

cobas[®] HBV

Teste quantitativo de ácidos nucleicos para utilização nos sistemas cobas[®] 5800/6800/8800

Para diagnóstico *in vitro*

cobas[®] HBV

P/N: 09040820190

Para utilização no sistema cobas[®] 5800

cobas[®] HBV/HCV/HIV-1 Control Kit

P/N: 09040773190

cobas[®] NHP Negative Control Kit

P/N: 09051554190

Para utilização nos sistemas cobas[®] 6800/8800

cobas[®] HBV/HCV/HIV-1 Control Kit

P/N: 06997767190 ou

P/N: 09040773190

cobas[®] NHP Negative Control Kit

P/N: 07002220190 ou

P/N: 09051554190

Índice

Utilização prevista	4
Resumo e explicação do teste	4
Reagentes e materiais	7
Reagentes e controlos do cobas ® HBV	7
Reagentes cobas ® omni para preparação da amostra	10
Requisitos de armazenamento de reagentes	11
Materiais adicionais necessários para sistemas cobas ® 5800/6800/8800	12
Equipamentos e software necessários	13
Precauções e requisitos de manuseamento	14
Advertências e precauções	14
Manuseamento de reagentes	15
Boas práticas de laboratório	15
Colheita, transporte e armazenamento de amostras	16
Amostras	16
Instruções de utilização	17
Notas do procedimento	17
Execução do cobas ® HBV nos sistemas cobas ® 5800/6800/8800	17
Resultados	20
Controlo de qualidade e validade dos resultados no sistema cobas ® 5800 e nos sistemas cobas ® 6800/8800 com versão de software 2.0 ou superior	20
Controlo de qualidade e validade dos resultados na versão do software 1.4 dos sistemas cobas ® 6800/8800	21
Sinalizadores de controlo nos sistemas cobas ® 6800/8800 com versão do software 1.4	21
Interpretação de resultados para sistemas cobas ® 5800/6800/8800	22
Interpretação de resultados no sistema cobas ® 5800 e nos sistemas cobas ® 6800/8800 com versão do software 2.0 ou superior	22
Interpretação de resultados nos sistemas cobas ® 6800/8800 com versão do software 1.4	23
Limitações do procedimento	23

Avaliação do desempenho não clínico	24
Equivalência dos sistemas	24
Características principais do desempenho.....	24
Limite de deteção (LoD)	24
Intervalo linear	26
Precisão – intralaboratorial	28
Determinação e verificação de genótipo.....	31
Especificidade.....	34
Correlação de métodos	36
Equivalência de matrizes – Plasma EDTA e soro.....	37
Falha global do sistema	37
Contaminação cruzada	38
Avaliação do desempenho clínico	39
Estudo de reprodutibilidade	39
Variabilidade de lote para lote	39
Reprodutibilidade.....	41
Utilidade clínica.....	43
Previsão da resposta à terapia antiviral.....	45
Conclusão	49
Informações adicionais	50
Características principais do teste	50
Símbolos	51
Apoio técnico	52
Fabricante e importador	52
Marcas comerciais e patentes.....	52
Direitos de autor	52
Bibliografia	53
Revisão do documento	55

Utilização prevista

cobas® HBV

O cobas® HBV é um teste *in vitro* de amplificação de ácidos nucleicos para a quantificação do ADN do vírus da hepatite B (HBV) em plasma EDTA ou soro de indivíduos infetados com HBV.

Este teste destina-se a ser utilizado como auxiliar no controlo de doentes com infeção crónica pelo HBV que estejam a ser sujeitos a terapia anti-viral. O teste pode ser utilizado para medir os níveis de ADN do HBV na linha de base e durante o tratamento para auxiliar na avaliação da resposta ao tratamento. Os resultados do cobas® HBV devem ser interpretados no contexto de todos os resultados clínicos e laboratoriais relevantes.

cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit

O cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit destina-se à utilização como um controlo de corrida positivo/batch nos sistemas cobas® 5800/6800/8800 com os testes cobas® HBV, cobas® HCV, e cobas® HIV-1.

Resumo e explicação do teste

Fundamentos

O HBV é um de vários vírus conhecidos como causadores de hepatite viral. Mais de 2 mil milhões de pessoas em todo o mundo foram infetadas pelo HBV e mais de 350 milhões destes casos são portadores cronicamente infetados.¹ O HBV é uma das causas principais de doenças do fígado nos Estados Unidos da América (EUA), apesar de se registar uma menor incidência de infeção aguda associada à vacinação e às precauções universais na utilização de agulhas.² Estima-se que a prevalência geral da infeção por HBV nos EUA se encontre entre os 0,3% e os 0,5%, sendo 47% a 70% dos casos atribuídos a pessoas nascidas fora dos EUA.² No entanto, programas de rastreio direcionados indicaram um aumento de 15% das taxas de prevalência em determinadas populações imigrantes de elevado risco.³ Os pacientes com infeções crónicas por HBV correm um elevado risco de complicações decorrentes da infeção a longo prazo, incluindo hepatite crónica, cirrose e carcinoma hepatocelular.⁴⁻⁷ Marcadores serológicos são geralmente utilizados como indicadores de diagnóstico e/ou prognóstico de infeções pelo HBV crónicas ou agudas.⁸ Os centros de controlo e prevenção de doença (Centers for Disease Control and Prevention) nos EUA alargaram as suas recomendações para rastreios de rotina para indivíduos de alto risco, incluindo agora rastreios em populações nas quais a prevalência do antígeno de superfície HBV (HBsAg) é superior a 2%, abrangendo pessoas de regiões endémicas do mundo (tal como a Ásia e África), homens que têm relações sexuais com outros homens e utilizadores de drogas injetáveis.²

O marcador mais comum da infeção por HBV é a presença do HBsAg.⁸ Embora os portadores possam eliminar o HBsAg e desenvolver um anticorpo para o HBsAg, parece contudo existir um risco de desenvolvimento de complicações hepáticas graves a longo prazo.^{9,10} O antígeno HBe (HBeAg) é normalmente utilizado como marcador secundário para indicação da replicação de HBV ativa associada a doença hepática progressiva. A não eliminação do HBeAg parece aumentar o risco de doenças hepáticas em fase final.^{9,10} As estirpes variantes de mutantes pré-core de HBV podem perder a capacidade de produzir HBeAg mesmo quando uma infeção ativa está presente, limitando a utilização deste marcador para monitorizar a progressão da doença.⁷

Fundamentos dos testes HBV

O ADN do HBV em plasma EDTA e soro pode ser quantificado por tecnologias de amplificação de ácidos nucleicos, tal como PCR.¹¹⁻¹⁴ Várias diretrizes chave recomendam a utilização da metodologia de PCR em tempo real para a quantificação do ADN do HBV principalmente devido a uma maior sensibilidade e um intervalo linear mais amplo.^{15, 16}

Explicação do teste

O cobas® HBV é um teste quantitativo que é executado no sistema cobas® 5800, no sistema cobas® 6800 ou no sistema cobas® 8800. O cobas® HBV permite a deteção e quantificação do ADN do HBV em plasma EDTA ou soro de pacientes infetados para utilização em laboratórios que suportem ensaios clínicos bem como prática médica de rotina na gestão de pacientes com HBV. É utilizada uma sonda única para detetar e quantificar, mas não para discriminar o genótipo A-H. A carga viral é quantificada em relação a um padrão de quantificação de ADN não HBV (DNA-QS), que é introduzido em cada amostra durante a preparação da amostra. O DNA-QS funciona também para monitorizar toda a preparação de amostras e o processo de amplificação por PCR. Adicionalmente, o teste utiliza três controlos externos: um positivo de título elevado, um positivo de título baixo e um controlo negativo. Os controlos externos positivo alto e positivo baixo são fabricados por diluição a partir de material de stock com um título em conformidade com o 2º padrão internacional da OMS para o HBV. Cada lote de kit de amplificação/deteção é calibrado em conformidade com o 2º padrão internacional da OMS para o HBV (código NIBSC 97/750).

Princípios do procedimento

O cobas® HBV baseia-se na preparação de amostras totalmente automática (extração e purificação dos ácidos nucleicos) seguida de amplificação por PCR e deteção. O sistema cobas® 5800 é concebido como um equipamento integrado. Os sistemas cobas® 6800/8800 são constituídos pelo módulo de abastecimento de amostras, o módulo de transferência, o módulo de processamento e o módulo analítico. A gestão automática de dados é desempenhada pelos softwares do sistema cobas® 5800 ou dos sistemas cobas® 6800/8800, que atribui resultados a todos os testes. As diferentes possibilidades de resultados são alvo não detetado, < LLoQ (limite inferior de quantificação), > ULoQ (limite superior de quantificação) ou ADN do HBV detetado, um valor no intervalo linear $LLoQ < x < ULoQ$. Os resultados podem ser revistos diretamente no ecrã do sistema e podem ser exportados e impressos como um relatório.

Os ácidos nucleicos de amostras de pacientes, de controlos externos e de moléculas adicionadas de ADN lambda (DNA-QS) são extraídos simultaneamente.

O ácido nucleico viral é libertado ao adicionar proteínase e reagente de lise à amostra. Os ácidos nucleicos libertados ligam-se à superfície de sílica das partículas de vidro magnéticas adicionadas. As substâncias não ligadas e impurezas, tais como proteínas desnaturadas, detritos celulares e potenciais inibidores da PCR, são removidas com os posteriores passos com reagente de lavagem, e os ácidos nucleicos purificados são eluídos das partículas de vidro magnéticas com tampão de eluição a alta temperatura.

A amplificação seletiva dos ácidos nucleicos alvo da amostra é conseguida através da utilização de primers senso e anti-senso específicos do vírus-alvo que são selecionados de regiões pré-core e core altamente conservadas do HBV. A amplificação seletiva de DNA-QS é conseguida através da utilização de primers senso e anti-senso específicos da sequência-alvo que são selecionados para que não tenham qualquer homologia com o genoma do HBV. É utilizada uma enzima de polimerase do ADN termoestável para a amplificação. A mistura principal inclui trifosfato de desoxiuridina (dUTP), em vez de trifosfato de desoxitimidina (dTTP), que é incorporado no ADN acabado de sintetizar (amplificação).^{14, 17, 18} Quaisquer amplicons contaminantes de corridas de PCR anteriores são eliminados pela enzima

AmpErase, que está incluída na mistura de PCR durante o primeiro passo do ciclo térmico. No entanto, os amplicons acabados de formar não são eliminados, uma vez que a enzima AmpErase fica inativa quando exposta a temperaturas acima dos 55 °C.

A mistura principal do **cobas**® HBV contém sondas de detecção que são específicas para sequências alvo do HBV e dos ácidos nucleicos QS, respetivamente. As sondas de detecção específicas do HBV e do DNA-QS estão marcadas com um de dois corantes fluorescentes únicos, que atua como um reporter. Cada sonda tem também um segundo corante, que atua como um supressor. Os dois corantes reporter são medidos a comprimentos de onda definidos, permitindo assim a detecção e discriminação simultânea do alvo amplificado do HBV e do DNA-QS.^{12, 13} Quando não ligado à sequência alvo, o sinal fluorescente da sonda intacta é suprimido pelo corante supressor. Durante o passo de amplificação por PCR, a hibridização das sondas com o ADN alvo específico, em cadeia simples resulta na sua clivagem pela atividade exonuclease 5' a 3' da polimerase do ADN, originando a separação dos corantes de sinalização e de supressão e a geração de um sinal fluorescente. Em cada ciclo da PCR, são geradas quantidades crescentes de sondas clivadas e o sinal cumulativo do corante reporter aumenta concomitantemente. Uma vez que os dois corantes reporter específicos são medidos a comprimentos de onda definidos, é possível a detecção e discriminação simultânea do alvo amplificado do HBV e do DNA-QS.

Reagentes e materiais

Reagentes e controlos do cobas® HBV

Os materiais fornecidos para o cobas® HBV encontram-se na Tabela 1. Os materiais necessários, mas não fornecidos, encontram-se na Tabela 2, Tabela 3, Tabela 4, Tabela 9 até à Tabela 11.

Todos os reagentes e controlos não abertos devem ser armazenados conforme recomendado na Tabela 1 até à Tabela 4.

Tabela 1 cobas® HBV

cobas® HBV

Conservar entre 2 e 8 °C

Cassete de 192 testes (P/N 09040820190)

Componentes do kit	Ingredientes dos reagentes	Quantidade por kit 192 testes
Solução de proteinase (PASE)	Tampão Tris, < 0,05% de EDTA, cloreto de cálcio, acetato de cálcio, 8% de proteinase EUH210: Folhas de dados de segurança fornecida a pedido. EUH208: Pode desencadear uma reação alérgica. Contém: subtilisina, 9014-01-1	22,3 ml
Padrão de quantificação de ADN (DNA-QS)	Tampão Tris, < 0,05% EDTA, < 0,001% estrutura de ADN não HBV contendo uma região de ligação de primer não HBV e uma região de sonda única (ADN não infeccioso), 0,002% de ARN de Poli rA (sintético), < 0,1% de azida de sódio	21,2 ml
Tampão de Eluição (EB)	Tampão Tris, 0,2% de 4-hidroxibenzoato de metilo	21,2 ml
Reagente 1 da Mistura Principal (MMX-R1)	Acetato de manganês, hidróxido de potássio, < 0,1% de azida de sódio	7,5 ml
Reagente 2 da Mistura Principal de HBV (HBV MMX-R2)	Tampão de tricina, acetato de potássio, 18% de sulfóxido de dimetilo, glicerol, < 0,1% de Tween 20, EDTA, < 0,12% de dATP, dCTP, dGTP, dUTP, < 0,01% de primers senso e anti-senso do HBV, < 0,01% primers senso e anti-senso do padrão de quantificação, < 0,01% de sondas de oligonucleótido marcadas com fluorescência específicas do HBV e do padrão de quantificação do HBV, < 0,01% aptâmero oligonucleotídico, < 0,01% de polimerase do ADN Z05D, < 0,10% de enzima AmpErase (uracil-N-glicosilase) (de origem microbiana), < 0,1% de azida de sódio	9,7 ml

Tabela 2 cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit**cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit**

Conservar entre 2 e 8 °C

Para utilização no sistema cobas® 5800 e nos sistemas cobas® 6800/8800 com a versão de software 2.0 ou superior (P/N 09040773190)

Para utilização nos sistemas cobas® 6800/8800 com a versão do software 1.4 (P/N 06997767190 e P/N 09040773190)

Componentes do kit	Ingredientes dos reagentes	Quantidade por kit	Símbolo e advertência de segurança*
Controlo positivo baixo de HBV/HCV/HIV-1 (HBV/HCV/HIV-1 L(+))C)	< 0,001% de armored ARN do HIV-1 grupo M, encapsulado na proteína do envelope de bacteriófago MS2, < 0,001% de ADN (de plasmídeo) sintético do HBV, encapsulado na proteína do envelope de bacteriófago Lambda, < 0,001% de (armored) ARN sintético do HCV, encapsulado na proteína do envelope de bacteriófago MS2, plasma humano normal, não-reativo em testes aprovados para anticorpos do HCV, anticorpos do HIV-1/2, HBsAg, anticorpos do HBc; ARN do HIV-1, ARN do HIV-2, ARN do HCV e ADN do HBV não detetáveis por métodos de PCR < 0,1% de conservante ProClin® 300**	5,2 ml (8 × 0,65 ml)	  ADVERTÊNCIA H317: Pode provocar uma reação alérgica cutânea. H412: Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros. P261: Evitar respirar as névoas ou vapores. P273: Evitar a libertação para o ambiente. P280: Usar luvas de proteção. P333 + P313: Em caso de irritação ou erupção cutânea: consulte um médico. P362 + P364: Retirar a roupa contaminada e lavá-la antes de a voltar a usar. P501: Eliminar o conteúdo/recipiente numa instalação de eliminação de resíduos aprovada. 55965-84-9 Massa de reação de 5-cloro-2-metil-2H-isotiazol-3-ona e 2-metil-2H-isotiazol-3-ona (3:1)
Controlo positivo alto de HBV/HCV/HIV-1 (HBV/HCV/HIV-1 H(+))C)	< 0,001% de (armored) ARN sintético de título elevado do HIV-1 grupo M, encapsulado na proteína do envelope de bacteriófago MS2, < 0,001% de ADN (de plasmídeo) sintético do HBV, encapsulado na proteína do envelope de bacteriófago Lambda, < 0,001% de (armored) ARN sintético do HCV, encapsulado na proteína do envelope de bacteriófago MS2, plasma humano normal, não-reativo por testes aprovados para anticorpos do HCV, anticorpos do HIV-1/2, HBsAg, anticorpos do HBc; ARN do HIV-1, ARN do HIV-2, ARN do HCV e ADN do HBV não detetáveis por métodos de PCR < 0,1% de conservante ProClin® 300**	5,2 ml (8 × 0,65 ml)	  ADVERTÊNCIA H317: Pode provocar uma reação alérgica cutânea. H412: Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros. P261: Evitar respirar as névoas ou vapores. P273: Evitar a libertação para o ambiente. P280: Usar luvas de proteção. P333 + P313: Em caso de irritação ou erupção cutânea: consulte um médico. P362 + P364: Retirar a roupa contaminada e lavá-la antes de a voltar a usar. P501: Eliminar o conteúdo/recipiente numa instalação de eliminação de resíduos aprovada. 55965-84-9 Massa de reação de 5-cloro-2-metil-2H-isotiazol-3-ona e 2-metil-2H-isotiazol-3-ona (3:1)

* A rotulagem relativa à segurança de produtos baseia-se essencialmente na diretiva GHS da UE

** Substância perigosa

Tabela 3 cobas® NHP Negative Control Kit**cobas® NHP Negative Control Kit**

Conservar entre 2 e 8 °C

Para utilização no sistema cobas® 5800 e nos sistemas cobas® 6800/8800 com a versão de software 2.0 ou superior (P/N 09051554190)

Para utilização nos sistemas cobas® 6800/8800 com a versão do software 1.4 (P/N 07002220190 e P/N 09051554190)

Componentes do kit	Ingredientes dos reagentes	Quantidade por kit	Símbolo e advertência de segurança*
Controlo negativo de plasma humano normal (NHP-NC)	Plasma humano normal, não-reativo em testes aprovados para anticorpos do HCV, anticorpos do HIV-1/2, HBsAg, anticorpos do HBe; ARN do HIV-1, ARN do HIV-2, ARN do HCV e ADN do HBV não detetável por métodos de PCR 0,1% de conservante ProClin® 300**	16 ml (16 × 1 ml)	 <p>ADVERTÊNCIA</p> <p>H317: Pode provocar uma reação alérgica cutânea. P261: Evitar respirar as poeiras/fumos/gases/névoas/vapores/aerossóis. P272: A roupa de trabalho contaminada não pode sair do local de trabalho. P280: Usar luvas de proteção. P333 + P313: Em caso de irritação ou erupção cutânea: consulte um médico. P362 + P364: Retirar a roupa contaminada e lavá-la antes de a voltar a usar. P501: Eliminar o conteúdo/recipiente numa instalação de eliminação de resíduos aprovada.</p> <p>55965-84-9 Massa de reação de: 5-cloro-2-metil-4-isotiazolina-3-ona [n.º EC 247-500-7] e 2-metil-2H-isotiazol-3-ona [n.º EC 220-239-6] (3:1)</p>

* A rotulagem relativa à segurança de produtos baseia-se essencialmente na diretiva GHS da UE

** Substância perigosa

Reagentes cobas® omni para preparação da amostra

Tabela 4 Reagente para preparação da amostra cobas® omni

Reagentes	Ingredientes dos reagentes	Quantidade e por kit	Símbolo e advertência de segurança*
cobas® omni MGP Reagent (MGP) Conservar entre 2 e 8 °C (P/N 06997546190)	Partículas de vidro magnéticas, tampão Tris, 0,1% de 4-hidroxibenzoato de metilo, < 0,1% de azida de sódio	480 testes	Não aplicável
cobas® omni Specimen Diluent (SPEC DIL) Conservar entre 2 e 8 °C (P/N 06997511190)	Tampão Tris, 0,1% de 4-hidroxibenzoato de metilo, < 0,1% de azida de sódio	4 × 875 ml	Não aplicável
cobas® omni Lysis Reagent (LYS) Conservar entre 2 e 8 °C (P/N 06997538190)	43% (p/p) de tiocianato de guanidina**, 5% (p/v) de polidocanol**, 2% (p/v) de ditiotretiol**, citrato de sódio dihidratado	4 × 875 ml	 <p>PERIGO</p> <p>H302 + H332: Nocivo por ingestão e por inalação. H314: Provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves. H412: Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros. EUH032: Em contacto com ácidos liberta gases muito tóxicos. P261: Evitar respirar as poeiras/fumos/gases/névoas/vapores/aerossóis. P273: Evitar a libertação para o ambiente. P280: Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial. P303 + P361 + P353: SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE (ou o cabelo): retirar imediatamente toda a roupa contaminada. Enxaguar a pele com água. P304 + P340 + P310: EM CASO DE INALAÇÃO: retirar a pessoa para uma zona ao ar livre e mantê-la numa posição que não dificulte a respiração. Contacte imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS/médico. P305 + P351 + P338 + P310: SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continue a enxaguar. Contacte imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTI-VENENOS/médico. 593-84-0 Tiocianato de guanidina 9002-92-0 Polidocanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimercaptobutano-2,3-diol</p>
cobas® omni Wash Reagent (WASH) Conservar entre 15 e 30 °C (P/N 06997503190)	Citrato de sódio dihidratado, 0,1% de 4-hidroxibenzoato de metilo	4,2 l	Não aplicável

* A rotulagem relativa à segurança de produtos baseia-se essencialmente na diretiva GHS da UE

** Substância perigosa

Requisitos de armazenamento de reagentes

Os reagentes deverão ser armazenados e manuseados conforme especificado na Tabela 5, Tabela 6 e Tabela 7.

Quando os reagentes não estiverem nos sistemas cobas® 5800/6800/8800, armazene-os à temperatura correspondente especificada na Tabela 5.

Tabela 5 Armazenamento de reagentes (quando o reagente não se encontra no sistema)

Reagente	Temperatura de armazenamento
cobas® HBV	2 a 8 °C
cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit	2 a 8 °C
cobas® NHP Negative Control Kit	2 a 8 °C
cobas® omni Lysis Reagent	2 a 8 °C
cobas® omni MGP Reagent	2 a 8 °C
cobas® omni Specimen Diluent	2 a 8 °C
cobas® omni Wash Reagent	15 a 30 °C

Requisitos de manuseamento de reagentes para o sistema cobas® 5800 e os sistemas cobas® 6800/8800

Os reagentes carregados no sistema cobas® 5800 ou nos sistemas cobas® 6800/8800 são armazenados a temperaturas adequadas e as respetivas datas de validade são controladas pelo sistema. O sistema permite que sejam usados reagentes apenas se todas as condições de manuseamento indicadas na Tabela 6, Tabela 7 e Tabela 8 forem satisfeitas. O sistema impede automaticamente a utilização de reagentes expirados. A restante estabilidade do kit aberto e do número de kits usa informações para reagentes específicos para o ensaio está acessível através da interface de utilizador do sistema.

Tabela 6 Condições de manuseamento do reagente monitorizadas e exigidas pelo sistema cobas® 5800

Reagente	Estabilidade do kit aberto	Número de utilizações do kit	Estabilidade a bordo do equipamento
cobas® HBV	90 dias desde a primeira utilização	40	36 dias desde o carregamento
cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit	Frasco de utilização única	8	36 dias desde o carregamento
cobas® NHP Negative Control Kit	Frasco de utilização única	16	36 dias desde o carregamento

Tabela 7 Condições de manuseamento de reagentes exigidas pelos sistemas cobas® 6800/8800

Reagente	Estabilidade do kit aberto	Número de utilizações do kit	Estabilidade a bordo do equipamento (a bordo do equipamento fora do frigorífico)
cobas® HBV	90 dias desde a primeira utilização	40	40 horas desde o carregamento
cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit	Frasco de utilização única	8	8 horas desde o carregamento
cobas® NHP Negative Control Kit	Frasco de utilização única	16	10 horas desde o carregamento

Tabela 8 mostra a estabilidade do kit aberto dos reagentes **cobas® omni**. Antes de cada corrida, o sistema verifica a estabilidade do kit aberto e garante volume de enchimento suficiente. Por isso, estes reagentes não têm número de utilizações do kit nem estabilidade a bordo atribuída.

Tabela 8 Condições de manuseamento do reagente **cobas® omni** monitorizada e exigida pelos sistemas **cobas® 5800/6800/8800**

Reagente	Estabilidade do kit aberto
cobas® omni Lysis Reagent	30 dias desde o carregamento
cobas® omni MGP Reagent	30 dias desde a primeira utilização
cobas® omni Specimen Diluent	30 dias desde o carregamento
cobas® omni Wash Reagent	30 dias desde o carregamento

Materiais adicionais necessários para sistemas **cobas® 5800/6800/8800**

Tabela 9 Materiais para utilização nos sistemas **cobas® 5800/6800/8800**

Material	P/N
cobas® omni Lysis Reagent	06997538190
cobas® omni MGP Reagent	06997546190
cobas® omni Specimen Diluent	06997511190
cobas® omni Wash Reagent	06997503190

Tabela 10 Consumíveis para utilização no sistema **cobas® 5800***

Material
cobas® omni Processing Plate 24
cobas® omni Liquid Waste Plate 24
cobas® omni Amplification Plate 24
Ponta CORE TIPS com filtro, 1 ml
Ponta CORE TIPS com filtro, 300 µl
cobas® omni Liquid Waste Container
Saco de resíduos sólidos ou saco de resíduos sólidos com inserto
Suporte S de tubos de 16 posições completo
Suporte de racks de 5 posições

* Para números de peças, consulte a Assistência ao utilizador do sistema **cobas® 5800**

Tabela 11 Consumíveis para utilização nos sistemas **cobas® 6800/8800***

Material
cobas® omni Processing Plate
cobas® omni Amplification Plate
cobas® omni Pipette Tips
cobas® omni Liquid Waste Container
Saco de resíduos sólidos e reservatório de resíduos sólidos ou saco de resíduos sólidos com inserto e gaveta de kit

* Para números de peças, consulte a Assistência ao utilizador para os sistemas **cobas® 6800/8800**

Equipamentos e software necessários

O software **cobas**® 5800, o software dos sistemas **cobas**® 6800/8800 e o pacote de análise **cobas**® HBV (ASAP) para os sistemas **cobas**® 5800/6800/8800 devem ser instalados.

Para sistemas **cobas**® 5800 e **cobas**® 6800/8800 com versão 2.0 do software ou superior, o software gestor de dados x800 e o PC (ou servidor) serão fornecidos com o sistema.

Para os sistemas **cobas**® 6800/8800 com versão do software 1.4, o servidor Instrument Gateway (IG) será fornecido com o sistema.

Tabela 12 Equipamentos

Equipamento	P/N
Sistema cobas ® 5800	08707464001
Sistema cobas ® 6800	05524245001 e 09575154001
Sistema cobas ® 8800	05412722001 e 09575146001
Módulo de abastecimento de amostras dos sistemas cobas ® 6800/8800	06301037001 e 09936882001

Consulte a Assistência ao utilizador para informações adicionais acerca do sistema **cobas**® 5800 ou dos sistemas **cobas**® 6800/8800.

Nota: contacte o representante local da Roche para uma lista detalhada de racks de amostras, racks para pontas obstruídas e suportes de racks aceites nos equipamentos.

Precauções e requisitos de manuseamento

Advertências e precauções

À semelhança do que sucede com qualquer procedimento de teste, boas práticas de laboratório são essenciais para um desempenho adequado deste ensaio. Em virtude da elevada sensibilidade deste teste, deverão ser tomadas as devidas precauções para manter os reagentes e as misturas de amplificação livres de contaminação.

- Apenas para diagnóstico *in vitro*.
- O **cobas**® HBV não foi avaliado quanto à utilização como um teste de rastreio para a presença do HBV no sangue ou em produtos derivados do sangue, nem como um teste de diagnóstico visando confirmar a presença de infeção por HBV.
- Todas as amostras de paciente deverão ser manuseadas como se estivessem infetadas, utilizando boas práticas de laboratório, conforme descrito em Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories e no documento M29-A4 do CLSI.^{19, 20} Este procedimento só deve ser efetuado por pessoal com experiência no manuseamento de material com risco biológico e na utilização do teste **cobas**® HBV e sistema **cobas**® 5800 ou sistemas **cobas**® 6800/8800.
- Todos os materiais de origem humana devem ser considerados potencialmente infecciosos e devem ser manipulados com as precauções universais. Se ocorrer derrame, desinfete imediatamente com uma solução preparada de fresco de hipoclorito de potássio ou de sódio a 0,5% em água destilada ou desionizada ou siga os procedimentos apropriados do laboratório.
- O **cobas**® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit e o **cobas**® NHP Negative Control Kit contêm plasma derivado do sangue humano. O material de origem foi submetido a testes aprovados de anticorpos e considerado como não-reativo para a presença de anticorpos do HCV, anticorpos do HIV-1/2, HBsAg, e anticorpos do HBc. Os testes de plasma humano normal por métodos de PCR não apresentaram quaisquer ARN do HIV-1 (grupos M e O), ARN do HIV-2, ARN do HCV e ADN do HBV detetáveis. Nenhum método de teste conhecido pode oferecer uma garantia completa de que os produtos derivados do sangue humano não transmitirão agentes infecciosos.
- **Não congele sangue total ou quaisquer amostras armazenadas em tubos primários.**
- Para garantir o desempenho ideal do teste, utilize apenas os materiais consumíveis necessários fornecidos ou especificados.
- Estão disponíveis Folhas de Dados de Segurança (FDS) que podem ser solicitadas ao representante local da Roche.
- Para garantir que o teste é executado corretamente, siga rigorosamente os procedimentos e diretrizes fornecidos. Qualquer desvio destes procedimentos e diretrizes poderá afetar o desempenho ideal do teste.
- Poderão ocorrer resultados falsos positivos se, durante o manuseamento e processamento das amostras, o carryover de amostras não for controlado adequadamente.
- Informe as autoridades competentes locais e o fabricante sobre quaisquer incidentes graves que possam ocorrer ao utilizar este ensaio.

Manuseamento de reagentes

- Para evitar carryover de amostras ou controlos, manipule todos os reagentes, controlos e amostras de acordo com as boas práticas de laboratório.
- Inspeccione visualmente todas as cassetes de reagente, diluentes, reagente de lise e reagente de lavagem, antes dos mesmos serem utilizados, para se certificar de que não existem quaisquer sinais de fugas. Se existir algum indício de fuga, não utilize esse material para testes.
- O **cobas® omni** Lysis Reagent contém tiocianato de guanidina, um produto químico potencialmente perigoso. Evite o contacto dos reagentes com a pele, os olhos ou com membranas mucosas. Em caso de contacto, lave imediatamente a zona afetada com água abundante para evitar queimaduras.
- O kit de teste **cobas® HBV**, o **cobas® omni** MGP Reagent e o **cobas® omni** Specimen Diluent contém azida de sódio como conservante. Evite o contacto dos reagentes com a pele, os olhos ou com membranas mucosas. Em caso de contacto, lave imediatamente a zona afetada com água abundante para evitar queimaduras. No caso de derrame destes reagentes, dilua com água antes de passar com um pano para secar.
- Não permita que **cobas® omni** Lysis Reagent, que contém tiocianato de guanidina, entre em contacto com solução de hipoclorito de potássio ou de sódio. Esta mistura pode produzir um gás altamente tóxico.
- Elimine todos os materiais que tenham entrado em contacto com amostras e reagentes, de acordo com regulamentações nacionais, estaduais e locais.

Boas práticas de laboratório

- Não efetue pipetagem com a boca.
- Não coma, não beba nem fume nas áreas de trabalho.
- Use luvas de laboratório, bata de laboratório e proteção ocular quando manusear amostras e reagentes. Para evitar contaminação, as luvas devem ser trocadas entre o manuseamento de amostras e o manuseamento de kits **cobas® HBV** e reagentes **cobas® omni**. Evite contaminar as luvas quando manusear amostras e controlos.
- Lave muito bem as mãos depois de manusear amostras e reagentes do kit, e depois de retirar as luvas.
- Limpe e desinfecte cuidadosamente todas as superfícies de trabalho do laboratório com uma solução preparada de fresco de hipoclorito de potássio ou de sódio a 0,5% em água desionizada ou destilada. Em seguida esfregue a superfície com um pano com etanol a 70%.
- Se ocorrerem derrames no equipamento **cobas® 5800** ou **cobas® 6800/8800**, siga as instruções indicadas na Assistência ao utilizador do sistema **cobas® 5800** ou dos sistemas **cobas® 6800/8800** para limpar e descontaminar a superfície do equipamento de forma adequada.

Colheita, transporte e armazenamento de amostras

Nota: manuseie todas as amostras e controlos tendo em conta a possibilidade de transmitirem agentes infecciosos.

Armazene todas as amostras às temperaturas especificadas.

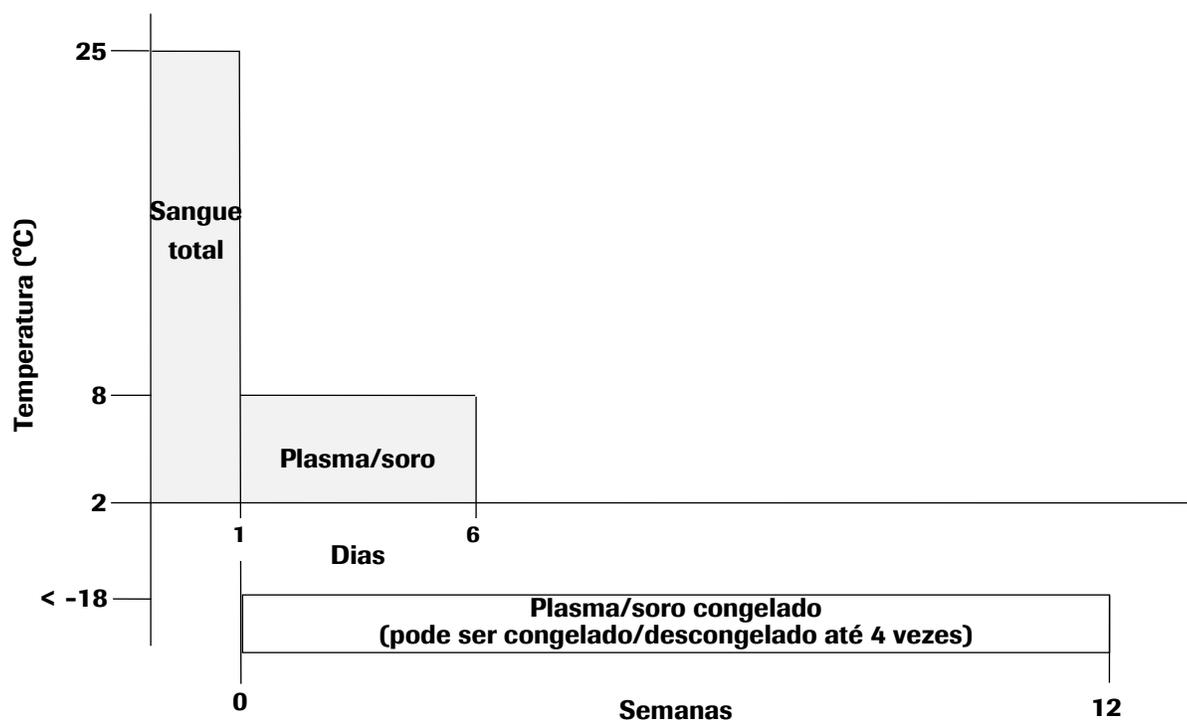
A estabilidade das amostras é afetada por altas temperaturas.

Se utilizar amostras congeladas em tubos secundários, coloque as amostras à temperatura ambiente (entre 15 e 30 °C) até ficarem completamente descongeladas e, em seguida, misture rapidamente (por ex., com agitação forte durante 3 a 5 segundos) e centrifugue para colher todo o volume de amostra no fundo do tubo.

Amostras

- O sangue total deve ser colhido em tubos de separação de soro SST™, em tubos de preparação de plasma para métodos de teste de diagnóstico molecular BD Vacutainer® PPT™ ou em tubos esterilizados que utilizem EDTA como anticoagulante. Siga as instruções do fabricante dos tubos de amostra. Consulte a Figura 1.
- O sangue total colhido em tubos de separação de soro SST™, em tubos de preparação de plasma para métodos de teste de diagnóstico molecular BD Vacutainer® PPT™ ou em tubos esterilizados que utilizem EDTA como anti-coagulante, pode ser armazenado e/ou transportado durante até 24 horas a entre 2 °C e 25 °C antes da preparação do plasma/soro. A centrifugação deve ser desempenhada de acordo com as instruções do fabricante.
- Após a separação, as amostras de plasma/soro podem ser armazenadas em tubos secundários durante 6 dias entre os 2 °C e os 8 °C ou até 12 semanas a ≤ -18 °C.
- No caso de armazenamento de longo prazo até 6 meses, recomenda-se uma temperatura de ≤ -60 °C.
- As amostras de plasma/soro são estáveis até quatro ciclos de congelamento/descongelamento a ≤ -18 °C.

Figura 1 Condições de armazenamento de amostras



- Caso seja necessário expedir amostras, estas devem ser embaladas e rotuladas em conformidade com os regulamentos locais e/ou internacionais aplicáveis ao transporte de amostras e agentes etiológicos.

Instruções de utilização

Notas do procedimento

- Não utilize reagentes do teste **cobas**® HBV, do **cobas**® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit, do **cobas**® NHP Negative Control Kit ou do **cobas**® **omni** depois de expirados os respetivos prazos de validade.
- Não reutilize consumíveis. Os consumíveis são para uma única utilização.
- É possível executar o **cobas**® HBV com dois volumes mínimos de amostra: 350 µl (para o fluxo de trabalho de amostras de 200 µl) e 650 µl (para o fluxo de trabalho de amostras de 500 µl). A Figura 2 e a Figura 3 abaixo resumem o procedimento de teste.

Execução do **cobas**® HBV nos sistemas **cobas**® 5800/6800/8800

- A operação dos equipamentos está descrita ao pormenor na Assistência ao utilizador do sistema **cobas**® 5800 ou dos sistemas **cobas**® 6800/8800.
- Para a manutenção adequada do equipamento, consulte a Assistência ao utilizador do sistema **cobas**® 5800 ou dos sistemas **cobas**® 6800/8800.
- Certifique-se de que as etiquetas de código de barras dos tubos de amostra estão visíveis através das aberturas laterais das racks de amostras MPA ou RD5. Para as especificações corretas dos códigos de barras e informações adicionais sobre o carregamento de tubos de amostra, consulte a Assistência ao utilizador do sistema **cobas**® 5800 ou dos sistemas **cobas**® 6800/8800.

Figura 2 Procedimento do teste cobas® HBV no sistema cobas® 5800

1	Iniciar sessão no sistema
2	Carregar amostras no sistema: <ul style="list-style-type: none">• Carregar racks de amostras no sistema• O sistema prepara automaticamente• Pedir testes
3	Reabastecer reagentes e consumíveis conforme pedido pelo sistema: <ul style="list-style-type: none">• Carregar a(s) cassete(s) de reagente específica(s) do teste• Carregar mini racks de controlo• Carregar pontas de processamento• Carregar pontas de eluição• Carregar placas de processamento• Carregar placas de resíduos líquidos• Carregar placas de amplificação• Carregar cassete com MGP• Reabastecer diluente de amostras• Reabastecer reagente de lise• Reabastecer reagente de lavagem
4	Inicie a corrida premindo o botão de iniciar processamento na interface de utilizador; todas as corridas subsequentes iniciarão automaticamente se não forem adiadas manualmente
5	Rever e exportar os resultados
6	Retirar e colocar a tampa nos tubos de amostra que cumprem os requisitos mínimos de volume se necessário para utilização futura Limpar o equipamento: <ul style="list-style-type: none">• Descarregar mini racks de controlo vazias• Descarregar a(s) cassete(s) de reagente específica(s) do teste• Esvaziar gaveta de placas de amplificação já utilizadas• Esvaziar o reservatório de resíduos líquidos• Esvaziar o reservatório de resíduos sólidos

Figura 3 Procedimento do teste cobas® HBV nos sistemas cobas® 6800/8800

1	Iniciar sessão no sistema Premir “Iniciar” para preparar o sistema Pedir testes
2	Reabastecer reagentes e consumíveis conforme pedido pelo sistema: <ul style="list-style-type: none">• Carregar a cassete de reagente específica do teste• Carregar cassetes de controlo• Carregar pontas de pipetagem• Carregar placas de processamento• Carregar reagente MGP• Carregar placas de amplificação• Reabastecer diluente de amostras• Reabastecer reagente de lise• Reabastecer reagente de lavagem
3	Carregar amostras no sistema: <ul style="list-style-type: none">• Carregar racks de amostras e racks para pontas obstruídas no módulo de abastecimento de amostras• Confirmar que as amostras foram aceites no módulo de transferência
4	Iniciar a execução, seleccionando o botão “Iniciar manualmente” na interface de utilizador ou fazer com que se inicie automaticamente após 120 minutos ou se o batch estiver cheio
5	Rever e exportar os resultados
6	Retirar e colocar a tampa nos tubos de amostra que cumprem os requisitos mínimos de volume se necessário para utilização futura Limpar o equipamento: <ul style="list-style-type: none">• Descarregar cassetes de controlo vazias• Esvaziar gaveta de placas de amplificação já utilizadas• Esvaziar o reservatório de resíduos líquidos• Esvaziar o reservatório de resíduos sólidos

Resultados

O sistema **cobas**® 5800 e os sistemas **cobas**® 6800/8800 determinam automaticamente a concentração de ADN do HBV das amostras e dos controlos. A concentração de ADN do HBV é indicada em Unidades Internacionais por mililitro (UI/ml).

Controlo de qualidade e validade dos resultados no sistema **cobas**® 5800 e nos sistemas **cobas**® 6800/8800 com versão de software 2.0 ou superior

- São processados, pelo menos, a cada 72 horas ou com cada novo lote de kit, um controlo negativo **cobas**® NHP Negative Control [(-) C] e dois controlos positivos **cobas**® HBV/HCV/HIV-1 Positive Control, um controlo positivo baixo [HxV L (+) C] e um controlo positivo alto [HxV H (+) C]. Os controlos positivo e/ou negativo podem ser programados mais frequentemente com base nos regulamentos locais e/ou nos procedimentos do laboratório.
- No relatório e/ou no software, verifique se há sinalizadores e respetivos resultados associados para garantir a validade do batch (consulte a Assistência ao utilizador do gestor de dados x800 para uma “Lista de códigos do sinalizador”).
- Os resultados dos controlos são apresentados na aplicação “Controlos” do software.
- Os controlos estão assinalados com um “Válido” na coluna “Resultado do controlo”, se o respetivo alvo do controlo for considerado válido. Os controlos estão assinalados com um “Inválido” na coluna “Resultado de controlo”, se o respetivo alvo do controlo for considerado inválido.
- Os controlos assinalados com um “Inválido” apresentam um sinalizador na coluna “Sinalizadores”. Na vista de detalhes, são apresentadas mais informações sobre o motivo pelo qual o controlo é mostrado como inválido, incluindo informações sobre o sinalizador.
- Se um dos controlos for inválido, é necessário repetir todos os controlos e todas as amostras associadas ao teste.

A validação de resultados é efetuada automaticamente pelo software do equipamento com base nos resultados do controlo.

NOTA: o sistema **cobas**® 5800 e os sistemas **cobas**® 6800/8800 são fornecidos com a versão do software 2.0 ou superior com a predefinição de executar um conjunto de controlos (positivo e negativo) com cada corrida, mas pode ser configurado para uma programação menos frequente para até cada 72 horas com base nos regulamentos locais e/ou nos procedimentos do laboratório. Para mais informações, contacte o seu técnico de assistência Roche e/ou o serviço de apoio ao cliente da Roche.

Controlo de qualidade e validade dos resultados na versão do software 1.4 dos sistemas cobas® 6800/8800

- Com cada batch, são processados um controlo negativo cobas® NHP Negative Control [(-) C] e dois controlos positivos cobas® HBV/HCV/HIV-1 Positive Control: um controlo positivo baixo [HxV L (+) C] e um controlo positivo alto [HxV H (+) C].
- No relatório e/ou no software, verifique os sinalizadores e os respetivos resultados associados para se certificar da validade do batch.
- Todos os sinalizadores são descritos na Assistência ao utilizador dos sistemas cobas® 6800/8800.
- O batch é válido se não aparecer nenhum sinalizadores para nenhum dos controlos. Se o batch for inválido, é necessário repetir os testes de todo o batch.

A validação de resultados é efetuada automaticamente pelo software do equipamento com base nos resultados do controlo.

Sinalizadores de controlo nos sistemas cobas® 6800/8800 com versão do software 1.4

Tabela 13 Alarmes de controlos negativos e positivos

Controlo negativo	Sinalizador	Resultado	Interpretação
(-) C	Q02 (Batch de controlo, falhou)	Invalid	Um resultado inválido ou o resultado de titulação calculado do controlo negativo não é negativo.
Controlo positivo	Sinalizador	Resultado	Interpretação
HxV L (+) C	Q02 (Batch de controlo, falhou)	Invalid	Um resultado inválido ou o resultado de titulação calculado do controlo positivo baixo não está dentro do intervalo atribuído.
HxV H (+) C	Q02 (Batch de controlo, falhou)	Invalid	Um resultado inválido ou o resultado de titulação calculado do controlo positivo alto não está dentro do intervalo atribuído.

Interpretação de resultados para sistemas cobas® 5800/6800/8800

Para um batch de controlo válido, verifique todas as amostras individuais relativamente a alarmes nos relatórios e/ou no software do sistema cobas® 5800 e dos sistemas cobas® 6800/8800. A interpretação do resultado deverá ser como se segue:

- Um batch válido pode incluir resultados de amostra válidos e inválidos.

Tabela 14 Interpretação dos resultados de amostras

Resultados	Interpretação
Target Not Detected	ADN do HBV não detetado. Reportar resultados como “HBV não detetado”.
< Titer Min	O título calculado está abaixo do limite inferior de quantificação (LLOQ) do ensaio. Reportar resultados como “HBV detetado, inferior a (título mín.)”. Título mín. = 10 UI/ml (500 µl) Título mín. = 25 UI/ml (200 µl)
Título	O título calculado está dentro do intervalo linear do ensaio – superior ou igual ao título mín. e inferior ou igual ao título máx. Reportar resultados como “(Título) de HBV detetado”.
> Titer Max ^a	O título calculado está acima do limite superior de quantificação (ULOQ) do ensaio. Reportar resultados como “HBV detetado, superior a (título máx.)”. Título máx. = 1,00E+09 UI/ml (500 µl e 200 µl)

^a Um resultado de amostra “> Titer Max” refere-se às amostras positivas de HBV detetadas com títulos acima do limite superior de quantificação (ULOQ). Caso seja desejado um resultado quantitativo, a amostra original deve ser diluída com plasma EDTA ou soro negativo para o HCV, em função do tipo da amostra original e o teste deve ser repetido. Multiplique o resultado reportado pelo fator de diluição.

Interpretação de resultados no sistema cobas® 5800 e nos sistemas cobas® 6800/8800 com versão do software 2.0 ou superior

Os resultados das amostras estão indicados na aplicação “Resultados” do software.

Para um batch de controlo válido, verifique todas as amostras individuais relativamente a sinalizadores no software e/ou no relatório. A interpretação do resultado deverá ser como se segue:

- As amostras associadas ao batch de controlo válido são indicados como “Válido” na coluna “Resultado de controlo” se todos os Resultados dos alvos de controlo forem reportados como válidos. As amostras associadas ao batch de controlo falhado são indicados como “Inválido” na coluna “Resultado de controlo” se todos os Resultados dos alvos de controlo forem reportados como inválidos.
- Se os controlos associados a um resultado da amostra forem inválidos, será adicionado um sinalizador específico ao resultado da amostra como se segue:
 - Q05D: falha de validação de resultado, devido a um controlo positivo inválido
 - Q06D: falha de validação de resultado, devido a um controlo negativo inválido
- Os valores na coluna “Resultados” para o resultado do alvo de amostra individual deve ser interpretado como indicado na Tabela 14 acima.
- Se um ou mais alvos de amostra estiverem marcados com “Inválido”, o software indica um sinalizador na coluna “Sinalizadores”. Na vista de detalhes, são apresentadas mais informações sobre o motivo pelo qual o(s) alvos de amostra é(são) mostrado(s) como inválido, incluindo informações sobre o sinalizador.

Interpretação de resultados nos sistemas cobas® 6800/8800 com versão do software 1.4

Para um batch válido, verifique todas as amostras individuais relativamente a sinalizadores no software e/ou no relatório.

A interpretação do resultado deverá ser como se segue:

- As amostras estão assinaladas com “Sim” na coluna “Válido” se todos os resultados dos alvos pedidos indicaram resultados válidos. As amostras assinaladas com “Não” na coluna “Válido” podem necessitar de interpretação e ação adicionais.
- Os valores do resultado do alvo de amostra individual devem ser interpretados como indicado na Tabela 14 acima.

Limitações do procedimento

- O **cobas®** HBV foi avaliado apenas para utilização em combinação com o **cobas®** HBV/HCV/HIV-1 Control Kit, **cobas®** NHP Negative Control Kit, **cobas®** **omni** MGP Reagent, **cobas®** **omni** Lysis Reagent, **cobas®** **omni** Specimen Diluent e **cobas®** **omni** Wash Reagent para utilização nos sistemas **cobas®** 5800/6800/8800.
- A obtenção de resultados fiáveis está dependente de procedimentos corretos de colheita, armazenamento e manuseamento da amostra.
- Este teste foi validado apenas para utilização com plasma EDTA ou soro. Testar outros tipos de amostra pode originar resultados imprecisos.
- A quantificação do ADN do HBV depende do número de partículas virais presentes nas amostras e pode ser afetada pelos métodos de colheita de amostra, por fatores inerentes ao paciente (por ex., a idade, a presença de sintomas) e/ou o estágio da infeção.
- Embora raras, as mutações dentro de regiões altamente conservadas de um genoma viral abrangidas pelo **cobas®** HBV podem afetar a ligação de primers e/ou sonda, resultando na subquantificação do vírus ou na não deteção da presença do vírus.
- Devido a diferenças básicas entre tecnologias, recomenda-se que, antes de mudarem de uma tecnologia para outra, os utilizadores realizem estudos de correlação de métodos nos seus laboratórios, para qualificar as diferenças tecnológicas. Os utilizadores deverão seguir as suas políticas e procedimentos específicos.
- O **cobas®** HBV não se destina à utilização como um teste de rastreio para a presença do HBV no sangue ou em produtos derivados do sangue, nem como um teste de diagnóstico visando confirmar a presença de infeção por HBV.

Avaliação do desempenho não clínico

Equivalência dos sistemas

Foi demonstrada a equivalência dos sistemas **cobas**® 5800, **cobas**® 6800 e **cobas**® 8800 através de estudos de desempenho. Os dados apresentados nas Instruções de utilização, suportam um desempenho equivalente em todos os sistemas.

Características principais do desempenho

Limite de detecção (LoD)

Padrão Internacional da OMS

O limite de detecção do **cobas**® HBV foi determinado através da análise de diluições em série do padrão internacional da OMS para o ADN do vírus da hepatite B relativo a ensaios com tecnologia de amplificação de ácidos nucleicos (2.º padrão internacional da OMS, NIBSC código 97/750) do genótipo A obtido do NIBSC (National Institute for Biological Standards and Control), plasma EDTA humano e soro negativo para o HBV, utilizando volumes de processamento de amostras de 500 µl e 200 µl. Foram testados painéis de oito níveis de concentração e ainda um negativo com volume de processamento de amostras de 500 µl e de nove níveis de concentração com volume de processamento de amostras de 200 µl com três lotes de reagentes de teste **cobas**® HBV, corridas múltiplas, dias, operadores e equipamentos diferentes.

Os resultados do plasma EDTA e do soro obtidos com ambos os volumes de processamento de amostras são exibidos na Tabela 15 à Tabela 18, respetivamente. O estudo demonstra que o **cobas**® HBV detetou ADN do HBV a uma concentração de 3 UI/ml com uma taxa de positividade de $\geq 95\%$ para um volume de processamento de amostras de 500 µl e a uma concentração de 17,5 UI/ml com uma taxa de positividade de $\geq 95\%$ para o volume de processamento de amostras de 200 µl no plasma EDTA. No caso do soro, o estudo demonstra que o **cobas**® HBV detetou ADN do HBV a uma concentração de 3 UI/ml com uma taxa de positividade de $\geq 95\%$ para um volume de processamento de amostras de 500 µl e a uma concentração de 15 UI/ml com uma taxa de positividade de $\geq 95\%$ para o volume de processamento de amostras de 200 µl.

Tabela 15 Limite de detecção em plasma EDTA (500 µl)

Concentração de título de entrada (ADN do HBV UI/ml)	N.º de réplicas válidas	Número de positivos	Taxa de positividade em %
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 por PROBIT com taxa de positividade de 95%	2,7 UI/ml Intervalo de confiança de 95%: 2,4-3,1 UI/ml		

Tabela 16 Limite de detecção em soro (500 µl)

Concentração de título de entrada (ADN do HBV UI/ml)	N.º de réplicas válidas	Número de positivos	Taxa de positividade em %
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 por PROBIT com taxa de positividade de 95%	2,4 UI/ml Intervalo de confiança de 95%: 2,0-2,7 UI/ml		

Tabela 17 Limite de detecção em plasma EDTA (200 µl)

Concentração de título de entrada (ADN do HBV UI/ml)	N.º de réplicas válidas	Número de positivos	Taxa de positividade em %
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 por PROBIT com taxa de positividade de 95%	15,5 UI/ml Intervalo de confiança de 95%: 14,4-16,9 UI/ml		

Tabela 18 Limite de detecção em soro (200 µl)

Concentração de título de entrada (ADN do HBV UI/ml)	N.º de réplicas válidas	Número de positivos	Taxa de positividade em %
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 por PROBIT com taxa de positividade de 95%	12,5 UI/ml Intervalo de confiança de 95%: 11,6-13,8 UI/ml		

Intervalo linear

Foi conduzido um estudo de linearidade do **cobas**® HBV a partir de diluições em série de 15 membros do painel abrangendo o intervalo linear destinado ao genótipo predominante (GT A). Os membros do painel de título elevado foram preparados a partir de um stock de ADN de plasmídeo de HBV de título elevado, ao passo que os membros do painel de título baixo foram preparados a partir de amostra clínica. O painel de linearidade foi concebido para ter uma sobreposição de título de aproximadamente $2 \log_{10}$ entre estes dois materiais de origens diferentes. O intervalo linear estimado do **cobas**® HBV vai de LLoQ (10 UI/ml em volume de processamento de amostras de 500 µl e 25 UI/ml em volume de processamento de amostras de 200 µl) a ULoQ (1,00E+09 UI/ml). O painel de linearidade foi concebido para ir de uma concentração abaixo do LLoQ (por ex., 7,5 UI/ml) a um nível de concentração acima do ULoQ (por ex., 2,0E+09 UI/ml) e para incluir pontos de decisão clínica. Além disso, o painel de linearidade foi concebido para suportar parcialmente passos de $1,0 \log_{10}$ ao longo do intervalo linear. Foi fornecida a concentração nominal em UI/ml e a origem do ADN do HBV para cada membro do painel.

Com volume de processamento de 500 µl, o **cobas**® HBV é linear para plasma EDTA e soro a partir de 10 UI/ml a 1,00E+09 UI/ml e demonstra um desvio absoluto inferior a $\pm 0,2 \log_{10}$ em relação à regressão não linear mais adequada. Ao longo do intervalo linear, a exatidão do teste estava dentro de $\pm 0,24 \log_{10}$.

Com volume de processamento de 200 µl, o **cobas**® HBV é linear para plasma EDTA e soro a partir de 25 UI/ml a 1,00E+09 UI/ml e demonstra um desvio absoluto inferior a $\pm 0,2 \log_{10}$ em relação à regressão não linear mais adequada. Ao longo do intervalo linear, a exatidão do teste estava dentro de $\pm 0,24 \log_{10}$.

Consulte da Figura 4 à Figura 7 para obter resultados representativos.

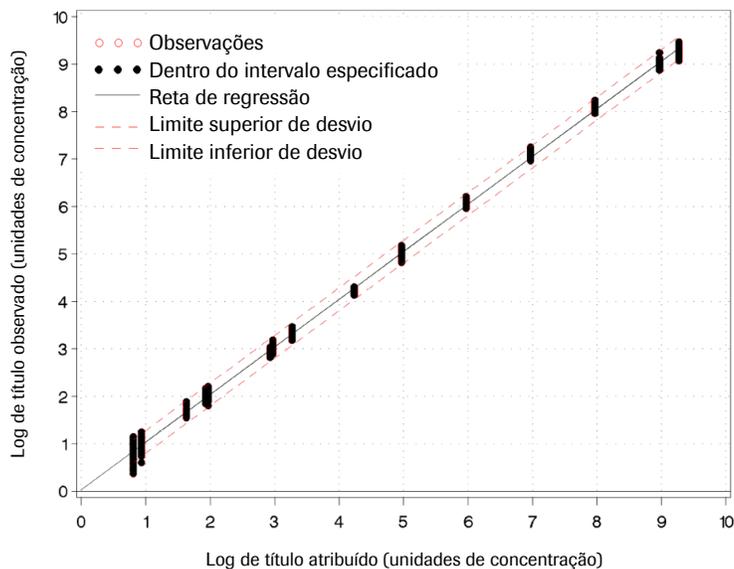
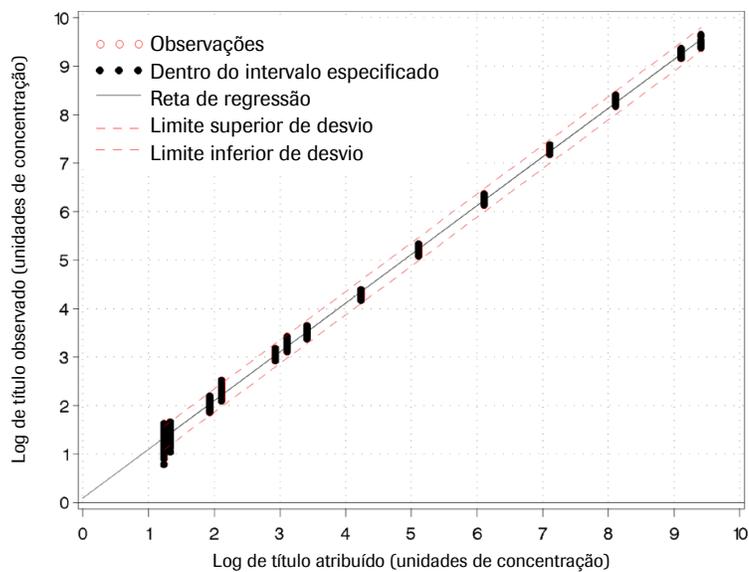
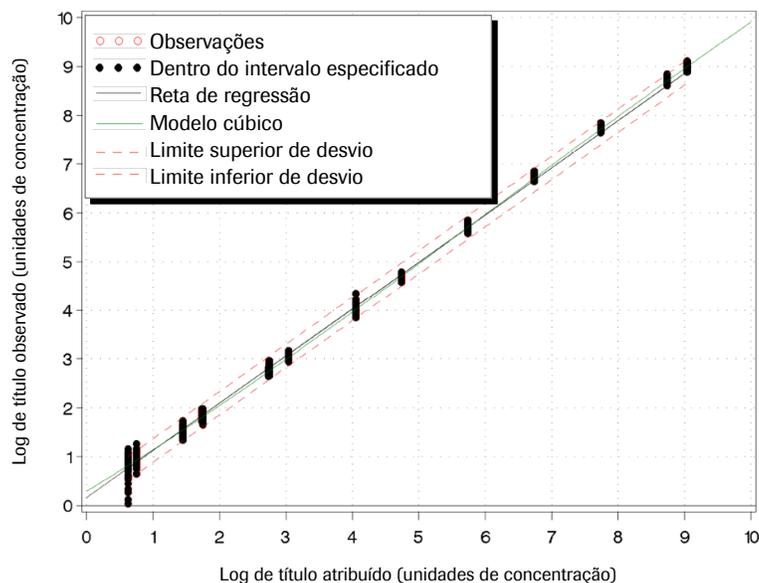
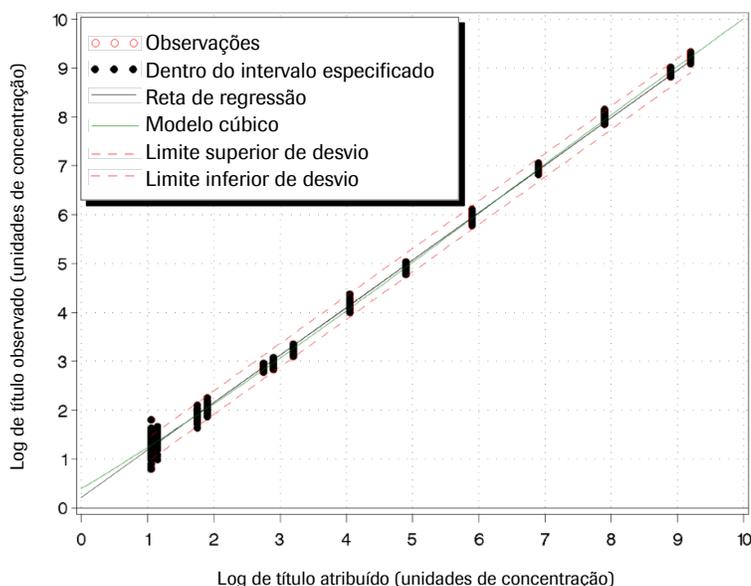
Figura 4 Determinação de intervalo linear em plasma EDTA (500 µl)**Figura 5** Determinação de intervalo linear em plasma EDTA (200 µl)

Figura 6 Determinação de intervalo linear em soro (500 µl)**Figura 7** Determinação de intervalo linear em soro (200 µl)

Precisão – intralaboratorial

A precisão do **cobas**® HBV foi determinada através da análise de série de diluições de amostras clínicas de HBV (genótipo A) (CS) ou de ADN de plasmídeo de HBV em plasma EDTA negativo para o HBV ou em soro. Foram testados 10 a 12 níveis de diluição em 48 réplicas para cada nível e volume de processamento em três lotes de reagentes de teste do **cobas**® HBV utilizando três equipamentos e três operadores num período de 12 dias. Cada amostra foi analisada de forma totalmente automática seguindo todo o procedimento do teste **cobas**® HBV em os sistemas **cobas**® 6800/8800. Por conseguinte, a precisão aqui reportada representa todos os aspetos do procedimento de teste. Os resultados são exibidos da Tabela 19 à Tabela 22.

O cobas® HBV demonstrou alta precisão em três lotes de reagentes testados num intervalo de concentração de 5,00E+01 UI/ml a 1,0E+09 UI/ml com um volume de processamento de amostras de 500 µl e entre 1,00E+02 UI/ml a 1,0E+08 UI/ml (plasma EDTA) e 1,0E+09 UI/ml (soro) com volume de processamento de amostras de 200 µl.

Tabela 19 Precisão intra-laboratório do cobas® HBV (amostras de plasma EDTA – volume de processamento de 500 µl)*

Concentração nominal (UI/ml)	Concentração atribuída (UI/ml)	Material de origem	Plasma EDTA			
			Lote 1	Lote 2	Lote 3	Todos os lotes
			DP	DP	DP	DP em pool
1,00E+09	9,32E+08	ADN de plasmídeo	0,04	0,07	0,09	0,07
1,00E+08	9,32E+07	ADN de plasmídeo	0,04	0,08	0,05	0,06
1,00E+07	9,32E+06	ADN de plasmídeo	0,06	0,05	0,04	0,05
1,00E+06	9,32E+05	ADN de plasmídeo	0,06	0,07	0,04	0,06
1,00E+05	9,32E+04	ADN de plasmídeo	0,06	0,06	0,07	0,06
2,00E+04	1,71E+04	amostra clínica	0,05	0,03	0,03	0,04
2,00E+03	1,86E+03	ADN de plasmídeo	0,05	0,04	0,07	0,05
1,00E+03	8,54E+02	amostra clínica	0,04	0,05	0,04	0,04
1,00E+03	9,32E+02	ADN de plasmídeo	0,06	0,06	0,05	0,06
1,00E+02	8,54E+01	amostra clínica	0,07	0,08	0,07	0,07
1,00E+02	9,32E+01	ADN de plasmídeo	0,10	0,08	0,09	0,09
5,00E+01	4,27E+01	amostra clínica	0,09	0,04	0,08	0,08

* Os dados de titulação são considerados como tendo distribuição log-normal e são analisados de acordo com transformação log₁₀. As colunas de desvio padrão (DP) apresentam a totalidade dos títulos com transformação logarítmica para cada um dos três lotes de reagente.

Tabela 20 Precisão intra-laboratório do cobas® HBV (amostras de soro – volume de processamento de 500 µl)*

Concentração nominal (UI/ml)	Concentração atribuída (UI/ml)	Material de origem	Soro			
			Lote 1	Lote 2	Lote 3	Todos os lotes
			DP	DP	DP	DP em pool
1,00E+09	5,47E+08	ADN de plasmídeo	0,05	0,06	0,03	0,05
1,00E+08	5,47E+07	ADN de plasmídeo	0,03	0,04	0,03	0,04
1,00E+07	5,47E+06	ADN de plasmídeo	0,05	0,05	0,03	0,05
1,00E+06	5,47E+05	ADN de plasmídeo	0,04	0,06	0,06	0,05
1,00E+05	5,47E+04	ADN de plasmídeo	0,04	0,03	0,03	0,04
2,00E+04	1,12E+04	amostra clínica	0,10	0,07	0,08	0,08
2,00E+03	1,09E+03	ADN de plasmídeo	0,05	0,05	0,03	0,05
1,00E+03	5,62E+02	amostra clínica	0,03	0,14	0,03	0,09
1,00E+03	5,47E+02	ADN de plasmídeo	0,04	0,05	0,04	0,04
1,00E+02	5,62E+01	amostra clínica	0,09	0,06	0,07	0,07
1,00E+02	5,47E+01	ADN de plasmídeo	0,05	0,07	0,04	0,06
5,00E+01	2,81E+01	amostra clínica	0,07	0,06	0,10	0,08

* Os dados de titulação são considerados como tendo distribuição log-normal e são analisados de acordo com transformação log₁₀. As colunas de desvio padrão (DP) apresentam a totalidade dos títulos com transformação logarítmica para cada um dos três lotes de reagente.

Tabela 21 Precisão intra-laboratório do cobas® HBV (amostras de plasma EDTA – volume de processamento de 200 µl)*

Concentração nominal (UI/ml)	Concentração atribuída (UI/ml)	Material de origem	Plasma EDTA			
			Lote 1	Lote 2	Lote 3	Todos os lotes
			DP	DP	DP	DP em pool
1,00E+08	1,28E+08	ADN de plasmídeo	0,04	0,05	0,03	0,04
1,00E+07	1,28E+07	ADN de plasmídeo	0,06	0,04	0,02	0,04
1,00E+06	1,28E+06	ADN de plasmídeo	0,03	0,04	0,04	0,03
1,00E+05	1,28E+05	ADN de plasmídeo	0,02	0,06	0,05	0,05
2,00E+04	1,71E+04	amostra clínica	0,03	0,05	0,03	0,04
2,00E+03	2,57E+03	ADN de plasmídeo	0,05	0,06	0,05	0,05
1,00E+03	8,54E+02	amostra clínica	0,07	0,05	0,03	0,05
1,00E+03	1,28E+03	ADN de plasmídeo	0,06	0,07	0,03	0,05
1,00E+02	8,54E+01	amostra clínica	0,09	0,09	0,07	0,09
1,00E+02	1,28E+02	ADN de plasmídeo	0,06	0,09	0,11	0,09

* Os dados de titulação são considerados como tendo distribuição log-normal e são analisados de acordo com transformação log₁₀. As colunas de desvio padrão (DP) apresentam a totalidade dos títulos com transformação logarítmica para cada um dos três lotes de reagente.

Tabela 22 Precisão intra-laboratório do cobas® HBV (amostras de soro – volume de processamento de 200 µl)*

Concentração nominal (UI/ml)	Concentração atribuída (UI/ml)	Material de origem	Soro			
			Lote 1	Lote 2	Lote 3	Todos os lotes
			DP	DP	DP	DP em pool
1,00E+09	7,92E+08	ADN de plasmídeo	0,04	0,03	0,03	0,04
1,00E+08	7,92E+07	ADN de plasmídeo	0,07	0,05	0,06	0,06
1,00E+07	7,92E+06	ADN de plasmídeo	0,04	0,03	0,04	0,04
1,00E+06	7,92E+05	ADN de plasmídeo	0,03	0,05	0,04	0,04
1,00E+05	7,92E+04	ADN de plasmídeo	0,06	0,07	0,03	0,06
2,00E+04	1,12E+04	amostra clínica	0,16	0,08	0,03	0,11
2,00E+03	1,58E+03	ADN de plasmídeo	0,05	0,04	0,05	0,05
1,00E+03	5,62E+02	amostra clínica	0,07	0,04	0,04	0,05
1,00E+03	7,92E+02	ADN de plasmídeo	0,07	0,05	0,06	0,06
1,00E+02	5,62E+01	amostra clínica	0,09	0,10	0,07	0,09
1,00E+02	7,92E+01	ADN de plasmídeo	0,08	0,09	0,09	0,08

* Os dados de titulação são considerados como tendo distribuição log-normal e são analisados de acordo com transformação log₁₀. As colunas de desvio padrão (DP) apresentam a totalidade dos títulos com transformação logarítmica para cada um dos três lotes de reagente.

Determinação e verificação de genótipo

O desempenho do cobas® HBV em genótipos HBV foi avaliado por:

- Determinação do limite de detecção para genótipos B a H e mutante pré-core predominante com plasma EDTA e soro para volume de processamento de 500 µl
- Verificação do limite de detecção para genótipos B a H e mutante pré-core predominante com plasma EDTA e soro para volume de processamento de 200 µl
- Verificação da linearidade de genótipos B a H e do mutante pré-core predominante

Limite de detecção para genótipos B a H e do mutante pré-core predominante

O limite de detecção do cobas® HBV foi determinado pela análise de diluições em série de sete genótipos diferentes (B, C, D, E, F, G, H) e do mutante pré-core predominante (G1896A; C1858T) em plasma EDTA humano negativo para o HBV e soro utilizando volumes de processamentos de amostras de 500 µl. Foram testados painéis de oito níveis de concentração e ainda um negativo utilizando três lotes de reagentes de teste cobas® HBV em corridas múltiplas, dias, operadores e equipamentos diferentes.

Os resultados do plasma EDTA e do soro do volume de processamento de amostras de 500 µl são exibidos na Tabela 23 e na Tabela 24, respetivamente. O estudo demonstra que o cobas® HBV detetou todos os genótipos de HBV testados com um limite de detecção semelhante ao genótipo A de HBV.

Tabela 23 Limite de detecção de genótipos de ADN do HBV em plasma EDTA (500 µl)

Genótipo	LoD por PROBIT a 95%	Intervalo de confiança de 95%
GT B	3,45 UI/ml	2,95-4,32 UI/ml
GT C	4,13 UI/ml	3,32-5,82 UI/ml
GT D	4,52 UI/ml	3,59-6,49 UI/ml
GT E	3,21 UI/ml	2,76-3,98 UI/ml
GT F	1,87 UI/ml	1,66-2,24 UI/ml
GT G	2,49 UI/ml	2,17-3,02 UI/ml
GT H	6,55 UI/ml	5,33-8,77 UI/ml
Mutante pré-core	2,38 UI/ml	2,08-2,90 UI/ml

Tabela 24 Limite de detecção de genótipos de ADN do HBV em soro (500 µl)

Genótipo	LoD por PROBIT a 95%	Intervalo de confiança de 95%
GT B	3,30 UI/ml	2,76-4,30 UI/ml
GT C	3,34 UI/ml	2,83-4,23 UI/ml
GT D	2,59 UI/ml	2,17-3,42 UI/ml
GT E	2,67 UI/ml	2,25-3,49 UI/ml
GT F	1,98 UI/ml	1,72-2,45 UI/ml
GT G	2,07 UI/ml	1,75-2,66 UI/ml
GT H	3,48 UI/ml	2,89-4,60 UI/ml
Mutante pré-core	1,65 UI/ml	1,43-2,03 UI/ml

Verificação do limite de detecção para genótipos B a H e do mutante pré-core predominante

Foram diluídas amostras clínicas de ADN do HBV de todos os genótipos (B, C, D, E, F, G, H) e do mutante pré-core predominante (G1896A; C1858T) em três níveis de concentração diferentes em plasma EDTA e soro. A determinação da taxa de positividade foi realizada com 63 réplicas para cada nível. Os testes foram efetuados com três lotes de reagentes cobas® HBV. Os resultados de plasma EDTA e de soro utilizando 200 µl são exibidos na Tabela 25 e na Tabela 26. Estes resultados demonstram que o cobas® HBV detetou ADN do HBV em sete genótipos diferentes e o mutante pré-core predominante em concentrações de 12,50 UI/ml com uma taxa de positividade de $\geq 93,65\%$ com um intervalo de confiança superior unilateral a 95% de 97,80%.

Tabela 25 Verificação de genótipo de ADN do HBV de limite de detecção em plasma EDTA (200 µl)

Genótipo	6,25 UI/ml			12,50 UI/ml			18,75 UI/ml		
	N.º de réplicas válidas	Número de positivos	Taxa de positividade em % (IC de 95%*)	N.º de réplicas válidas	Número de positivos	Taxa de positividade em % (IC de 95%*)	N.º de réplicas válidas	Número de positivos	Taxa de positividade em % (IC de 95%*)
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 (88,24)	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)
Mutante pré-core	63	54	85,71 (92,34)	63	62	98,41 (99,92)	63	63	100,00 (100,00)

* Intervalo de confiança superior unilateral de 95%

Tabela 26 Verificação de genótipos de ADN do HBV do limite de detecção em soro (200 µl)

Genótipo	6,25 UI/ml			12,50 UI/ml			18,75 UI/ml		
	N.º de réplicas válidas	Número de positivos	Taxa de positividade em % (IC de 95%*)	N.º de réplicas válidas	Número de positivos	Taxa de positividade em % (IC de 95%*)	N.º de réplicas válidas	Número de positivos	Taxa de positividade em % (IC de 95%*)
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)
Mutante pré-core	63	60	95,24 (98,69)	63	62	98,41 (99,92)	63	63	100,00 (100,00)

* Intervalo de confiança superior unilateral de 95%

Linearidade para genótipos B a H e do mutante pré-core predominante

As séries de diluição utilizadas na verificação do estudo de linearidade de genótipos do **cobas**® HBV consiste em 10 membros de painel abrangendo o intervalo linear pretendido. Os membros do painel de título elevado foram preparados a partir de um stock de ADN de plasmídeo de título elevado, ao passo que os membros do painel de título baixo foram preparados a partir de uma amostra clínica de título elevado. O painel de linearidade foi concebido para ter uma sobreposição de título de aproximadamente $2 \log_{10}$ entre estes dois materiais de origens diferentes. O intervalo linear do **cobas**® HBV estendeu-se desde abaixo do LLoQ (10 UI/ml com um volume de processamento de amostras de 500 µl, 25 UI/ml com um volume de processamento de amostras de 200 µl) ao ULoQ ($1,00E+09$ UI/ml) e incluiu, pelo menos, um ponto de decisão clínica. Foram testadas 21 réplicas em três lotes de reagente **cobas**® HBV para cada nível em plasma EDTA e soro.

A linearidade dentro do intervalo linear do **cobas**® HBV foi verificado em todos os sete genótipos (B, C, D, E, F, G, H) e mutante pré-core predominante (G1896A; C1858T). O desvio máximo entre a regressão linear e a regressão não linear mais adequada foi igual ou inferior a $\pm 0,2 \log_{10}$.

Especificidade

A especificidade do **cobas**® HBV foi determinada através da análise de amostras de plasma EDTA negativo para HBV e soro de dadores individuais. Foram testadas 300 amostras individuais de plasma EDTA e 300 amostras individuais de soro (600 resultados no total) com dois lotes de reagentes **cobas**® HBV. Todas as amostras tiveram resultado negativo relativamente a ADN do HBV. No painel de teste, a especificidade do **cobas**® HBV foi 100% (com um intervalo de confiança unilateral a 95% de 99,5%).

Especificidade analítica

A especificidade analítica do **cobas**® HBV foi avaliada através da diluição de um painel de microrganismos com ADN do HBV positivo e com plasma EDTA com ADN de HBV negativo. Os microrganismos foram adicionados a plasma EDTA negativo humano e testados com e sem ADN do HBV. Nenhum dos agentes patogénicos não HBV interferiu com o desempenho do teste. Foram obtidos resultados negativos com o **cobas**® HBV em todas as amostras de microrganismos sem alvo de HBV e resultados positivos em todas as amostras de microrganismos com alvo de HBV. Além disso, o título médio de \log_{10} de uma das amostras de HBV positivo contendo organismos com potencial de reatividade cruzada estava $\pm 0,3 \log_{10}$ dentro do título médio de \log_{10} do respetivo controlo positivo.

Tabela 27 Microrganismos testados relativamente a reatividade cruzada

	Vírus	Bactérias	Leveduras
Adenovírus tipo 5	Vírus do Nilo Ocidental	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Candida albicans</i>
Citomegalovírus	Vírus da encefalite de São Luís	<i>Staphylococcus aureus</i>	-
Vírus da hepatite A	Vírus da dengue, tipo 1, 2, 3 e 4	-	-
Vírus da hepatite C	Vírus da encefalite da carraça (estirpe HYPR)	-	-
Vírus da hepatite D	Vírus da febre amarela	-	-
Vírus da imunodeficiência humana 1	Vírus do papiloma humano	-	-
Vírus T-linfotrópico humano, tipo 1 e 2	Vírus Varicella-Zoster	-	-
Vírus do herpes humano tipo 6	Influenza A	-	-
Vírus herpes simplex tipo 1 e 2	Vírus Zika	-	-

Especificidade analítica – substâncias interferentes

Níveis elevados de triglicéridos (34,5 g/l), de bilirrubina conjugada (0,25 g/l), de bilirrubina não conjugada (0,25 g/l), de albumina (58,7 g/l), de hemoglobina (2,9 g/l) e de ADN humano (2 mg/l) nas amostras foram testados na presença e ausência de ADN do HBV. Foi demonstrado que as substâncias endógenas testadas não interferem com o desempenho do teste **cobas**® HBV.

Além disso, foi testada a presença de doenças autoimunes tais como lúpus eritematoso sistémico (LES), artrite reumatoide (AR) e anticorpos antinucleares (ANA).

Além disso, os fármacos listados na Tabela 28 foram testados com o triplo da $C_{máx.}$ na presença e ausência de ADN do HBV.

Foi demonstrado que todas substâncias potencialmente interferentes não interferem com o desempenho do teste. Foram obtidos resultados negativos com o **cobas**® HBV em todas as amostras de microrganismos sem alvo de HBV e resultados positivos em todas as amostras com alvo de HBV. Além disso, o título médio de \log_{10} de cada uma das amostras de HBV

positivo contendo substâncias potencialmente interferentes estava $\pm 0,5 \log_{10}$ dentro do título médio de \log_{10} do respetivo controlo positivo.

Tabela 28 Fármacos testados relativamente à interferência com a quantificação de ADN do HBV pelo cobas® HBV

Classe do fármaco	Nome genérico do fármaco	
Modulador de imunidade	Peginterferon α -2a	Peginterferon α -2b
	Ribavirina	-
Inibidor de fusão de HIV	Maraviroc	
Inibidor de integrase de HIV	Elvitegravir/Cobicistat	Raltegravir
Inibidor de transcriptase reversa não nucleotídica de HIV	Efavirenz	Nevirapine
	Etravirina	Ralpivirine
Inibidor de protease de HIV	Atazanavir	Lopinavir
	Tipranavir	Nelfinavir
	Darunavir	Ritonavir
	Fosamprenavir	Saquinavir
Inibidor de protease de HCV	Boceprevir	Telaprevir
	Simeprevir	-
Inibidores de transcriptase reversa ou de polimerase de ADN	Abacavir	Tenofovir
	Emtricitabine	Adefovir dipivoxil
	Entecavir	Telbivudine
	Foscarnet	Zidovudine
	Cidofovir	Aciclovir
	Lamivudine	Valganciclovir
	Ganciclovir	Sofosbuvir
Compostos para o tratamento de infeções oportunistas	Azithromycin	Pyrazinamide
	Clarithromycin	Rifabutin
	Ethambutol	Rifampicin
	Fluconazole	Sulfametoxazol
	Isoniazida	Trimetoprim

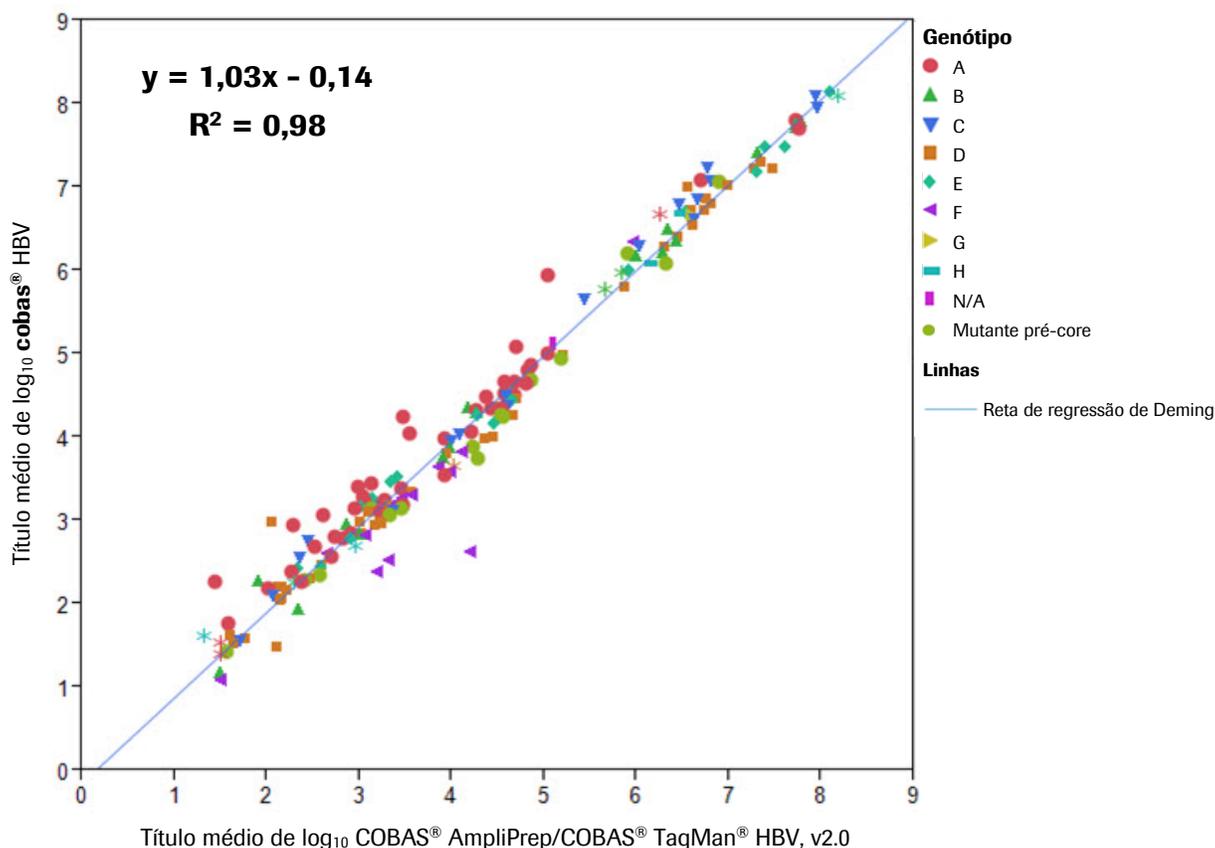
Correlação de métodos

Avaliação do desempenho do cobas® HBV em comparação com o teste COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HBV, v2.0

O desempenho do cobas® HBV e do teste COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HBV, v2.0 (teste TaqMan® HBV, v2.0) foram comparados pela análise de amostras de plasma EDTA e soro de pacientes infectados com HBV. Um total de 103 amostras de plasma EDTA e de 85 amostras de soro de todos os genótipos de HBV, analisadas em duplicado, estavam válidas e dentro do intervalo de quantificação de ambos os testes. Foi realizada uma análise de regressão de Deming. O desvio médio de título das amostras testadas com os dois testes foi de $-0,03 \log_{10}$.

Os resultados da regressão de Deming estão indicados na Figura 8.

Figura 8 Análise de regressão do cobas® HBV vs teste TaqMan® HBV, v2.0, amostras de plasma EDTA e de soro

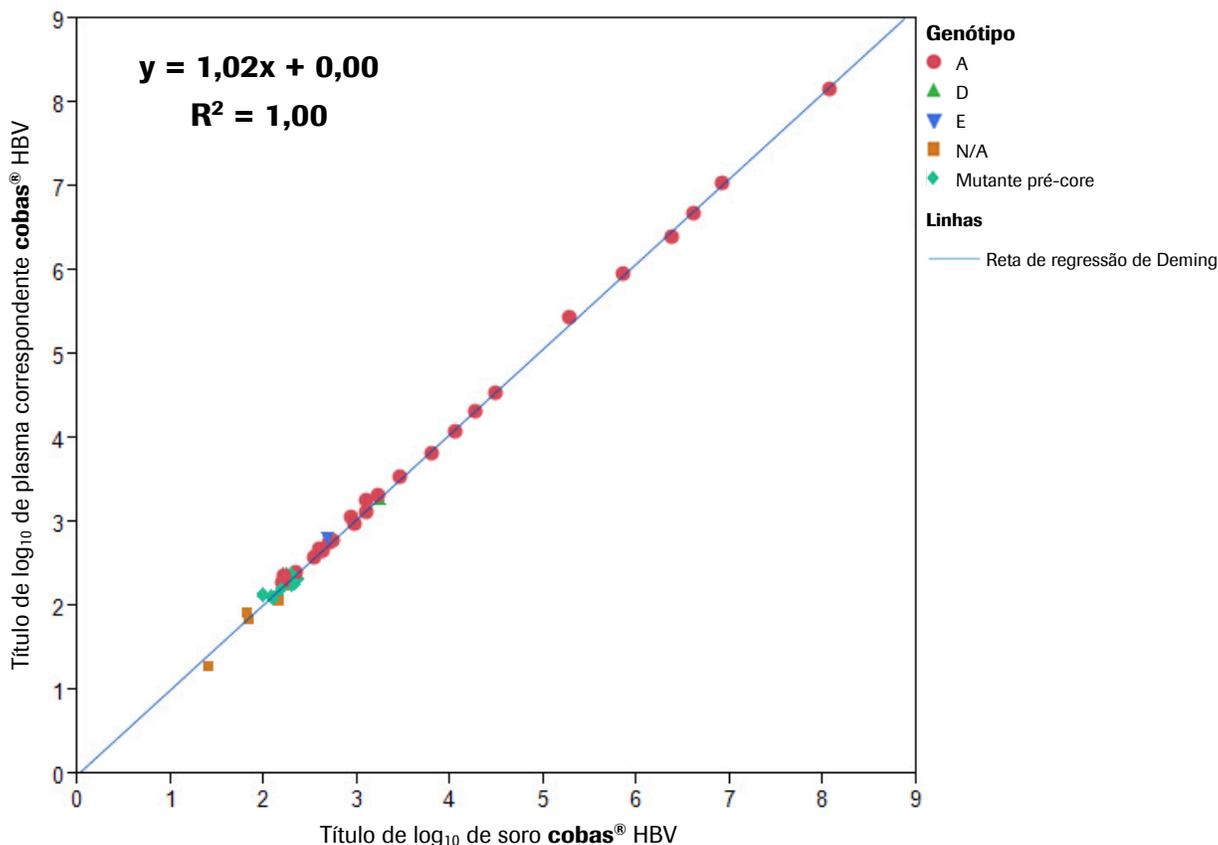


Equivalência de matrizes – Plasma EDTA e soro

Foram analisadas quanto à equivalência de matrizes 50 amostras emparelhadas de plasma EDTA e soro. As amostras com HBV positivo abrangiam a maior parte dos genótipos e apresentavam títulos ao longo de todo o intervalo linear.

A equivalência de matrizes foi demonstrada nas amostras testadas com um desvio de título médio de 0,05 \log_{10} (Figura 9).

Figura 9 Desempenho de equivalência de matrizes entre plasma EDTA e soro



Falha global do sistema

Determinou-se a taxa de falha global do sistema do **cobas® HBV** testando 100 réplicas de plasma EDTA e 100 réplicas de soro adulterado com HBV para um total de 200 réplicas. Estas amostras foram testadas com uma concentração alvo de aproximadamente 3 vezes o limite de detecção. O estudo foi realizado utilizando o sistema **cobas® 6800**.

Os resultados deste estudo determinaram que todas as réplicas eram reativas para cada um dos alvos, originando uma taxa de falha global do sistema de 0%. O intervalo exato de confiança bilateral de 95% foi de 0% para o limite inferior e 3,62% para o intervalo superior de cada matriz [0%: 3,62%].

Contaminação cruzada

Foi determinada a taxa de contaminação cruzada para o cobas® HBV, analisando 240 réplicas de uma amostra de plasma EDTA humano normal, negativo quanto a vírus (HIV, HCV e HBV) e 225 réplicas de uma amostra de HBV de título elevado a 1,00E+09 UI/ml. No total, foram executadas cinco corridas com amostras positivas e negativas numa configuração de “tabuleiro de xadrez”.

Todas as 240 réplicas da amostra negativa foram não-reativas, originando uma taxa de contaminação cruzada de 0%. O intervalo de confiança bilateral exato de 95% foi de 0% para o limite inferior e de 1,53% para o intervalo superior [0%: 1,53%].

Avaliação do desempenho clínico

Estudo de reprodutibilidade

A reprodutibilidade e a variabilidade de lote para lote para o cobas® HBV foram avaliadas em plasma EDTA no sistema cobas® 6800, utilizando um modelo misto para estimar a variação total.

Os resultados da avaliação estão resumidos na Tabela 29 até à Tabela 32 a seguir.

Variabilidade de lote para lote

A verificação de variabilidade de lote para lote foi realizada para os genótipos A e C num local de teste, utilizando três lotes de reagentes. Dois operadores no local testaram cada lote durante seis dias. Foram executadas duas corridas em cada dia.

A Tabela 29 a seguir são apresentadas percentagens atribuíveis da variação total, desvios padrão (DP) da precisão total, e coeficiente de variação (CV) lognormal por genótipo e concentração de ADN do HBV \log_{10} para o sistema cobas® 6800.

Tabela 29 Percentagem atribuível de variação total, desvio padrão de precisão total e CV (%) lognormal de concentração de ADN do HBV (\log_{10} UI/ml) por genótipo e membro de painel positivo (lote para lote) no sistema cobas® 6800 (reprodutibilidade)

-	Concentração de ADN do HBV (\log_{10} UI/ml)		-	Percentagem de contribuição para a variação total (CV (%) lognormal)					Precisão total	
	Genótipo	Esperado		Média observada ^a	N.º de testes ^b	Lote	Operador	Dia	Execução	Dentro da corrida
A	1,48	1,50	107	13% (12,90)	0% (0,00)	0% (0,00)	0% (0,00)	87% (34,68)	0,157	37,27
	2,70	2,72	108	52% (11,96)	0% (0,00)	0% (0,00)	0% (0,00)	48% (11,56)	0,072	16,69
	3,70	3,64	108	60% (14,29)	0% (0,00)	4% (3,55)	1% (1,57)	36% (11,01)	0,080	18,53
	4,70	4,65	107	47% (13,05)	0% (0,00)	3% (3,22)	1% (2,32)	49% (13,29)	0,082	19,14
	5,70	5,67	107	53% (13,66)	2% (2,59)	0% (0,00)	0% (0,00)	45% (12,54)	0,081	18,80
	6,70	6,71	105	50% (11,66)	0% (0,00)	0% (0,00)	5% (3,82)	44% (10,92)	0,071	16,48
	7,70	7,41	108	55% (13,08)	0% (0,00)	0% (0,00)	4% (3,59)	40% (11,18)	0,076	17,65
	8,70	8,41	107	51% (12,52)	0% (0,00)	0% (0,00)	10% (5,61)	38% (10,75)	0,075	17,51

-	Concentração de ADN do HBV (log ₁₀ UI/ml)		-	Percentagem de contribuição para a variação total (CV (%) lognormal)					Precisão total	
	Genótipo	Esperado		Média observada ^a	N.º de testes ^b	Lote	Operador	Dia	Execução	Dentro da corrida
C	1,48	1,49	107	23% (13,62)	1% (2,83)	0% (0,00)	0% (0,00)	76% (25,26)	0,124	29,05
	2,70	2,71	105	53% (13,92)	2% (2,63)	3% (3,48)	0% (0,00)	41% (12,27)	0,082	19,16
	3,70	3,64	107	61% (11,67)	0% (0,00)	0% (0,80)	0% (0,00)	39% (9,37)	0,065	15,02
	4,70	4,65	106	47% (11,44)	0% (0,00)	0% (0,00)	0% (0,00)	53% (12,25)	0,073	16,82
	5,70	5,69	107	60% (14,76)	0% (0,00)	1% (1,51)	0% (0,00)	39% (11,86)	0,082	19,08
	6,70	6,69	107	48% (11,79)	0% (0,00)	2% (2,31)	0% (0,00)	50% (12,13)	0,074	17,14
	7,70	7,38	107	51% (11,22)	0% (0,00)	0% (0,00)	1% (1,57)	48% (10,94)	0,068	15,80
	8,70	8,42	106	56% (13,92)	0% (0,00)	0% (0,00)	4% (3,54)	40% (11,72)	0,080	18,62

Nota: resultados com carga viral detetável são incluídos nesta tabela; Dentro do intervalo de ensaio estão resultados desde 1,0E+01 UI/ml até 1,0E+09 UI/ml.

^a Calculada utilizando o procedimento SAS MIXED.

^b Número de testes válidos com carga viral detetável.

^c Calculado utilizando a variabilidade total do procedimento SAS MIXED.

^d CV (%) lognormal = $\sqrt{10^{[DP^2 \times \ln(10)]} - 1} \times 100$.

CV (%) = percentagem do coeficiente de variação; ADN = ácido desoxirribonucleico; HBV = vírus da hepatite B; N.º = número; DP = desvio padrão; sqrt = raiz quadrada.

Na Tabela 30 a seguir, a concordância na percentagem de negativos (CPN) para o sistema cobas® 6800 utilizando testes do membro do painel negativo foi de 100%.

Tabela 30 Concordância na percentagem de negativos utilizando o membro do painel negativo (lote para lote)

Concentração de ADN do HBV esperada	N.º de testes válidos	Resultados positivos	Resultados negativos	Concordância na percentagem de negativos ^a	IC de 95% ^b
Negativo	106	0	106	100,00	(96,58, 100,00)

^a CPN = (número de resultados negativos / número total de testes válidos no membro do painel negativo) × 100.

^b Calculada usando o método de intervalo de confiança binomial exata de Clopper-Pearson.

IC = intervalo de confiança; ADN = ácido desoxirribonucleico; HBV = vírus da hepatite B; N.º = número; CPN = concordância na percentagem de negativos.

Reprodutibilidade

A testagem de reprodutibilidade foi realizada em três locais para os genótipos A e C, usando um lote de reagente. Dois operadores em cada local testaram durante 6 dias. Foram executadas duas corridas em cada dia.

A Tabela 31 a seguir são apresentadas percentagens atribuíveis da variação total, DPs da precisão total e CVs lognormal por genótipo e concentração de ADN do HBV log₁₀ no sistema cobas® 6800.

Tabela 31 Percentagem atribuível de variação total, desvio padrão de precisão total e CV (%) lognormal de concentração de ADN do HBV (log₁₀ UI/ml) por genótipo e membro de painel positivo (reprodutibilidade)

-	Concentração de ADN do HBV (log ₁₀ UI/ml)		-	Percentagem de contribuição para a variação total (CV (%) lognormal)					Precisão total	
	Genótipo	Esperado		Média observada ^a	N.º de testes ^b	Centro	Operador	Dia	Execução	Dentro da corrida
A	1,48	1,48	107	1% (4,21)	0% (0,00)	5% (7,75)	1% (3,56)	93% (34,98)	0,153	36,41
	2,70	2,66	108	34% (9,53)	0% (0,00)	0% (0,00)	16% (6,40)	50% (11,52)	0,070	16,33
	3,70	3,60	108	34% (7,49)	2% (1,90)	7% (3,42)	0% (0,00)	56% (9,58)	0,055	12,80
	4,70	4,62	107	13% (5,40)	0% (0,00)	0% (0,00)	12% (5,28)	75% (13,05)	0,065	15,12
	5,70	5,63	107	37% (7,82)	1% (1,26)	0% (0,00)	0% (0,00)	62% (10,04)	0,055	12,81
	6,70	6,67	106	20% (5,99)	3% (2,16)	4% (2,57)	15% (5,16)	60% (10,48)	0,059	13,59
	7,70	7,37	108	3% (2,70)	2% (2,06)	0% (0,00)	0% (0,00)	95% (15,12)	0,067	15,50
	8,70	8,36	107	12% (4,32)	0% (0,00)	0% (0,00)	2% (1,53)	86% (11,46)	0,053	12,36

-	Concentração de ADN do HBV (log ₁₀ UI/ml)		-	Percentagem de contribuição para a variação total (CV (%) lognormal)					Precisão total	
	Genótipo	Esperado		Média observada ^a	N.º de testes ^b	Centro	Operador	Dia	Execução	Dentro da corrida
C	1,48	1,48	107	2% (11,79)	1% (7,06)	0% (0,00)	0% (0,00)	97% (84,30)	0,324	86,20
	2,70	2,67	105	19% (5,94)	3% (2,22)	0% (0,00)	0% (0,00)	79% (12,27)	0,060	13,84
	3,70	3,61	107	14% (4,49)	0% (0,00)	7% (3,15)	0% (0,00)	78% (10,48)	0,051	11,84
	4,70	4,62	106	24% (6,45)	0% (0,00)	0% (0,00)	0% (0,00)	76% (11,59)	0,057	13,29
	5,70	5,65	107	18% (5,96)	0% (0,00)	3% (2,29)	0% (0,00)	80% (12,68)	0,061	14,22
	6,70	6,65	107	23% (6,35)	6% (3,26)	0% (0,00)	1% (1,33)	70% (11,10)	0,057	13,29
	7,70	7,34	106	0% (0,00)	3% (2,38)	0% (0,00)	13% (5,12)	84% (13,11)	0,062	14,30
	8,70	8,36	107	4% (2,24)	0% (0,00)	16% (4,35)	10% (3,46)	70% (9,09)	0,047	10,91

Nota: resultados com carga viral detetável são incluídos nesta tabela; Dentro do intervalo de ensaio estão resultados desde 1,0E+01 UI/ml até 1,0E+09 UI/ml.

^a Calculada utilizando o procedimento SAS MIXED.

^b Número de testes válidos com carga viral detetável.

^c Calculado utilizando a variabilidade total do procedimento SAS MIXED.

^d CV (%) lognormal = $\sqrt{10^{[DP^2 \times \ln(10)]} - 1} \times 100$.

CV (%) = percentagem do coeficiente de variação; HBV = vírus da hepatite B; ADN = ácido desoxirribonucleico; N.º = número; DP = desvio padrão; sqrt = raiz quadrada.

A CPN foi de 100% (106/106; 95% IC: 96,58% a 100%) utilizando testes de membro de painel negativo no sistema cobas® 6800 conforme apresentado em Tabela 32 abaixo.

Tabela 32 Concordância na percentagem de negativos utilizando o membro do painel negativo (reprodutibilidade) no sistema cobas® 6800

Concentração de ADN do HBV esperada	N.º de testes	Resultados positivos	Resultados negativos	Concordância na percentagem de negativos ^a	IC de 95% ^b
Negativo	106	0	106	100,00	(96,58, 100,00)

^a CPN = (número de resultados negativos / número total de testes válidos no membro do painel negativo) × 100.

^b Calculada usando o método de intervalo de confiança binomial exata de Clopper-Pearson.

IC = intervalo de confiança; ADN = ácido desoxirribonucleico; HBV = vírus da hepatite B; N.º = número; CPN = concordância na percentagem de negativos.

Utilidade clínica

O estudo foi concebido para avaliar a capacidade do ensaio em prever o resultado clínico.

Foram testadas amostras residuais de aproximadamente 300 sujeitos, que foram aleatorizados para receber tratamento durante 100 semanas com entecavir e tenofovir ou com monoterapia com entecavir, durante um ensaio clínico farmacêutico. Além disso, foram testadas amostras de aproximadamente 70 indivíduos infectados com HBV HBeAg (-) crônico da prática médica de rotina, que receberam tratamento com monoterapia de tenofovir (Tabela 33).

Tabela 33 Grupos de tratamento

Estudo clínico	Estado HBeAg	Tratamento	Fase do tratamento
Ensaio clínico farmacêutico ²¹	HBeAg (+)	Monoterapia entecavir	Fase I
		Entecavir + tenofovir	Fase II
	HBeAg (-)	Monoterapia entecavir	Fase III (inclui até 17 sujeitos da prática médica)
		Entecavir + tenofovir	Fase IV
Prática médica	HBeAg (-)	Monoterapia tenofovir	Fase V

HBeAg = hepatite B e antígeno.

A testagem com **cobas**® HBV foi realizada em três locais. Cada local estava equipado com um sistema **cobas**® 6800. Foram utilizados três lotes de kits de reagentes no estudo; cada amostra foi testada com um lote de kit. Tabela 34 abaixo, são indicadas as características demográficas e de base dos sujeitos cujas amostras foram testadas no sistema **cobas**® 6800, foram inscritos neste estudo tanto sujeitos HBeAg (+) como HBeAg (-) e os dados relativos a estas populações foram analisados separadamente.

Tabela 34 Características demográficas e de base dos sujeitos

Características	Estatísticas
Total, N	396
Categoria de idade (anos), n (%)	-
< 40	186 (47,0%)
≥ 40	210 (53,0%)
Idade (anos)	-
Média ± DP	42 ± 15,2
Mediana	42
Intervalo	17-81
Sexo, n (%)	-
Homem	276 (69,7%)
Mulher	120 (30,3%)

Características	Estatísticas
Raça, n (%)	-
Asian	204 (51,5%)
Negro/Afro-americano	14 (3,5%)
Branco/Caucasiano	169 (42,7%)
Outra	9 (2,3%)
Genótipo, n (%)	-
A	64 (16,2%)
A e G	1 (0,3%)
B	62 (15,7%)
C	74 (18,7%)
D	105 (26,5%)
E	4 (1,0%)
F	10 (2,5%)
Misturado	1 (0,3%)
Desconhecido	75 (18,9%)
ALT normal na base, n (%)	-
Sim	23 (5,8%)
Não	361 (91,2%)
Desconhecido	12 (3,0%)
ALT de base (UI/l)	-
Média ± DP	140 ± 169,9
Mediana	96
Intervalo	14-1583
ADN do HBV (log₁₀ UI/ml) na base	-
Média ± DP	6,6 ± 2,38
Mediana	7,4
Intervalo	-0,0-10,1
Categoria de ADN do HBV, n (%)	-
< 2,0 × 10 ³ UI/ml	41 (10,4%)
2,0 × 10 ³ até 2,0 × 10 ⁴ UI/ml	13 (3,3%)
> 2,0 × 10 ⁴ UI/ml	330 (83,3%)
Desconhecido	12 (3,0%)

ALT = alanina-aminotransferase; HBV = vírus da hepatite B; ADN = ácido desoxirribonucleico; DP = desvio padrão.

Previsão da resposta à terapia antiviral

Definições:

- Resposta virológica (RV) à semana 12 = ADN do HBV 2 log₁₀ diminui desde a base
- RV à semana 24 = ADN do HBV < 2000 UI/ml (HBeAg (+)) ou < 50 UI/ml (HBeAg (-))
- RV à semana 48 = ADN do HBV < 2000 UI/ml (HBeAg (+)) ou < 50 UI/ml (HBeAg (-))
- RV à semana 96 = ADN do HBV < 50 UI/ml (objetivo RV)
- Objetivo não RV = ADN do HBV > 50 UI/ml à semana 96
- Resposta bioquímica (RB) = normalização de ALT em comparação com a base; para ALT masculina < 30 UI/l e para ALT feminina < 19 UI/l
- Perda de HBeAg = conversão do estado HBeAg (+) para HBeAg (-) durante a terapia

Previsão de resposta virológica à semana 96

Neste estudo, a concentração de ADN do HBV de base e as RVs nas semanas 12, 24 e 48 do tratamento foram utilizadas para avaliar a capacidade de prever o resultado (RV, RB ou perda de HBeAg) na semana 96 da terapia. RV96 (ADN do HBV < 50 UI/ml) foi avaliado utilizando resultados de ADN do HBV de um teste aprovado.

Quando o **cobas**® HBV foi usado para medir o ADN do HBV, uma concentração de ADN do HBV de base de < 10⁸ UI/ml e RVs nas semanas 12, 24 e 48 demonstraram elevado grau de previsão do RV96 para todas as fases de tratamento neste estudo (VPP 79,6% até 100%) (Tabela 35 e Tabela 36 abaixo).

Tabela 35 Probabilidade de alcançar resposta virológica à semana 96 com ADN do HBV de base < 10⁸ UI/ml por fase de tratamento

-			VPP (%)		VPN (%)		RP
Visita em tratamento	Fase do tratamento	Sujeitos avaliáveis	Estimativa (IC de 95%)	n / N	Estimativa (IC de 95%)	n / N	Estimativa (IC de 95%)
Base	Fase I	103	93,5 (82,5; 97,8)	43 / 46	31,6 (21,0; 44,5)	18 / 57	6,62 (1,81; 24,20)
-	Fase II	102	96,2 (87,0; 98,9)	50 / 52	4,0 (1,1; 13,5)	2 / 50	1,04 (0,14; 7,69)
-	Fase III	49	100,0 (92,1; 100,0)	45 / 45	25,0 (4,6; 69,9)	1 / 4	30,00 (0,83; 1087,42)
-	Fase IV	48	97,9 (88,9; 99,6)	46 / 47	100,0 (20,7; 100,0)	1 / 1	92,00 (1,81; 4686,43)
-	Fase V	30	90,0 (74,4; 96,5)	27 / 30	NC	0	9,00 (0,15; 541,69)

Notas: Valor Preditivo Positivo (VPP) = VP / (VP + FP) ou a probabilidade de ser um RV96, dado que o sujeito foi de resposta virológica numa visita específica.

Valor Preditivo Negativo (VPN) = VN / (FN + VN) ou a probabilidade de não ser um RV96, dado que o sujeito não foi de resposta virológica numa visita específica.

Razões de probabilidades (RP) = (VP × VN) / (FP × FN).

ICs a 95% para VPP e VPN são calculados com base no IC de Wilson Score.

0,5 foi adicionado a células vazias (VP, VN, FP ou FN = 0), antes do cálculo de RP e da correspondente IC a 95%.

RV à semana 96 RV = ADN do HBV < 50 UI/ml (objetivo RV) do COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HBV Test, versão 2.

Concentração de ADN do HBV de base < 1E8 UI/ml, conforme determinado no sistema **cobas**® 6800.

Fase I: monoterapia entecavir (HBeAg (+)).

Fase II: entecavir + tenofovir (HBeAg (+)).

Fase III: monoterapia entecavir (HBeAg (-)).

Fase IV: entecavir + tenofovir (HBeAg (-)).

Fase V: monoterapia tenofovir (HBeAg (-)).

IC = intervalo de confiança; ADN = ácido desoxirribonucleico; FN = falso negativo; FP = falso positivo; HBeAg = antígeno e de hepatite B; HBV = vírus da hepatite B; NC = não calculável (por não existirem sujeitos com não resposta virológica nessa visita); VN = verdadeiro negativo; VP = verdadeiro positivo; RV = resposta virológica; RV96 = resposta virológica à semana 96.

Tabela 36 Probabilidade de alcançar resposta virológica à semana 96 com base na resposta virológica numa visita de tratamento específica por fase de tratamento

-			VPP (%)		VPN (%)		RP
Visita em tratamento	Fase do tratamento	Sujeitos elegíveis	Estimativa (IC de 95%)	n / N	Estimativa (IC de 95%)	n / N	Estimativa (IC de 95%)
Semana 12	Fase I	103	79,6 (70,8; 86,3)	82 / 103	NC	0	3,90 (0,08; 202,63)
-	Fase II	100	97,0 (91,5; 99,0)	97 / 100	NC	0	32,33 (0,54; 1921,79)
-	Fase III	48	97,8 (88,7; 99,6)	45 / 46	0,0 (0,0; 65,8)	0 / 2	11,25 (0,28; 445,33)
-	Fase IV	48	95,8 (86,0; 98,8)	46 / 48	NC	0	23,00 (0,36; 1485,21)
-	Fase V	21	85,7 (48,7; 97,4)	6 / 7	7,1 (1,3; 31,5)	1 / 14	0,46 (0,02; 8,69)
Semana 24	Fase I	103	96,1 (89,2; 98,7)	74 / 77	69,2 (50,0; 83,5)	18 / 26	55,50 (13,37; 230,39)
-	Fase II	102	96,7 (90,8; 98,9)	89 / 92	10,0 (1,8; 40,4)	1 / 10	3,30 (0,31; 35,08)
-	Fase III	47	100,0 (89,8; 100,0)	34 / 34	7,7 (1,4; 33,3)	1 / 13	5,67 (0,18; 179,94)
-	Fase IV	49	97,7 (87,9; 99,6)	42 / 43	16,7 (3,0; 56,4)	1 / 6	8,40 (0,45; 156,19)
-	Fase V	20	94,1 (73,0; 99,0)	16 / 17	33,3 (6,1; 79,2)	1 / 3	8,00 (0,35; 184,38)
Semana 48	Fase I	101	89,9 (81,9; 94,6)	80 / 89	91,7 (64,6; 98,5)	11 / 12	97,78 (11,28; 847,86)
-	Fase II	97	95,9 (89,9; 98,4)	93 / 97	NC	0	23,25 (0,41; 1328,83)
-	Fase III	46	100,0 (91,6; 100,0)	42 / 42	25,0 (4,6; 69,9)	1 / 4	28,00 (0,77; 1015,78)
-	Fase IV	48	97,8 (88,4; 99,6)	44 / 45	33,3 (6,1; 79,2)	1 / 3	22,00 (0,98; 494,79)
-	Fase V	28	92,3 (75,9; 97,9)	24 / 26	50,0 (9,5; 90,5)	1 / 2	12,00 (0,53; 273,05)

Notas: Valor Preditivo Positivo (VPP) = $VP / (VP + FP)$ ou a probabilidade de ser um RV96, dado que o sujeito foi de resposta virológica numa visita específica.

Valor Preditivo Negativo (VPN) = $VN / (FN + VN)$ ou a probabilidade de não ser um RV96, dado que o sujeito não foi de resposta virológica numa visita específica.

Razões de probabilidades (RP) = $(VP \times VN) / (FP \times FN)$.

ICs a 95% para VPP e VPN são calculados com base no IC de Wilson Score.

0,5 foi adicionado a células vazias (VP, VN, FP ou FN = 0), antes do cálculo de RP e da correspondente IC a 95%.

RV96 é alcançada se o sujeito tiver um ADN do HBV < 50 UI/ml do teste para utilização COBAS® TaqMan® HBV com o sistema High Pure na semana 96.

RV de semana 12 = ADN do HBV > 2 log₁₀ de diminuição da base; RV de semana 24 = ADN do HBV < 2000 UI/ml (HBeAg (+)) ou < 50 UI/ml (HBeAg (-)); RV de semana 48 = ADN do HBV < 2000 UI/ml (HBeAg (+)) ou < 50 UI/ml (HBeAg (-)).

Fase I: monoterapia entecavir (HBeAg (+)).

Fase II: entecavir + tenofovir (HBeAg (+)).

Fase III: monoterapia entecavir (HBeAg (-)).

Fase IV: entecavir + tenofovir (HBeAg (-)).

Fase V: monoterapia tenofovir (HBeAg (-)).

IC = intervalo de confiança; ADN = ácido desoxirribonucleico; FN = falso negativo; FP = falso positivo; HBeAg = antígeno e de hepatite B; HBV = vírus da hepatite B; NC = não calculável (por não existirem sujeitos com não resposta virológica nessa visita); VN = verdadeiro negativo; VP = verdadeiro positivo; RV = resposta virológica; RV96 = resposta virológica à semana 96.

Previsão de resposta bioquímica à semana 96

A probabilidade de alcançar uma resposta bioquímica à semana 96, com uma RV em tratamento à semana 12, semana 24 ou semana 48 é resumida em Tabela 37.

O valor de RV à semana 12, semana 24 ou semana 48 como predictor de RB96 variado por semana de RV e fase de tratamento.

Tabela 37 Probabilidade de alcançar resposta bioquímica à semana 96 com base na resposta virológica numa visita de tratamento específica por fase de tratamento

			VPP (%)		VPN (%)		RP
Visita em tratamento	Fase do tratamento	Sujeitos elegíveis	Estimativa (IC de 95%)	n / N	Estimativa (IC de 95%)	n / N	Estimativa (IC de 95%)
Semana 12	Fase I	101	62,4 (52,6; 71,2)	63 / 101	NC	0	1,66 (0,03; 85,30)
-	Fase II	100	43,0 (33,7; 52,8)	43 / 100	NC	0	0,75 (0,01; 38,79)
-	Fase III	49	50,0 (36,1; 63,9)	23 / 46	66,7 (20,8; 93,9)	2 / 3	2,00 (0,17; 23,62)
-	Fase IV	49	32,7 (21,2; 46,6)	16 / 49	NC	0	0,48 (0,01; 25,57)
-	Fase V	21	40,0 (16,8; 68,7)	4 / 10	90,9 (62,3; 98,4)	10 / 11	6,67 (0,60; 74,51)
Semana 24	Fase I	102	66,2 (55,1; 75,8)	51 / 77	60,0 (40,7; 76,6)	15 / 25	2,94 (1,16; 7,45)
-	Fase II	103	44,6 (34,8; 54,7)	41 / 92	81,8 (52,3; 94,9)	9 / 11	3,62 (0,74; 17,68)
-	Fase III	51	47,2 (32,0; 63,0)	17 / 36	33,3 (15,2; 58,3)	5 / 15	0,45 (0,13; 1,57)
-	Fase IV	50	38,6 (25,7; 53,4)	17 / 44	100,0 (61,0; 100,0)	6 / 6	7,56 (0,40; 144,09)
-	Fase V	24	42,1 (23,1; 63,7)	8 / 19	80,0 (37,6; 96,4)	4 / 5	2,91 (0,27; 31,22)
Semana 48	Fase I	100	65,2 (54,8; 74,3)	58 / 89	81,8 (52,3; 94,9)	9 / 11	8,42 (1,71; 41,41)
-	Fase II	97	43,3 (33,9; 53,2)	42 / 97	NC	0	0,76 (0,01; 39,29)
-	Fase III	49	52,3 (37,9; 66,2)	23 / 44	40,0 (11,8; 76,9)	2 / 5	0,73 (0,11; 4,81)
-	Fase IV	49	37,0 (24,5; 51,4)	17 / 46	100,0 (43,9; 100,0)	3 / 3	3,52 (0,17; 74,51)
-	Fase V	28	33,3 (18,0; 53,3)	8 / 24	75,0 (30,1; 95,4)	3 / 4	1,50 (0,13; 16,82)

Notas: Valor Preditivo Positivo (VPP) = $VP / (VP + FP)$ ou a probabilidade de ser um RB96, dado que o sujeito foi de resposta virológica numa visita específica.

Valor Preditivo Negativo (VPN) = $VN / (FN + VN)$ ou a probabilidade de não ser um RB96, dado que o sujeito não foi de resposta virológica numa visita específica.

09198946001-05PT

Doc Rev. 4.0

47

Razões de probabilidades (RP) = $(VP \times VN) / (FP \times FN)$.

ICs a 95% para VPP e VPN são calculados com base no IC de Wilson Score.

0,5 foi adicionado a células vazias (VP, VN, FP ou FN = 0), antes do cálculo de RP e da correspondente IC a 95%.

Fase I: monoterapia entecavir (HBeAg (+)).

Fase II: entecavir + tenofovir (HBeAg (+)).

Fase III: monoterapia entecavir (HBeAg (-)).

Fase IV: entecavir + tenofovir (HBeAg (-)).

Fase V: monoterapia tenofovir (HBeAg (-)).

A resposta bioquímica é definida como a normalização de ALT (ALT < 30 UI/l para homens e ALT < 19 UI/l para mulheres) na semana 96 em comparação com a linha de base para sujeitos com ALT elevada na linha de base.

RV à semana 12 = ADN do HBV > 2 log₁₀ diminui desde a base. RV à semana 24 = ADN do HBV < 2000 UI/ml (HBeAg (+)) ou < 50 UI/ml (HBeAg (-)). RV à semana 48 = ADN do HBV < 2000 UI/ml (HBeAg (+)) ou < 50 UI/ml (HBeAg (-)).

ALT = alanina-aminotransferase; IC = intervalo de confiança; ADN = ácido desoxirribonucleico; FN = falso negativo; FP = falso positivo;

HBeAg = antígeno e de hepatite B; HBV = vírus da hepatite B; NC = não calculável (por não existirem sujeitos com não resposta virológica nessa visita); VN = verdadeiro negativo; VP = verdadeiro positivo; RV = resposta virológica; RB96 = resposta bioquímica à semana 96.

Previsão de perda de HBeAg

A perda de HBeAg só pode ser avaliada em sujeitos que eram HBeAg (+) na linha de base.

A ausência de RV na semana 24 foi altamente previsível de persistência de HBeAg (os VPN eram ≥ 80,0% para ambas as fases I e II), e a ausência de RV na semana 48 também previu a persistência de HBeAg na fase I (o VPN era 100%) (Tabela 38). Como todos os sujeitos do regime de combinação (fase II) alcançaram as RVs até à semana 48, não foi possível calcular um VPN neste momento para este grupo.

Tabela 38 Probabilidade de perda de HBeAg à semana 96, com base na resposta virológica numa visita de tratamento específica por fase de tratamento

-			VPP (%)		VPN (%)		RP
Visita em tratamento	Fase do tratamento	Sujeitos elegíveis	Estimativa (IC de 95%)	n / N	Estimativa (IC de 95%)	n / N	Estimativa (IC de 95%)
Semana 12	Fase I	102	46,1 (36,7; 55,7)	47 / 102	NC	0	0,85 (0,02; 43,91)
-	Fase II	101	41,6 (32,5; 51,3)	42 / 101	NC	0	0,71 (0,01; 36,60)
Semana 24	Fase I	103	52,6 (41,6; 63,3)	41 / 78	80,0 (60,9; 91,1)	20 / 25	4,43 (1,51; 13,00)
	Fase II	104	44,1 (34,4; 54,2)	41 / 93	81,8 (52,3; 94,9)	9 / 11	3,55 (0,73; 17,33)
Semana 48	Fase I	101	51,1 (41,0; 61,2)	46 / 90	100,0 (74,1; 100,0)	11 / 11	23,00 (1,31; 403,28)
-	Fase II	98	40,8 (31,6; 50,7)	40 / 98	NC	0	0,69 (0,01; 35,48)

Nota: Valor Preditivo Positivo (VPP) = $VP / (VP + FP)$ ou a probabilidade de perda de HBeAg à semana 96, dado que o sujeito foi de resposta virológica numa visita específica.

Valor Preditivo Negativo (VPN) = $VN / (FN + VN)$ ou a probabilidade de não perda de HBeAg à semana 96, dado que o sujeito não foi de resposta virológica numa visita específica.

Razões de probabilidades (RP) = $(VP \times VN) / (FP \times FN)$.

ICs a 95% para VPP e VPN são calculados com base no IC de Wilson Score.

0,5 foi adicionado a células vazias (VP, VN, FP ou FN = 0), antes do cálculo de RP e da correspondente IC a 95%.

Fase I: monoterapia entecavir (HBeAg (+)).

Fase II: entecavir + tenofovir (HBeAg (+)).

A perda de HBeAg é alcançada se existir perda de HBeAg durante a terapia.

RV de semana 12 = ADN do HBV $> 2 \log_{10}$ de diminuição da base; RV de semana 24 = ADN do HBV < 2000 UI/ml (HBeAg (+)); RV de semana 48 = ADN do HBV < 2000 UI/ml (HBeAg (+)).

IC = intervalo de confiança; ADN = ácido desoxirribonucleico; FN = falso negativo; FP = falso positivo; HBeAg = antígeno e de hepatite B; HBV = vírus da hepatite B; NC = não calculável (por não existirem sujeitos com não resposta virológica nessa visita); VN = verdadeiro negativo; VP = verdadeiro positivo; RV = resposta virológica; RB96 = resposta bioquímica à semana 96.

Os resultados demonstraram que o **cobas**® HBV é útil para a monitorização da carga viral em indivíduos com infeção HBV crónica no início e durante o tratamento antiviral. Este estudo demonstrou que a medição da concentração de ADN do HBV na linha de base, uma diminuição da concentração de ADN HBV na semana 12 ou concentrações de ADN do HBV abaixo dos limiares específicos nas semanas 24 ou 48 durante o tratamento previram resposta à terapia; o estudo identificou sujeitos que obtiveram resposta virológica, resposta bioquímica ou perda de HBeAg na semana 96 de terapia.

Conclusão

O **cobas**® HBV pode quantificar o nível de ADN do HBV, para monitorizar e prever a resposta à terapia antiviral. Os resultados deste estudo demonstram a utilidade clínica deste teste para determinar precocemente a resposta à terapia na gestão de pacientes com infeção crónica por HBV em tratamento.

Informações adicionais

Características principais do teste

Tipo de amostra	Plasma EDTA, soro		
Quantidade de amostra mínima necessária	650 µl ou 350 µl		
Volume de processamento de amostras	500 µl ou 200 µl		
Sensibilidade analítica	-	<u>500 µl</u>	<u>200 µl</u>
-	Plasma EDTA	2,7 UI/ml	15,5 UI/ml
-	Soro	2,4 UI/ml	12,5 UI/ml
Intervalo linear	500 µl: 10 UI/ml a 1,0E+09 UI/ml		
	200 µl: 25 UI/ml a 1,0E+09 UI/ml		
Especificidade	100% (intervalo de confiança unilateral de 95%: 99,5%)		
Genótipos detetados	Genótipo HBV A-H e mutante pré-core predominante		

Símbolos

Os seguintes símbolos são utilizados em etiquetas de produtos de diagnóstico por PCR da Roche.

Tabela 39 Símbolos utilizados em etiquetas de produtos de diagnóstico por PCR da Roche

 Age/DOB	Idade ou data de nascimento		Dispositivo não para testagem junto do paciente	 QS IU/PCR	UI QS por reação PCR, utilize as Unidades Internacionais QS (UI) por reação PCR no cálculo dos resultados.
 SW	Software auxiliar		Dispositivo não se destina a autodiagnóstico	 SN	Número de série
 Assigned Range [copies/mL]	Intervalo atribuído (cópias/ml)		Distribuidor <i>(Nota: o país/região aplicável poderá estar indicado por baixo do símbolo.)</i>	 Site	Centro
 Assigned Range [IU/mL]	Intervalo atribuído (UI/ml)		Não reutilizar	 Procedure Standard	Procedimento padrão
 EC REP	Representante autorizado na Comunidade Europeia		Mulher	 STERILE EO	Esterilizado com óxido de etileno
 BARCODE	Folha de dados de códigos de barras		Apenas para avaliação do desempenho IVD		Armazenar no escuro
 LOT	Número do lote	 GTIN	Global Trade Item Number		Limite de temperatura
	Risco biológico		Importador	 TDF	Ficheiro de definição de teste
 REF	Número de catálogo	 IVD	Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i>		Este lado para cima
	Marcação de conformidade CE; este dispositivo está em conformidade com os requisitos aplicáveis para marcação CE de um dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i>	 LLR	Limite inferior do intervalo atribuído	 Procedure UltraSensitive	Procedimento ultrasensível
 Collect Date	Data da colheita		Homem	 UDI	Identificador único do dispositivo
	Consulte as instruções de utilização		Fabricante	 ULR	Limite superior do intervalo atribuído
	Conteúdo suficiente para <n> testes	 CONTROL -	Controlo negativo	 Urine Fill Line	Linha de enchimento da urina
 CONTENT	Conteúdo do kit		Não esterilizado	 Rx Only	Para os EUA: Atenção: a Lei federal dos Estados Unidos restringe a venda deste dispositivo a um médico ou a pedido deste.
 CONTROL	Controlo		Nome do paciente		Prazo de validade
	Data de fabrico		Número do paciente		
	Dispositivo para testagem junto do paciente		Abra aqui		
	Dispositivo de autodiagnóstico	 CONTROL +	Controlo positivo		
		 QS copies / PCR	Cópias QS por reação PCR, utilize as cópias QS por reação PCR no cálculo dos resultados.		

Apoio técnico

Para apoio técnico (assistência) entre em contacto com a sua filial local:

https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm

Fabricante e importador

Tabela 40 Fabricante e importador



Roche Molecular Systems, Inc.
1080 US Highway 202 South
Branchburg, NJ 08876, USA
www.roche.com

Fabricado nos EUA



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

Marcas comerciais e patentes

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

Direitos de autor

©2025 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



Bibliografia

1. Custer B, Sullivan SD, Hazlet TK, et al. Global epidemiology of hepatitis B virus. *J Clin Gastroenterol*. 2004;38:S158-68. PMID: 15602165.
2. Weinbaum CM, Williams I, Mast EE, et al. Recommendations for identification and public health management of persons with chronic hepatitis B virus infection. *MMWR Recomm Rep*. 2008;57:1-20. PMID: 18802412.
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;103:1824-33. PMID: 18479498.
4. Dienstag JL. Hepatitis B virus infection. *N Engl J Med*. 2008;359:1486-500. PMID: 18832247.
5. Liaw YF. Natural history of chronic hepatitis B virus infection and long-term outcome under treatment. *Liver Int*. 2009;29 Suppl 1:100-7. PMID: 19207972.
6. Fattovich G, Bortolotti F, Donato F. Natural history of chronic hepatitis B: special emphasis on disease progression and prognostic factors. *J Hepatol*. 2008;48:335-52. PMID: 18096267.
7. But DY, Lai CL, Yuen MF. Natural history of hepatitis-related hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol*. 2008;14:1652-6. PMID: 18350595.
8. Kao JH. Diagnosis of hepatitis B virus infection through serological and virological markers. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*. 2008;2:553-62. PMID: 19072403.
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;135:1192-9. PMID: 18722377.
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;54:1337-46. PMID: 19242792.
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;150:104-10. PMID: 19124811.
12. Higuchi R, Dollinger G, Walsh PS, Griffith R. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Biotechnology (N Y)*. 1992;10:413-7. PMID: 1368485.
13. Heid CA, Stevens J, Livak KJ, Williams PM. Real time quantitative PCR. *Genome Res*. 1996;6:986-94. PMID: 8908518.
14. Longo MC, Berninger MS, Hartley JL. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions. *Gene*. 1990;93:125-8. PMID: 2227421.
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;134:405-15. PMID: 18242209.

16. Saldanha J, Gerlich W, Lelie N, et al. 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. PMID: 11339072.
17. Savva R, McAuley-Hecht K, Brown T, Pearl L. The structural basis of specific base-excision repair by uracil-DNA glycosylase. *Nature.* 1995;373:487-93. PMID: 7845459.
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;80:869-78. PMID: 7697717.
19. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th ed. <https://www.cdc.gov/labs/pdf/CDC-BiosafetyMicrobiologicalBiomedicalLaboratories-2009-P.PDF>. Accessed December 2, 2020.
20. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections. Approved Guideline-Fourth Edition. https://clsi.org/media/1459/m29a4_sample.pdf. Accessed December 2, 2020.
21. Lok AS, Trinh H, Carosi G, et al. Efficacy of entecavir with or without tenofovir disoproxil fumarate for nucleos(t)ide-naïve patients with chronic hepatitis B. *Gastroenterology.* 2012;143:619-28.e1. PMID: 22643350.

Revisão do documento

Informações de revisão do documento	
Doc Rev. 3.1 12/2024	Adicionadas informações sobre a versão 2.0 do software dos sistemas cobas ® 6800/8800. Se tiver quaisquer questões, por favor contacte o representante local da Roche.
Doc Rev. 4.0 03/2025	<p>Revisto para conformidade com os requisitos do IVDR, incluindo a utilização de importador da UE e resumo de relatório de segurança e de desempenho.</p> <p>Rx Only removido da primeira página.</p> <p>Atualização da informação de perigo dos kits de controlo HxV.</p> <p>Atualizada a página de símbolos harmonizados.</p> <p>Foram adicionadas informações específicas do cobas® 5800.</p> <p>Erros tipográficos corrigidos na Tabela 25 e na Tabela 26.</p> <p>Adicionada utilização prevista para o cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit.</p> <p>Marca cobas® atualizada.</p> <p>Adicionadas informações sobre a versão 2.0 do software dos sistemas cobas® 6800/8800.</p> <p>P/N de consumíveis removidos, as informações detalhadas sobre consumíveis estão referidas na Assistência ao utilizador dos sistemas cobas® 5800 e cobas® 6800/8800.</p> <p>Se tiver quaisquer questões, por favor contacte o representante local da Roche.</p>

O resumo de relatório de segurança e de desempenho pode ser utilizado com o seguinte link:

<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>