaba. Visus mėginius ir kontrolines medžiagas naudokite taip, lyg jie galėtų perduoti infekciją.

Visus mėginius laikykite nurodytoje temperatūroje.

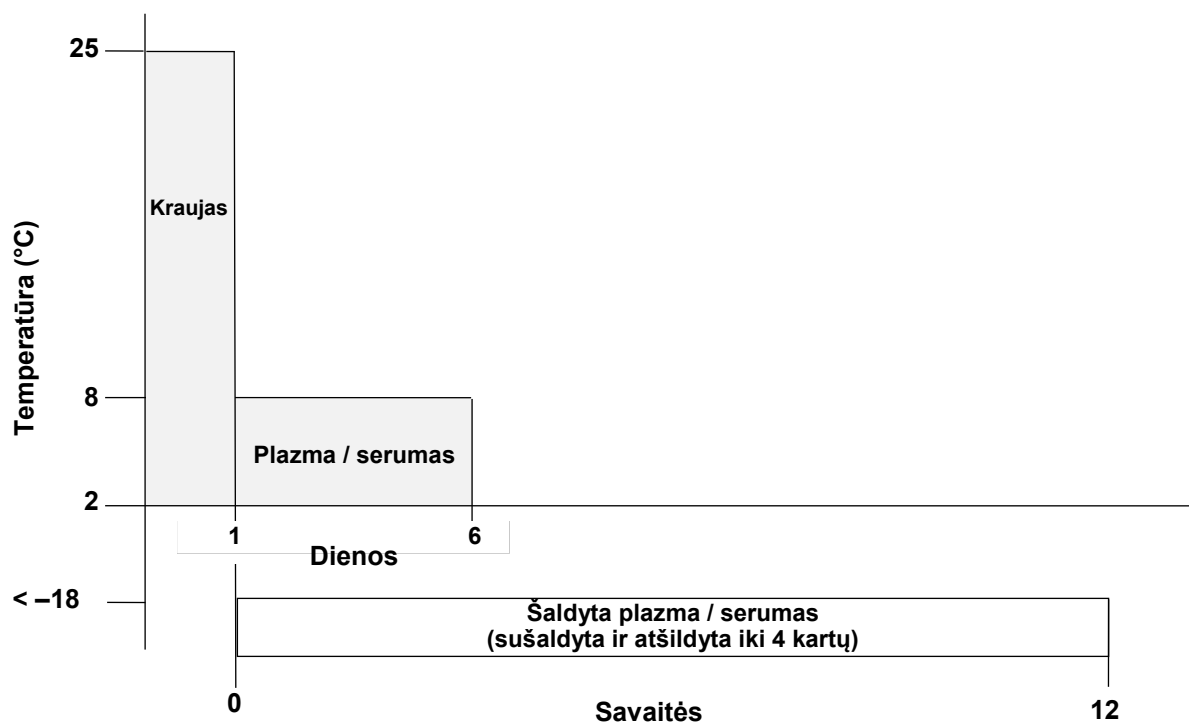
Aukšta temperatūra turi įtakos mėginių stabilumui.

Jeigu naudojate užšaldytus mėginius antriniuose mėgintuvėliuose, palikite mėginius kambario temperatūroje (15–30 °C), kol visiškai atitirps, tada trumpai pamaišykite (pvz., sukuriniu maišytuvu 3–5 sekundes) ir centrifuguokite, kad surinktumėte visą mėginio tūrį mėgintuvėlio apačioje.

Mėginiai

- Kraujo mėginiai turi būti surenkami SST™ serumo atskyrimo mėgintuvėliuose, BD Vacutainer® PPT™ plazmos paruošimo mėgintuvėliuose, skirtuose molekulinės diagnostikos tyrimo metodams, arba steriliuose mėgintuvėliuose, naudojant EDTA kaip antikoagulantą. Vadovaukitės mėginiams surinkti naudojamų mėgintuvėlių gamintojo instrukcijomis. Žr. 1 pav.
- Pilną kraują, surinktą SST™ serumo atskyrimo mėgintuvėliuose, BD Vacutainer® PPT™ plazmos paruošimo mėgintuvėliuose, skirtuose molekulinės diagnostikos tyrimo metodams, arba steriliuose mėgintuvėliuose, naudojant EDTA kaip antikoagulantą, prieš paruošiant plazmą / serumą, galima laikyti ir (arba) transportuoti 2–25 °C temperatūroje ne ilgiau nei 24 valandas. Centrifuguoti reikia laikantis gamintojo instrukcijų.
- Atskirtus plazmos / serumo mėginius galima laikyti antriniuose mėgintuvėliuose iki 6 parų 2–8 °C temperatūroje arba iki 12 savaičių ≤ –18 °C temperatūroje.
- Jei laikymo trukmė ilgesnė, iki 6 mėn., rekomenduojama laikyti ≤ –60 °C temperatūroje.
- Plazmos / serumo mėginiai yra stabilūs po keturių užšaldymo / atitirpinimo ciklų, jei laikomi ≤ –18 °C temperatūroje.

1 pav. Mėginio laikymo sąlygos



- Jei mėginiai bus gabenami, juos reikia supakuoti ir sužymėti pagal taikomas šalies ir (arba) tarptautines mėginių ir etiologinių medžiagų transportavimo taisykles.

Naudojimo instrukcijos

Procedūros pastabos

- **cobas®** HBV tyrimo reagentų, **cobas®** HBV/HCV/HIV-1 Control Kit, **cobas®** NHP Negative Control Kit ar **cobas omni** reagentų nenaudokite pasibaigus galiojimo laikui.
- Pakartotinai nenaudokite vienkartinį priemonių. Jos yra skirtos vienkartiniam naudojimui.
- Informacijos apie tinkamą instrumentų priežiūrą žr. **cobas®** 6800/8800 sistemų naudotojui skirtose pagalbinėje medžiagoje.

cobas® HBV tyrimo atlikimas

cobas® HBV tyrimus galima atlikti naudojant dvejopus minimalius mėginio tūrius – 350 µl (kai dirbama su 200 µl mėginiu) ir 650 µl (kai dirbama su 500 µl mėginiu). Tyrimo atlikimo procedūra išsamiai aprašyta **cobas®** 6800/8800 sistemų naudotojo vadove. 2 pav. pateikta šios procedūros santrauka.

2 pav. cobas® HBV tyrimo procedūra

1	Kai sistema paragins, įdėkite reagentus ir reikmenis: • Įdėkite plovimo reagento, lizės reagento ir skiediklio • Įdėkite apdorojimo plokšteles ir amplifikacijos plokšteles • Įdėkite magnetinių stiklo dalelių • Įdėkite specifinius tyrimo reagentus • Įdėkite kontrolinių medžiagų kasetes • Įdėkite stovus su antgaliais • Pakeiskite užsikimšusių antgalių stovėlį
2	Įdėkite stovus su mėginiais
3	Peržiūrėkite ir eksportuokite rezultatus
4	Išimkite reikmenis: • Išimkite amplifikacijos plokštelę iš analizės modulio • Išimkite tuščias kontrolinių medžiagų kasetes • Ištuštinkite kietąsias atliekas • Ištuštinkite skystąsias atliekas

Rezultatai

cobas® 6800/8800 sistema automatiškai nustato HBV DNR koncentraciją mėginiuose ir kontrolėse. HBV DNR koncentracija pateikiama tarptautiniais vienetais mililitre (TV/ml).

Kokybės kontrolė ir rezultatų patikimumas

- Kiekvienoje partijoje apdorojama viena neigiama kontrolė (–) C ir dvi teigiamos kontrolės: silpnai teigiama kontrolė HBV L(+)C ir stipriai teigiama kontrolė HBV H(+)C.
- cobas® 6800/8800 programinėje įrangoje ir (arba) ataskaitoje patikrinkite žymas ir su jomis susijusius rezultatus, kad užtikrintumėte partijos rezultatų patikimumą.
- Partija yra vertinama, jeigu ties visomis trimis kontrolėmis – viena neigiama ir dviem teigiamomis – nėra žymų: HBV L(+)C, HBV H(+)C. Neigiamos kontrolės rezultatas rodomas kaip (–) C, silpnai ir stipriai teigiama kontrolė rodoma kaip HxV L(+)C ir HxV H(+)C.

Pagal neigiamų ir teigiamų kontrolių klaidas rezultatų nevertinamumą automatiškai nustato cobas® 6800/8800 programinė įranga.

Kontrolių žymos

9 lentelė. Neigiamų ir teigiamų kontrolių žymos

Neigiama kontrolė	Žyma	Rezultatas	Aiškinimas
(–) C	Q02 (Kontrolinės partijos klaida)	Invalid	Nevertinamas rezultatas arba neigiamos kontrolės suskaičiuotas titro rezultatas nėra neigiamas.
Teigiama kontrolė	Žyma	Rezultatas	Aiškinimas
HxV L(+)C	Q02 (Kontrolinės partijos klaida)	Invalid	Nevertinamas rezultatas arba silpnai teigiamos kontrolės apskaičiuotas titro rezultatas yra už priskirtos skalės ribų.
HxV H(+)C	Q02 (Kontrolinės partijos klaida)	Invalid	Nevertinamas rezultatas arba stipriai teigiamos kontrolės apskaičiuotas titro rezultatas yra už priskirtos skalės ribų.

Jei partija nevertinama, pakartokite visos partijos, įskaitant mėginius ir kontroles, tikrinimą.

cobas® 6800/8800 programinėje įrangoje HxV L(+)C rodo cobas® HBV/HCV/HIV-1 silpnai teigiamą kontrolę, o HxV H(+)C rodo cobas® HBV/HCV/HIV-1 stipriai teigiamą kontrolę.

Rezultatų aiškinimas

Kad mėginių grupė būtų tinkama vertinti, patikrinkite, ar **cobas®** 6800/8800 programinėje įrangoje ir (arba) ataskaitoje prie kiekvieno atskiro mėginio nėra žymų. Rezultatai turi būti aiškinami tokiu būdu:

- vertinamą partiją gali sudaryti ir vertinami, ir nevertinami mėginių rezultatai.

10 lentelė. Tiksliniai rezultatai ir atskirų tikslinių rezultatų aiškinimas

Rezultatai	Aiškinimas
Target Not Detected	HBV DNR neaptiktas. Rezultatai pranešami taip: „HBV not detected“.
< Titer Min	Apskaičiuota titro reikšmė mažesnė nei tyrimo apatinė kiekybinė riba (LLoQ). Rezultatai pranešami taip: „HBV detected, less than (Titer Min)“. Min. titras = 10 TV/ml (500 µl) Min. titras = 25 TV/ml (200 µl)
Titer	Suskaičiuotas titras patenka į tyrimo linijinį intervalą – didesnis už min. titrą arba jam lygus ir mažesnis už maks. titrą arba jam lygus. Rezultatai pranešami taip: „(Titer) of HBV detected“.
> Titer Max ^a	Apskaičiuota titro reikšmė didesnė nei tyrimo viršutinė kiekybinė riba (ULoQ). Rezultatai pranešami taip: „HBV detected, greater than (Titer Max)“. Maks. titras = 1,00E+09 TV/ml (500 µl ir 200 µl)

^a Mėginio rezultatas „> Titer Max“ reiškia, kad aptikti HBV teigiami mėginiai, kurių titro reikšmė yra didesnė už viršutinę kiekybinę ribą (ULoQ). Jei reikia kiekybinių rezultatų, pradinį mėginį reikia atskiesti žmogaus kraujo EDTA plazma arba serumu, kuriuose nėra HBV, atsižvelgiant į tai, koks buvo pradinio mėginio tipas, ir tyrimą pakartoti. Gauti rezultatai dauginami iš atskiedimo koeficiento.

Procedūros apribojimai

- **cobas®** HBV buvo įvertintas tik naudojant su **cobas®** HBV/HCV/HIV-1 Control Kit, **cobas®** NHP Negative Control Kit, reagentu **cobas omni** MGP Reagent, lizės reagentu **cobas omni** Lysis Reagent, mėginio skiedikliu **cobas omni** Specimen Diluent ir plovimo reagentu **cobas omni** Wash Reagent – tik naudojant su **cobas®** 6800/8800 sistemomis.
- Patikimi rezultatai priklauso nuo tinkamai atliktų mėginių surinkimo, laikymo ir apdorojimo procedūrų.
- Šis tyrimas buvo patvirtintas naudoti tik su EDTA plazma ir serumu. Kitų tipų mėginių tyrimo rezultatai gali būti netikslūs.
- HBV DNR kiekybinis įvertinimas priklauso nuo viruso dalelių kiekio mėginyje. Jam įtakos gali turėti mėginio paėmimo būdas, su pacientu susiję veiksniai (t. y. amžius, įvairūs simptomai) ir (arba) infekcijos stadija.
- Retais atvejais mutacijos konservatyviuose virusinio genomo regionuose, kuriuos tiria **cobas®** HBV, gali paveikti pradmenų ir (arba) zondų prisijungimą, todėl kiekybinis viruso įvertinimas gali būti žemesnis nei yra arba virusas gali būti nenustatomas.
- Dėl technologijoms būdingų skirtumų naudotojams rekomenduojama prieš pakeičiant vieną technologiją kita savo laboratorijose atlikti metodų koreliacinę analizę, kad būtų įvertinti technologijų skirtumai. Naudotojai turėtų laikytis savo pačių nustatytų specifinių nurodymų/procedūrų.
- **cobas®** HBV nėra skirtas naudoti kaip patikros tyrimas HBV aptikti kraujyje arba kraujo produktuose ar kaip diagnostinis tyrimas, kuris patvirtintų HBV infekcijos buvimą.

Neklinikinis našumo įvertinimas

Pagrindinės tyrimo savybės

Aptikimo riba (LoD)

PSO tarptautinis standartas

cobas® HBV aptikimo riba buvo nustatyta analizuojant PSO tarptautinio standarto, skirto hepatito B viruso DNR amplifikacijos technologijos tyrimams (2-asis PSO tarptautinis standartas), A genotipo, gauto iš NIBSC HBV neigiamoje žmogaus EDTA plazmoje ir serume, serijinius skiedimus, naudojant 500 µl ir 200 µl apdorojamo tūrio mėginius.

Iš aštuonių koncentracijos lygių ir neigiamo mėginio sudaryti 500 µl apdorojamo tūrio rinkiniai bei iš devynių koncentracijos lygių sudaryti 200 µl apdorojamo tūrio rinkiniai buvo ištirti naudojant tris **cobas®** HBV tyrimo reagentų partijas, tyrimus atliekant keletą dienų keliais ciklais, pasitelkiant įvairius operatorius ir naudojant įvairius instrumentus.

EDTA plazmos ir serumo rezultatai iš abiejų mėginio apdorojimo tūrių pateikti atitinkamai 11 lentelėje ir 14 lentelėje. Tyrimo rezultatai rodo, kad **cobas®** HBV aptiko HBV DNR tiriant 500 µl apdorojamo tūrio mėginį, kai EDTA plazmoje koncentracija buvo 3 TV/ml, o sutapimo dažnis siekė $\geq 95\%$; tiriant 200 µl apdorojamo tūrio mėginį, koncentracija buvo 17,5 TV/ml, o sutapimo dažnis – $\geq 95\%$. Naudojant serumą, tyrimo rezultatai rodo, kad **cobas®** HBV aptiko HBV DNR tiriant 500 µl apdorojamo tūrio mėginį, kai koncentracija buvo 3 TV/ml, o sutapimo dažnis siekė $\geq 95\%$; tiriant 200 µl apdorojamo tūrio mėginį koncentracija buvo 15 TV/ml, o sutapimo dažnis – $\geq 95\%$.

11 lentelė. Aptikimo riba EDTA plazmoje (500 µl)

Įvedama titro koncentracija (HBV DNR TV/ml)	Tinkamus vertinti rezultatus turinčių pakartoj. skaičius	Teigiamų rezultatų skaičius	Atitikimo koef. %
20,0	189	189	100,00
10,0	189	189	100,00
8,0	189	189	100,00
6,0	189	189	100,00
5,0	189	188	99,47
4,0	189	185	97,88
3,0	189	183	96,83
2,0	189	166	87,83
LoD pagal PROBIT esant 95 % atitikimo koef.	2,7 TV/ml 95 % patikimumo intervalas: 2,4–3,1 TV/ml		

12 lentelė. Aptikimo riba serume (500 µl)

Ivedama titro koncentracija (HBV DNR TV/ml)	Tinkamus vertinti rezultatus turinčių pakartoj. skaičius	Teigiamų rezultatų skaičius	Atitikimo koef. %
20,0	189	189	100,00
10,0	189	189	100,00
8,0	189	189	100,00
6,0	189	189	100,00
5,0	189	188	99,47
4,0	189	186	98,41
3,0	189	187	98,94
2,0	189	172	91,01
LoD pagal PROBIT esant 95 % atitikimo koef.	2,4 TV/ml 95 % patikimumo intervalas: 2,0–2,7 TV/ml		

13 lentelė. Aptikimo riba EDTA plazmoje (200 µl)

Ivedama titro koncentracija (HBV DNR TV/ml)	Tinkamus vertinti rezultatus turinčių pakartoj. skaičius	Teigiamų rezultatų skaičius	Atitikimo koef. %
50,0	189	189	100,00
30,0	189	189	100,00
25,0	189	188	99,47
20,0	189	189	100,00
17,5	189	182	96,30
15,0	189	179	94,71
12,5	189	170	89,95
10,0	189	142	75,13
5,0	189	87	46,03
LoD pagal PROBIT esant 95 % atitikimo koef.	15,5 TV/ml 95 % patikimumo intervalas: 14,4–16,9 TV/ml		

14 lentelė. Aptikimo riba serume (200 µl)

Ivedama titro koncentracija (HBV DNR TV/ml)	Tinkamus vertinti rezultatus turinčių pakartoj. skaičius	Teigiamų rezultatų skaičius	Atitikimo koef. %
50,0	189	189	100,00
30,0	189	189	100,00
25,0	189	189	100,00
20,0	189	187	98,94
17,5	189	189	100,00
15,0	189	184	97,35
12,5	189	174	92,06
10,0	189	170	89,95
5,0	189	107	56,61
LoD pagal PROBIT esant 95 % atitikimo koef.	12,5 TV/ml 95 % patikimumo intervalas: 11,6–13,8 TV/ml		

Linijinis intervalas

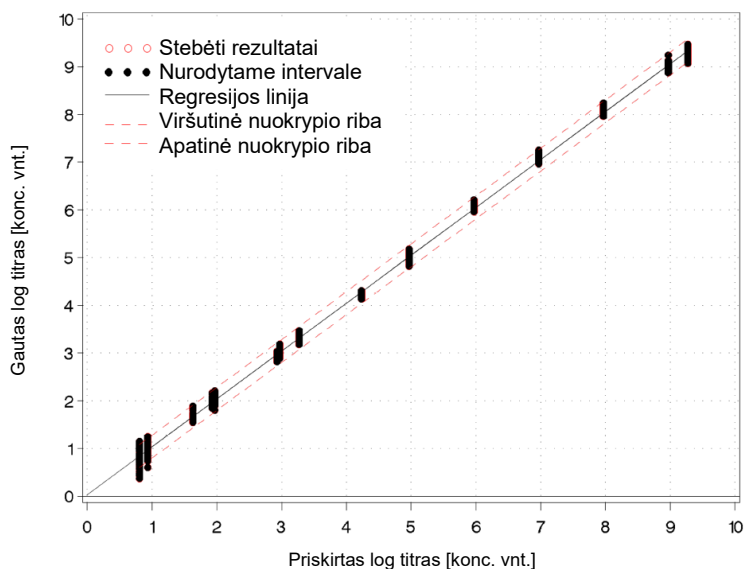
cobas® HBV linijinės tyrimas buvo atliktas naudojant 15 rinkinio elementų skiedinių seriją pagal labiausiai paplitusio genotipo (GT A) numatomą linijinį intervalą. Didelio titro rinkinio elementai buvo ruošiami iš didelio titro HBV plazmidinės DNR koncentrato, o mažesnio titro mėginiai buvo ruošiami iš klinikinio mėginio. Linijinėms tirti skirtas rinkinys buvo sudarytas taip, kad iš dviejų šaltinių gautų mėginių titrai persidengtų maždaug $2 \log_{10}$. Tikėtinas **cobas®** HBV linijinis intervalas apima nuo LLoQ (10 TV/ml naudojant 500 μ l apdorojamo tūrio mėginio ir 25 TV/ml naudojant 200 μ l apdorojamo tūrio mėginio) iki ULoQ ($1,00E+09$ TV/ml). Linijinėms tirti skirtas rinkinys buvo sudarytas taip, kad intervalas apimtų mažesnę už LLoQ (pvz., 7,5 TV/ml) ir didesnę už ULoQ (pvz., $2,0E+09$ TV/ml) koncentraciją ir į jį būtų įtrauktos koncentracijos vertės, reikšmingos priimant medicininius sprendimus. Be to, linijinėms tirti skirtas rinkinys buvo sudarytas taip, kad iš dalies palaikytų žingsnius $1,0 \log_{10}$ linijiniame intervale. Kiekvienam rinkinio elementui buvo suteikta nominalioji koncentracija (TV/ml) ir nurodytas HBV DNR šaltinis.

Apdorojant 500 μ l mėginio tūrio, **cobas®** HBV tiriant EDTA plazmą ir serumą rezultatai buvo tiesiniai nuo 10 TV/ml iki $1,00E+09$ TV/ml, o absoliutus nuokrypis nuo geriau tinkančios netiesinės regresijos buvo mažesnis nei $\pm 0,2 \log_{10}$. Linijiniame intervale tyrimo tikslumas yra $\pm 0,24 \log_{10}$.

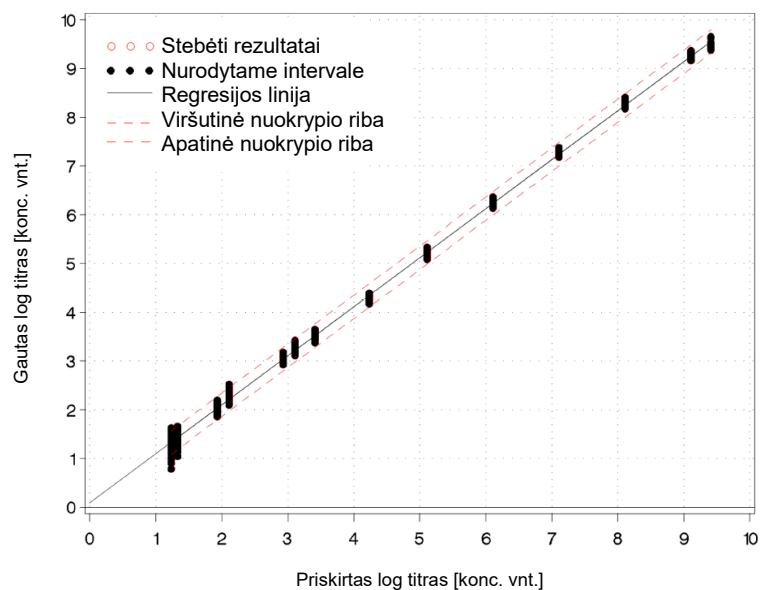
Apdorojant 200 μ l mėginio tūrio, **cobas®** HBV tiriant EDTA plazmą ir serumą rezultatai buvo tiesiniai nuo 25 TV/ml iki $1,00E+09$ TV/ml, o absoliutus nuokrypis nuo geriau tinkančios netiesinės regresijos buvo mažesnis nei $\pm 0,2 \log_{10}$. Linijiniame intervale tyrimo tikslumas yra $\pm 0,24 \log_{10}$.

Rezultatai pateikti 3 pav. – 6 pav.

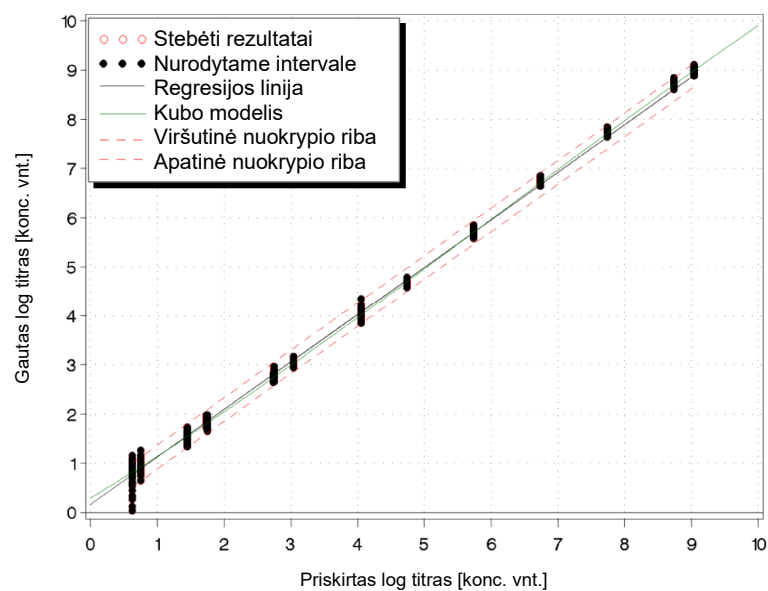
3 pav. Aptikimo riba linijiniame intervale EDTA plazmoje (500 μ l)



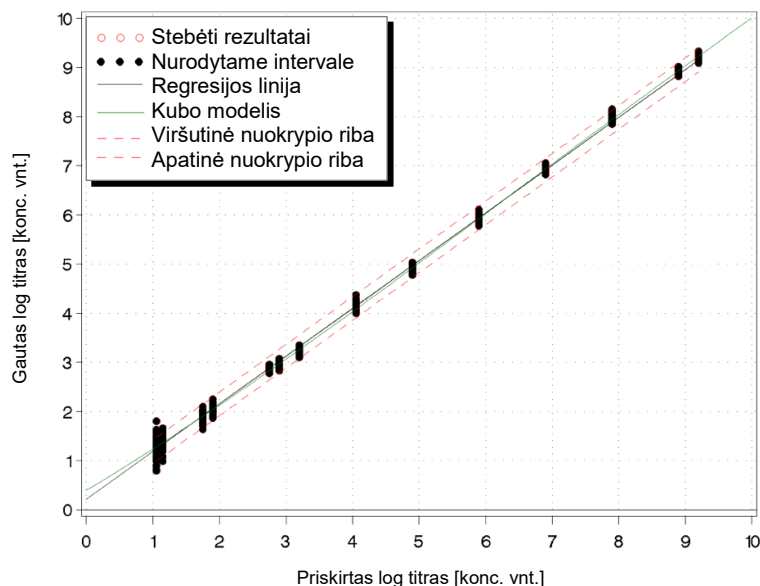
4 pav. Aptikimo riba linijiniame intervale EDTA plazmoje (200 µl)



5 pav. Aptikimo riba linijiniame intervale serume (500 µl)



6 pav. Aptikimo riba linijiniame intervale serume (200 µl)



Tikslumas (laboratoriniai duomenys)

cobas® HBV testo tikslumas buvo nustatytas tiriant HBV neigiamų EDTA plazmos ar serumo klinikinių HBV (A genotipo) mėginių (CS) ar HBV plazmidinės DNR serijinius skiedinius. Buvo ištirta nuo 10 iki 12 skiedimo lygių atliekant po 48 kiekvieno lygio ir mėginio apdorojamo tūrio pakartojimus su trijų partijų **cobas® HBV** tyrimo reagentais, per 12 dienų laikotarpį naudojant tris instrumentus, tyrimą atliekant trims operatoriams. Kiekvienas mėginys buvo tiriamas laikantis visų **cobas® HBV** tyrimo procedūrų reikalavimų, naudojant visiškai automatizuotą **cobas® 6800/8800** sistemą. Todėl čia pateikiami tikslumo duomenys atspindi visus tyrimo procedūros aspektus. Rezultatai pateikti 15 lentelėje – 18 lentelėje.

cobas® HBV parodė puikų tikslumą su visų trijų partijų reagentais, tirtais naudojant koncentracijų intervalą nuo $5,00E+01$ TV/ml iki $1,0E+09$ TV/ml apdorojant 500 µl tūrio mėginius ir nuo $1,00E+02$ TV/ml iki $1,0E+08$ TV/ml (EDTA plazmoje) bei $1,0E+09$ TV/ml (serume) apdorojant 200 µl tūrio mėginius.

15 lentelė. cobas® HBV tikslumas laboratorijoje (EDTA plazmos mėginiai, apdorojamo mėginio tūris – 500 µl)*

Nominalioji koncentracija (TV/ml)	Priskirta koncentracija (TV/ml)	Tiriamoji medžiaga	EDTA plazma			
			1 partija	2 partija	3 partija	Visos partijos
			SD	SD	SD	Jungtinis SD
$1,00E+09$	$9,32E+08$	Plazmidinė DNR	0,04	0,07	0,09	0,07
$1,00E+08$	$9,32E+07$	Plazmidinė DNR	0,04	0,08	0,05	0,06
$1,00E+07$	$9,32E+06$	Plazmidinė DNR	0,06	0,05	0,04	0,05
$1,00E+06$	$9,32E+05$	Plazmidinė DNR	0,06	0,07	0,04	0,06
$1,00E+05$	$9,32E+04$	Plazmidinė DNR	0,06	0,06	0,07	0,06
$2,00E+04$	$1,71E+04$	Klinikinis mėginys	0,05	0,03	0,03	0,04
$2,00E+03$	$1,86E+03$	Plazmidinė DNR	0,05	0,04	0,07	0,05
$1,00E+03$	$8,54E+02$	Klinikinis mėginys	0,04	0,05	0,04	0,04
$1,00E+03$	$9,32E+02$	Plazmidinė DNR	0,06	0,06	0,05	0,06
$1,00E+02$	$8,54E+01$	Klinikinis mėginys	0,07	0,08	0,07	0,07
$1,00E+02$	$9,32E+01$	Plazmidinė DNR	0,10	0,08	0,09	0,09
$5,00E+01$	$4,27E+01$	Klinikinis mėginys	0,09	0,04	0,08	0,08

* Titro duomenys laikomi logaritmiškai įprastai pasiskirstę ir analizuojami pagal $\log_{10}$ transformaciją. Standartinio nuokrypio (SN) stulpeliuose pateikta kiekvienos iš trijų reagentų partijų logaritmuojant transformuoto titro bendra suma.

16 lentelė. cobas® HBV tikslumas laboratorijoje (serumo mėginiai, apdorojamo mėginio tūris – 500 µl)*

Nominalioji koncentracija (TV/ml)	Priskirta koncentracija (TV/ml)	Tiriamoji medžiaga	Serumas			
			1 partija	2 partija	3 partija	Visos partijos
			SD	SD	SD	Jungtinis SD
1,00E+09	5,47E+08	Plazmidinė DNR	0,05	0,06	0,03	0,05
1,00E+08	5,47E+07	Plazmidinė DNR	0,03	0,04	0,03	0,04
1,00E+07	5,47E+06	Plazmidinė DNR	0,05	0,05	0,03	0,05
1,00E+06	5,47E+05	Plazmidinė DNR	0,04	0,06	0,06	0,05
1,00E+05	5,47E+04	Plazmidinė DNR	0,04	0,03	0,03	0,04
2,00E+04	1,12E+04	Klinikinis mėginys	0,10	0,07	0,08	0,08
2,00E+03	1,09E+03	Plazmidinė DNR	0,05	0,05	0,03	0,05
1,00E+03	5,62E+02	Klinikinis mėginys	0,03	0,14	0,03	0,09
1,00E+03	5,47E+02	Plazmidinė DNR	0,04	0,05	0,04	0,04
1,00E+02	5,62E+01	Klinikinis mėginys	0,09	0,06	0,07	0,07
1,00E+02	5,47E+01	Plazmidinė DNR	0,05	0,07	0,04	0,06
5,00E+01	2,81E+01	Klinikinis mėginys	0,07	0,06	0,10	0,08

* Titro duomenys laikomi logaritmiškai įprastai pasiskirstę ir analizuojami pagal log₁₀ transformaciją. Standartinio nuokrypio (SN) stulpeliuose pateikta kiekvienos iš trijų reagentų partijų logaritmuojant transformuoto titro bendra suma.

17 lentelė. cobas® HBV tikslumas laboratorijoje (EDTA plazmos mėginiai, apdorojamo mėginio tūris – 200 µl)*

Nominalioji koncentracija (TV/ml)	Priskirta koncentracija (TV/ml)	Tiriamoji medžiaga	EDTA plazma			
			1 partija	2 partija	3 partija	Visos partijos
			SD	SD	SD	Jungtinis SD
1,00E+08	1,28E+08	Plazmidinė DNR	0,04	0,05	0,03	0,04
1,00E+07	1,28E+07	Plazmidinė DNR	0,06	0,04	0,02	0,04
1,00E+06	1,28E+06	Plazmidinė DNR	0,03	0,04	0,04	0,03
1,00E+05	1,28E+05	Plazmidinė DNR	0,02	0,06	0,05	0,05
2,00E+04	1,71E+04	Klinikinis mėginys	0,03	0,05	0,03	0,04
2,00E+03	2,57E+03	Plazmidinė DNR	0,05	0,06	0,05	0,05
1,00E+03	8,54E+02	Klinikinis mėginys	0,07	0,05	0,03	0,05
1,00E+03	1,28E+03	Plazmidinė DNR	0,06	0,07	0,03	0,05
1,00E+02	8,54E+01	Klinikinis mėginys	0,09	0,09	0,07	0,09
1,00E+02	1,28E+02	Plazmidinė DNR	0,06	0,09	0,11	0,09

* Titro duomenys laikomi logaritmiškai įprastai pasiskirstę ir analizuojami pagal log₁₀ transformaciją. Standartinio nuokrypio (SN) stulpeliuose pateikta kiekvienos iš trijų reagentų partijų logaritmuojant transformuoto titro bendra suma.

18 lentelė. cobas® HBV tikslumas laboratorijoje (serumo mėginiai, apdorojamo mėginio tūris – 200 µl)*

Nominalioji koncentracija (TV/ml)	Priskirta koncentracija (TV/ml)	Tiriamoji medžiaga	Serumas			
			1 partija	2 partija	3 partija	Visos partijos
			SD	SD	SD	Jungtinis SD
1,00E+09	7,92E+08	Plazmidinė DNR	0,04	0,03	0,03	0,04
1,00E+08	7,92E+07	Plazmidinė DNR	0,07	0,05	0,06	0,06
1,00E+07	7,92E+06	Plazmidinė DNR	0,04	0,03	0,04	0,04
1,00E+06	7,92E+05	Plazmidinė DNR	0,03	0,05	0,04	0,04
1,00E+05	7,92E+04	Plazmidinė DNR	0,06	0,07	0,03	0,06
2,00E+04	1,12E+04	Klinikinis mėginys	0,16	0,08	0,03	0,11
2,00E+03	1,58E+03	Plazmidinė DNR	0,05	0,04	0,05	0,05
1,00E+03	5,62E+02	Klinikinis mėginys	0,07	0,04	0,04	0,05
1,00E+03	7,92E+02	Plazmidinė DNR	0,07	0,05	0,06	0,06
1,00E+02	5,62E+01	Klinikinis mėginys	0,09	0,10	0,07	0,09
1,00E+02	7,92E+01	Plazmidinė DNR	0,08	0,09	0,09	0,08

* Titro duomenys laikomi logaritmiškai įprastai pasiskirstę ir analizuojami pagal $\log_{10}$ transformaciją. Standartinio nuokrypio (SN) stulpeliuose pateikta kiekvienos iš trijų reagentų partijų logaritmuojant transformuoto titro bendra suma.

Genotipo nustatymas ir patikrinimas

cobas® HBV efektyvumas tiriant HBV genotipus buvo įvertintas:

- Nustačius B–H genotipų ir labiausiai paplitusio „precore“ mutanto aptikimo ribą EDTA plazmoje ir serume, naudojant 500 µl apdorojamo tūrio mėginius
- Patikrinus B–H genotipų ir labiausiai paplitusio „precore“ mutanto aptikimo ribą EDTA plazmoje ir serume, naudojant 200 µl apdorojamo tūrio mėginius
- Patikrinus B–H genotipų ir labiausiai paplitusio „precore“ mutanto linijiskumą

B–H genotipų ir labiausiai paplitusio „precore“ mutanto aptikimo riba

cobas® HBV aptikimo riba buvo nustatyta analizuojant septynių skirtingų genotipų (B, C, D, E, F, G ir H) bei labiausiai paplitusio „precore“ mutanto (G1896A; C1858T) serijinius skiedimus HBV neigiamoje žmogaus EDTA plazmoje ir serume, naudojant 500 µl apdorojamo tūrio mėginius. Iš aštuonių koncentracijos lygių ir neigiamo mėginio sudaryti rinkiniai buvo ištirti naudojant tris cobas® HBV tyrimo reagentų partijas, tyrimus atliekant keletą dienų keliais tyrimų ciklais, pasitelkiant įvairius operatorius ir naudojant įvairius instrumentus.

EDTA plazmos ir serumo rezultatai naudojant 500 µl apdorojamo tūrio mėginius pateikti atitinkamai 19 lentelėje ir 20 lentelėje. Tyrimo rezultatai rodo, kad cobas® HBV aptiko visus HBV genotipus, tirtus naudojant panašią LoD vertę, kaip ir HBV genotipo A.

19 lentelė. HBV DNR genotipo aptikimo riba EDTA plazmoje (500 µl)

Genotipas	95 % LoD pagal PROBIT analizę	95 % patikimumo intervalas
GT B	3,45 TV/ml	2,95–4,32 TV/ml
GT C	4,13 TV/ml	3,32–5,82 TV/ml
GT D	4,52 TV/ml	3,59–6,49 TV/ml
GT E	3,21 TV/ml	2,76–3,98 TV/ml
GT F	1,87 TV/ml	1,66–2,24 TV/ml
GT G	2,49 TV/ml	2,17–3,02 TV/ml
GT H	6,55 TV/ml	5,33–8,77 TV/ml
„Precore“ mutantas	2,38 TV/ml	2,08–2,90 TV/ml

20 lentelė. HBV DNR genotipo aptikimo riba serume (500 µl)

Genotipas	95 % LoD pagal PROBIT analizę	95 % patikimumo intervalas
GT B	3,30 TV/ml	2,76–4,30 TV/ml
GT C	3,34 TV/ml	2,83–4,23 TV/ml
GT D	2,59 TV/ml	2,17–3,42 TV/ml
GT E	2,67 TV/ml	2,25–3,49 TV/ml
GT F	1,98 TV/ml	1,72–2,45 TV/ml
GT G	2,07 TV/ml	1,75–2,66 TV/ml
GT H	3,48 TV/ml	2,89–4,60 TV/ml
„Precore“ mutantas	1,65 TV/ml	1,43–2,03 TV/ml

B–H genotipų ir labiausiai paplitusio „precore“ mutanto aptikimo ribos patikrinimas

HBV DNR klinikiniai mėginiai, paimti iš visų genotipų (B, C, D, E, F, G ir H) ir labiausiai paplitusio „precore“ mutanto (G1896A; C1858T) iš EDTA plazmos ir serumo buvo praskiesti iki trijų skirtingų koncentracijų lygių. Buvo nustatytas atitikimo koeficientas atliekant 63 kiekvieno koncentracijos lygio kartotinius tyrimus. Tyrimai buvo atliekami naudojant trijų partijų **cobas**® HBV reagentus. EDTA plazmos ir serumo rezultatai naudojant 200 µl apdorojamo tūrio mėginius pateikti 21 lentelėje ir 22 lentelėje. Šie rezultatai patvirtina, kad **cobas**® HBV aptiko HBV DNR septyniems skirtingiems genotipams ir labiausiai paplitusiam „precore“ mutantui, kai koncentracija siekia 12,50 TV/ml ir sutapimo dažnis yra $\geq 93,65\%$, o viršutinis vienašalis 95 % patikimumo intervalas yra 97,80 %.

21 lentelė. HBV DNR genotipo aptikimo ribos patikrinimas EDTA plazmoje (200 µl)

Genotipas	6,25 TV/ml			12,50 TV/ml			18,75 TV/ml		
	Tinkamus vertinti turinčių pakartoj. skaičius	Teigiamų rezultatų skaičius	Atitikimo koef. % (95 % PI*)	Tinkamus vertinti turinčių pakartoj. skaičius	Teigiamų rezultatų skaičius	Atitikimo koef. % (95 % PI*)	Tinkamus vertinti turinčių pakartoj. skaičius	Teigiamų rezultatų skaičius	Atitikimo koef. % (95 % PI*)
B	63	51	80,95 (88,63)	63	63	100,00 (100,00)	63	63	100,00 (100,00)
C	63	45	71,43 (80,65)	63	62	98,41 (99,92)	62	62	100,00 (100,00)
D	61	49	80,33 (88,63)	63	63	100,00 (100,00)	62	61	98,39 (99,92)
E	63	51	80,95 (88,63)	63	63	100,00 (100,00)	63	63	100,00 (100,00)
F	63	54	85,71 (92,34)	63	63	100,00 (100,00)	63	63	100,00 (100,00)
G	63	46	73,02 (82,02)	63	63	100,00 (100,00)	63	63	100,00 (100,00)
H	63	33	52,38 (63,26)	63	59	93,65 (97,80)	63	59	93,65 (97,80)
„Precore“ mutantas	63	54	85,71 (92,34)	63	62	98,41 (99,92)	63	63	100,00 (100,00)

* Viršutinis vienašalis 95 % patikimumo intervalas

22 lentelė. HBV DNR genotipo aptikimo ribos patikrinimas serume (200 µl)

Genotipas	6,25 TV/ml			12,50 TV/ml			18,75 TV/ml		
	Tinkamus vertinti rezultatus turinčių pakartoj. skaičius	Teigiamų rezultatų skaičius	Atitikimo koef. % (95 % PI*)	Tinkamus vertinti rezultatus turinčių pakartoj. skaičius	Teigiamų rezultatų skaičius	Atitikimo koef. % (95 % PI*)	Tinkamus vertinti rezultatus turinčių pakartoj. skaičius	Teigiamų rezultatų skaičius	Atitikimo koef. % (95 % PI*)
B	63	51	80,95 (88,63)	63	62	98,41 (99,92)	63	63	100,00 (100,00)
C	63	54	85,71 (92,34)	63	62	98,41 (99,92)	63	63	100,00 (100,00)
D	63	53	84,13 (91,13)	63	62	98,41 (99,92)	63	63	100,00 (100,00)
E	63	54	85,71 (92,34)	62	62	100,00 (100,00)	63	63	100,00 (100,00)
F	63	59	93,65 (97,80)	63	63	100,00 (100,00)	62	62	100,00 (100,00)
G	63	59	93,65 (97,80)	62	62	100,00 (100,00)	63	63	100,00 (100,00)
H	63	47	74,60 (83,37)	63	61	96,83 (99,43)	63	62	98,41 (99,92)
„Precore“ mutantas	63	60	95,24 (98,66)	63	62	98,41 (99,92)	63	63	100,00 (100,00)

* Viršutinis vienašalis 95 % patikimumo intervalas

B–H genotipų ir labiausiai paplitusio „precore“ mutanto linijškumas

cobas® HBV genotipų linijškumo tyrimui patvirtinti naudotą skiedinių seriją sudaro 10 rinkinio elementų, apimančių numatomą linijinį intervalą. Didelio titro rinkinio elementai buvo ruošiami iš didelio titro plazmidinės DNR koncentrato, o mažesnio titro mėginiai buvo ruošiami iš didelio titro klinikinio mėginio. Linijškumui tirti skirtas rinkinys buvo sudarytas taip, kad iš dviejų šaltinių gautų mėginių titrai persidengtų maždaug 2 log₁₀. **cobas®** HBV linijinis intervalas apėmė nuo mažesnės nei LLoQ (10 TV/ml apdorojant 500 µl mėginio, 25 TV/ml apdorojant 200 µl mėginio) iki ULoQ (1,00E+09 TV/ml) ir į jį buvo įtraukta mažiausiai viena koncentracijos vertė, reikšminga priimant medicininius sprendimus. Buvo ištirtas dvidešimt vienas kiekvieno lygio pakartojimas su trijų partijų **cobas®** HBV reagentais EDTA plazmoje ir serume.

Linijškumas **cobas®** HBV linijiniame intervale buvo patikrintas visiems septyniems genotipams (B, C, D, E, F, G ir H) ir labiausiai paplitusiam „precore“ mutantui (G1896A; C1858T). Didžiausias nuokrypis tarp tiesinės regresijos ir geriau atitinkančios netiesinės regresijos buvo lygus ±0,2 log₁₀ arba mažesnis.

Specifiškumas

cobas® HBV specifiškumas buvo nustatytas analizuojant atskirų donorų HBV neigiamos EDTA plazmos ir serumo mėginius. Trys šimtai atskirų EDTA plazmos ir 300 atskirų serumo mėginių (iš viso 600 rezultatų) ištirti naudojant dvi **cobas® HBV** reagentų partijas. Visi mėginiai buvo nustatyti kaip HBV DNR neigiami. Tiriamųjų mėginių rinkinyje **cobas® HBV** specifiškumas buvo 100 % (vienasalis 95 % patikimumo intervalas siekė 99,5 %).

Analitinis specifiškumas

cobas® HBV analitinis specifiškumas buvo vertinamas skiedžiant mikroorganizmų grupės mėginius HBV DNR teigiama ir HBV DNR neigiama EDTA plazma. Mikroorganizmų buvo pridėta į neigiamą žmogaus EDTA plazmą ir tirta su HBV DNR ir be jos. Nė vienas iš ne HBV patogenų netrukė tyrimo efektyvumui. Neigiami rezultatai naudojant **cobas® HBV** buvo gauti su visais mikroorganizmų mėginiais be tiriamojo HBV, teigiami rezultatai buvo gauti su visais mikroorganizmų mėginiais su tiriamuoju HBV. Be to, visų teigiamų HBV mėginių su potencialiai kryžminės reakcijos sukeliančiais organizmais vidutinis $\log_{10}$ buvo $\pm 0,3 \log_{10}$ ribose, palyginti su pridėto teigiamo mėginio vidutiniu $\log_{10}$ titru.

23 lentelė. Mikroorganizmai, ištirti dėl kryžminio reaktyvumo

Virusai		Bakterijos	Mielės
5 tipo adenovirusas	Vakarų Nilo virusas	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Candida albicans</i>
Citomegalovirusas	Sent Luiso encefalito virusas	<i>Staphylococcus aureus</i>	
Hepatito A virusas	Dengė karštinės viruso 1, 2, 3 ir 4 tipai		
Hepatito C virusas	FSME virusas (atmaina HYPR)		
Hepatito D virusas	Geltonosios karštinės virusas		
Žmogaus imunodeficit 1 tipo virusas	Žmogaus papilomos virusas		
Žmogaus T ląstelių limfotropinio viruso 1 ir 2 tipai	Varicella-zoster virusas		
Žmogaus pūslelinės 6 tipo virusas	Gripas A		
Paprastosios pūslelinės 1 ir 2 tipo virusas	Zika virusas		

Analitinis specifiškumas – interferuojančios medžiagos

Didesni trigliceridų (34,5 g/l), konjuguoto bilirubino (0,25 g/l), nekonjuguoto bilirubino (0,25 g/l), albumino (58,7 g/l), hemoglobino (2,9 g/l) ir žmogaus DNR (2 mg/l) kiekiai mėginiuose buvo ištirti, juose esant HBV DNR ir be jos. Buvo parodyta, kad tirtos endogeninės interferencinės medžiagos nedaro įtakos **cobas® HBV** tyrimo efektyvumui.

Taip pat buvo ištirtas autoimuninių ligų – sisteminės raudonosios vilkligės (SRV), reumatoidinio artrito (RA) ir antinuklelinių antikūnų – buvimas.

Papildomai buvo ištirtos 24 lentelėje išvardytos vaistinės medžiagos naudojant 3 kartus didesnę jų koncentraciją, nei nustatyta $C_{maks.}$ esant HBV DNR ir be jos.

Parodyta, kad jokios potencialios interferuojančios medžiagos netrukė tyrimo efektyvumui. Neigiami rezultatai naudojant **cobas® HBV** buvo gauti su visais mėginiais be tiriamojo HBV, teigiami rezultatai buvo gauti su visais mėginiais su tiriamuoju HBV. Be to, visų teigiamų HBV mėginių su potencialiai trukdančiomis medžiagomis vidutinis $\log_{10}$ titras buvo $\pm 0,5 \log_{10}$ ribose, palyginti su pridėto teigiamo mėginio vidutiniu $\log_{10}$ titru.

24 lentelė. Vaistinės medžiagos tirtos dėl interferencijos kiekybiškai tiriant HBV DNR, naudojant cobas® HBV

Vaisto klasė	Bendrinis vaisto pavadinimas	
Imuniteto modulatorius	Peginterferonas α -2a	Peginterferonas α -2b
	Ribavirinas	
ŽIV patekimo inhibitorius	Maravirokas	
ŽIV integrazės inhibitorius	Elvitegraviras / Cobicistatas	Raltegraviras
Nenukleozidinis ŽIV atvirkštinės transkriptazės inhibitorius	Efavirezas	Nevirapinas
	Etravirinas	Rilpivirinas
ŽIV proteazių inhibitorius	Atazanaviras	Lopinaviras
	Tipranaviras	Nelfinaviras
	Darunaviras	Ritonaviras
	Fosamprenaviras	Sakvinaviras
HCV proteazių inhibitorius	Bocepreviras	Telapreviras
	Simepreviras	
Atvirkštinės transkriptazės arba DNR polimerazės inhibitoriai	Abakaviras	Tenofoviras
	Emtricitabinas	Adefoviro dipivoksilas
	Entekaviras	Telbivudinas
	Foskarnetas	Zidovudinas
	Cidofoviras	Acicloviras
	Lamivudinas	Valgancikloviras
	Gancikloviras	Sofosbuviras
Junginiai oportunistinėms infekcijoms gydyti	Azitromicinas	Pirazinamidas
	Klaritromicinas	Rifabutinas
	Etambutolis	Rifampicinas
	Flukonazolis	Sulfametoksazolis
	Izoniazidas	Trimetoprimas

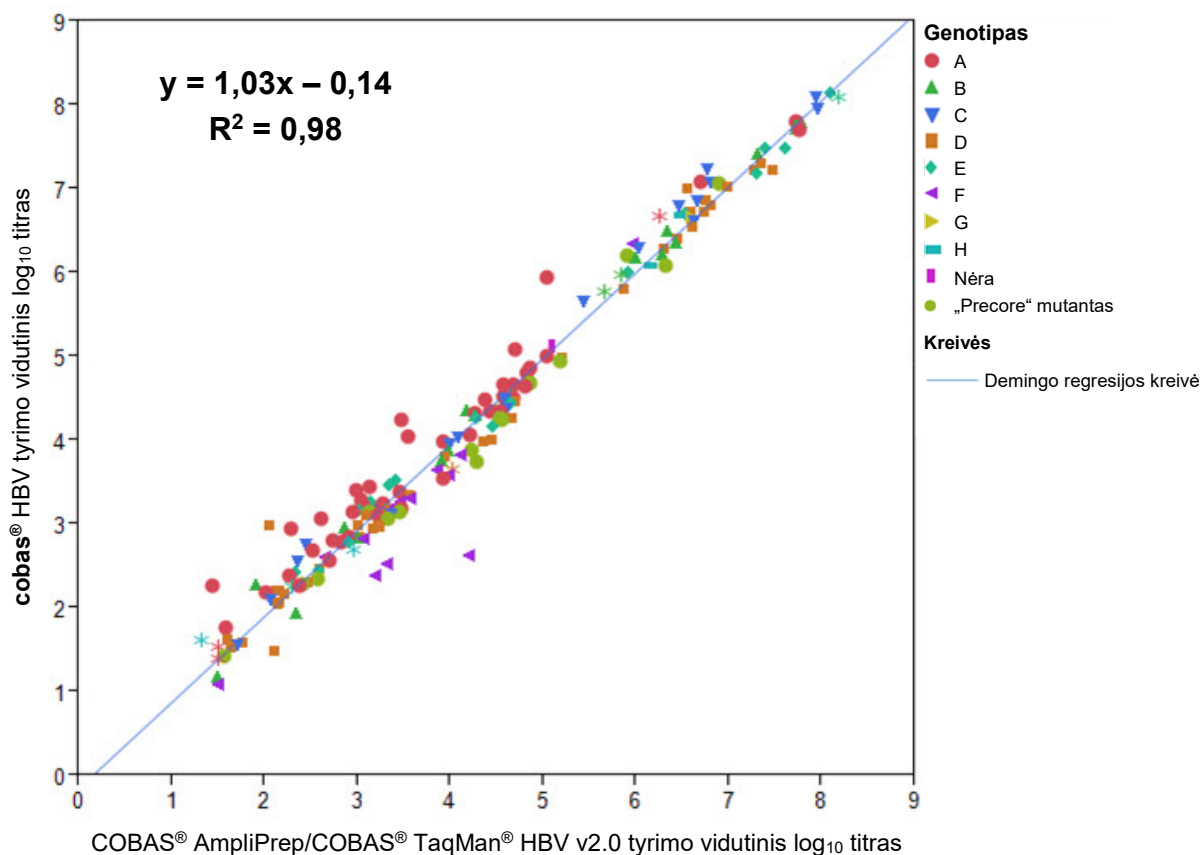
Metodų koreliacija

cobas® HBV efektyvumo vertinimas lyginant su COBAS® AmpliPrep / COBAS® TaqMan® HBV v2.0 tyrimu

cobas® HBV ir COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HBV tyrimo, v2.0 (TaqMan® HBV tyrimas, v2.0), efektyvumas buvo lyginamas analizuojant HBV užkrėstų pacientų EDTA plazmos ir serumo mėginius. Iš viso po du kartus buvo ištirti 103 visų HBV genotipų EDTA plazmos ir 85 serumo mėginiai. Abiejų tyrimų visi rezultatai buvo vertinami ir neviršijo kiekybinės analizės intervalo ribų. Buvo atlikta Demingo regresinė analizė. Mėginiams, tirtiems abiem tyrimais, nustatytas vidutinis titro nuokrypis $-0,03 \log_{10}$.

Demingo regresijos rezultatai pateikti 7 pav.

7 pav. cobas® HBV ir TaqMan® HBV v2.0 tyrimo EDTA plazmos ir serumo mėginiuose regresijos analizė

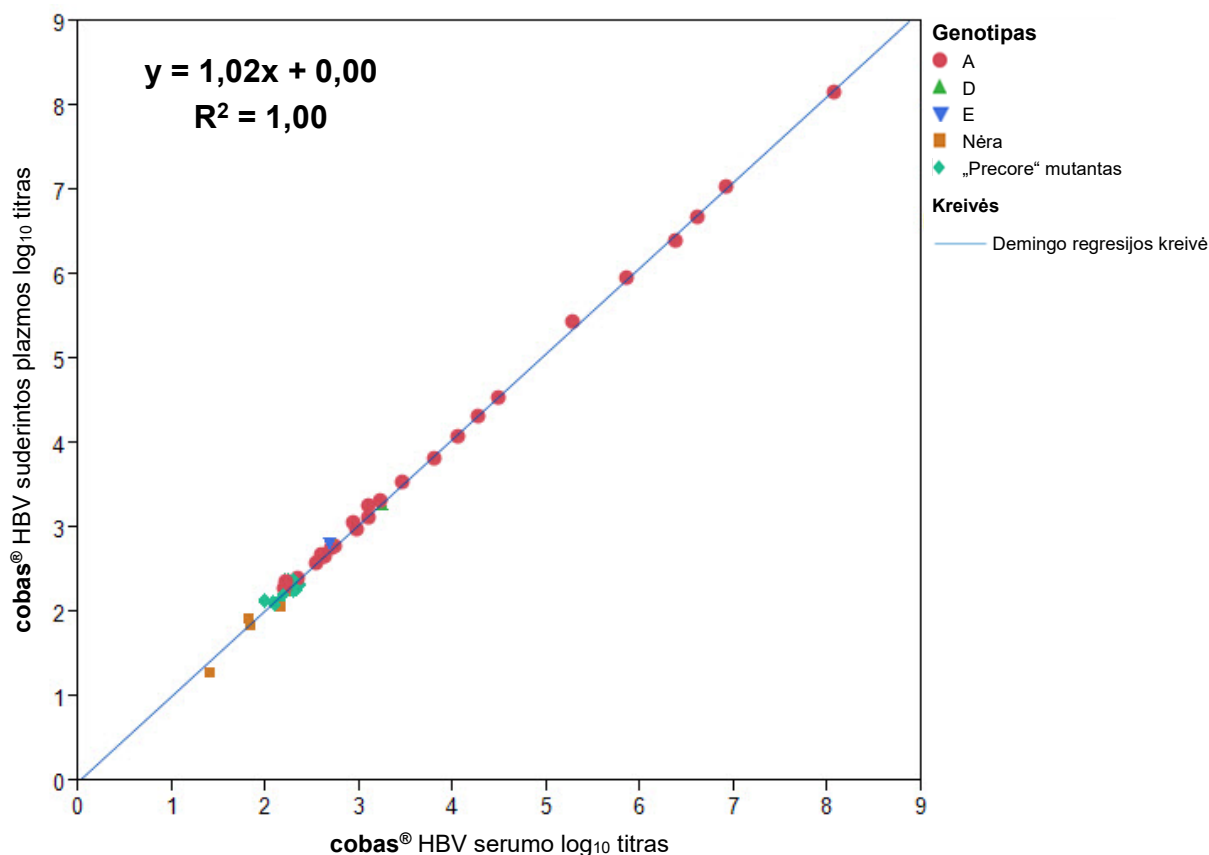


Terpės ekvivalentiškumas – EDTA plazma ir serumas

Matricos lygiavertiškumui nustatyti buvo išanalizuota penkiasdešimt suporuotų EDTA plazmos ir serumo mėginių. HBV teigiami mėginiai apėmė daugumą genotipų, o titrai buvo visame linijiniame intervale.

Tiriamuose pavyzdžiuose buvo rodomas matricos lygiavertiškumas, vidutiniam titro nuokrypiui siekiant 0,05 log₁₀ (8 pav.).

8 pav. Matricos lygiavertiškumo efektyvumo palyginimas EDTA plazmoje ir serume



Visos sistemos klaidų koeficientas

cobas® HBV visos sistemos sutrikimo koeficientas buvo nustatytas tiriant 100 EDTA plazmos ir 100 serumo mėginių, į kuriuos pridėta HBV, pakartojimų – iš viso 200 pakartojimų. Šie mėginiai buvo tirti esant apytiksliai $3 \times \text{LoD}$ koncentracijai. Tyrimas atliktas naudojant **cobas® 6800** sistemą.

Šio tyrimo rezultatai parodė, kad visi pakartojimai buvo reaktyvūs su kiekvienu taikiniu, taigi bendras visos sistemos sutrikimo koeficientas buvo 0 %. Dvišalis 95 % tikslumo patikimumo intervalas kiekvienoje matricoje buvo 0 % apatinei ribai ir 3,62 % viršutinei ribai [0 %: 3,62 %].

Kryžminis užteršimas

cobas® HBV kryžminio užteršimo koeficientas nustatytas tiriant įprastos žmogaus EDTA plazmos be virusų (ŽIV, HCV ir HBV) 240 mėginių pakartojimų ir didelio titro HBV mėginio ($1,00\text{E}+09 \text{ TV/ml}$) 225 pakartojimus. Iš viso buvo atliktos penkios tyrimų procedūros, išdėsčius teigiamus ir neigiamus mėginius šaškių lentos konfigūracijoje.

Visi 240 neigiamo mėginio pakartojimų buvo nereaktyvūs, taigi kryžminio užteršimo koeficientas buvo 0 %. Dvišalis 95 % tikslumo patikimumo intervalas buvo 0 % apatinei ribai ir 1,53 % viršutinei ribai [0 %: 1,53 %].

Papildoma informacija

Pagrindinės tyrimo ypatybės

Mėginio tipas	EDTA plazma, serumas		
Minimalus reikiamas mėginio tūris	650 µl arba 350 µl		
Apdorojamas mėginio tūris	500 µl arba 200 µl		
Analitinis jautrumas		<u>500 µl</u>	<u>200 µl</u>
	EDTA plazma	2,7 TV/ml	15,5 TV/ml
	Serumas	2,4 TV/ml	12,5 TV/ml
Linijinis intervalas	500 µl: 10–1,0E+09 TV/ml		
	200 µl: 25–1,0E+09 TV/ml		
Specifiškumas	100 % (vienašalis 95 % patikimumo intervalas: 99,5 %)		
Aptinkami genotipai	HBV A–H genotipai ir labiausiai paplitęs „precore“ mutantas		

Ženkilai

Šie ženklai naudojami Roche PGR diagnostikos gaminiams žymėti.

25 lentelė. Simboliai, naudojami Roche PGR diagnostikos gaminiams žymėti



Papildoma programinė įranga



In vitro diagnostikos medicinos priemonė



Įgaliotasis atstovas
Europos Bendrijoje



Priskirtos skalės apatinė riba



Brūkšinių kodų duomenų lapas



Gamintojas



Partijos kodas



Laikyti tamsoje



Biologinė rizika



Yra pakankamai $<n>$ tyrimų



Katalogo numeris



Temperatūros ribojimas



Žiūrėti naudojimo instrukcijas



Tyrimo nustatymų laikmena



Rinkinio sudėtis



Priskirtos skalės viršutinė riba



Platintojas



Galiojimo laikas



Skirta tik IVD našumui įvertinti



Visuotinis prekės numeris

Rx Only

Taikytina tik JAV: pagal
federalinius įstatymus šį prietaisą
galima parduoti tik gydytojui arba
gydytojo nurodymu.



Pagaminimo data



CE atitikties ženklavimas; ši priemonė atitinka *in vitro* diagnostikos
medicinos priemonės CE ženklavimo reikalavimus

JAV klientų techninės pagalbos tarnyba 1-800-526-1247

Gamintojas ir platintojai

26 lentelė. Gamintojas ir platintojai



Pagaminta JAV

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



Pagaminta JAV

Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

Roche Diagnostics
9115 Hague Road
Indianapolis, IN 46250-0457 USA
(For Technical Assistance call the
Roche Response Center
toll-free: 1-800-526-1247)

Prekių ženklai ir patentai

Šis produktas saugomas pagal vieną arba kelis JAV patentus nr. 8962293, 9102924, 8609340, 9234250, 8097717, 8192958, 10059993, 10358675, 8129118 ir 6727067 ir kiekvieną jų atitinkančius patentus užsienyje.

COBAS, COBAS OMNI, AMPERASE, AMPLIPREP ir TAQMAN yra Roche prekių ženklai.

Prekių ženklas Armored RNA® priklauso Asuragen, Inc. ir Cenetron Diagnostics, Ltd.

ProClin® yra registruotasis Rohm and Haas Company prekės ženklas.

Vacutainer® yra registruotasis Becton Dickinson & Company prekės ženklas.

Visų kitų produktų pavadinimai ir prekių ženklai yra jų atitinkamų savininkų nuosavybė.

AmpErase® fermento perkėlimo apsaugos technologija saugoma JAV patento nr. 7,687,247, išduoto Invitrogen Corporation, o Roche Molecular Systems, Inc. turi šios technologijos licenciją.

Žr. <http://www.roche-diagnostics.us/patents>

Autorių teisės

©2020 Roche Molecular Systems, Inc.



Šaltinių sąrašas

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. But 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. Sorrell MF, Belongia EA, Costa J, et al. National Institutes of Health consensus development conference statement: management of hepatitis B. *Ann Intern Med.* 2009;49:S4-S10.
12. Higuchi R, Dollinger G, Walsh PS, Griffith R. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Biotechnology (NY).* 1992;10:413-417.
13. Heid CA, Stevens J, Livak JK, Williams PM. Real time quantitative PCR. *Genome Res.* 1996;6:986-994.
14. 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.
15. 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.
16. 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.
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.

Dokumento leidimas

Dokumento leidimo informacija	
Doc Rev.5.0 12/2020	Pirmame puslapyje pridėtas Rx Only ženklas. Atnaujinti įspėjimai dėl pavojaus. Atnaujintas suderintų ženklų puslapis. Atnaujinti platintojų adresai. Atnaujintas prekių ženklų ir patentų skyrius. Įtrauktas sakinytis apie pagaminimo vietą. Jei turite klausimų, kreipkitės į vietinį Roche atstovą.